

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ЛІСОВОГО
І САДОВО-ПАРКОВОГО ГОСПОДАРСТВА**

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач кафедри
ботаніки, дендрології та лісової
селекції
_____ доц. **Юрій МАРЧУК**
« _____ » _____ **2025 р.**

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему: «Морфологічний та біохімічний поліморфізм сіянців дуба
звичайного (*Quercus robur* L.)»

Спеціальність: 205 «Лісове господарство»

Гарант освітньої програми
канд. с.-г. наук, доц.

_____ **Наталія ПУЗРІНА**

Керівник бакалаврської кваліфікаційної
роботи докт. біол. наук, доц.

_____ **Артур ЛІХАНОВ**

Виконала

_____ **Катерина АНДРІЄНКО**

Київ – 2025

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ЛІСОВОГО
І САДОВО-ПАРКОВОГО ГОСПОДАРСТВА**

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
ботаніки, дендрології та лісової селекції
канд. с.-г. наук, доц. _____ Юрій МАРЧУК

« _____ » _____ 2025 року

**ЗАВДАННЯ
ДО ВИКОНАННЯ БАКАЛАВРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТЦІ
АНДРІЄНКО КАТЕРИНІ ВОЛОДИМИРІВНІ**

Спеціальність: 205 «Лісове господарство».

Тема бакалаврської роботи: «Морфологічний та біохімічний поліморфізм сіянців дуба звичайного (*Quercus robur* L.)».

Затверджена наказом ректора НУБіП України від 17.03.2025 р. № 382 «С».

Термін подачі завершеної роботи на кафедру 29.05.2025 р.

Вихідні дані до бакалаврської роботи: літературні джерела, інтернет-ресурси, матеріали натурного обстеження, дослідження .

Перелік питань що підлягають дослідженню:

- Проаналізувати сучасні наукові підходи до вивчення поліморфізму деревних рослин;
- Розглянути морфологічні особливості вегетативних органів дуба звичайного;
- Проаналізувати фізіологічні особливості вторинного метаболізму дуба звичайного;
- Оволодіти методами морфологічного і біохімічного аналізу рослин;
- Визначити вміст фенольних сполук у листках сіянців дуба звичайного;
- Провести біохімічне профілювання сіянців дуба звичайного;
- Виділити окремі хемоморфи з особливо цінними для господарства біохімічними ознаками.

Дата видачі завдання 18.03.2025 р.

Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи _____ Ліханов Артур Федорович

Завдання прийняв до виконання _____ Андрієнко Катерина Володимирівна

РЕФЕРАТ

Бакалаврська кваліфікаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел (41 найменувань) та двох додатків. Загальний обсяг роботи становить 55 сторінок друкованого тексту, містить 5 рисунки та 5 таблиці.

У першому розділі кваліфікаційної роботи розкрито сучасні наукові підходи до вивчення поліморфізму деревних рослин, зокрема морфологічний, фізіологічний, генетичний, біохімічний та екологічний поліморфізм дуба звичайного (*Quercus robur L.*). Окрему увагу приділено різноманіттю форм листя, фенологічним формам, генетичній мінливості та адаптаційним механізмам виду до різних умов середовища.

У другому розділі наведено характеристику місця проведення досліджень, описано природно-кліматичні умови регіону, біологічні особливості дуба звичайного, а також значення цього виду в лісових екосистемах та для лісового господарства.

Третій розділ присвячено обґрунтуванню вибору напряму досліджень, визначенню мети, предмета й об'єкта дослідження, постановці завдань і опису методик їх вирішення. Детально розглянуто методи морфологічного аналізу листків, біохімічного визначення вмісту фенольних сполук, флавоноїдів та антиоксидантної активності, а також підходи до виділення особливо цінних хемоморфів.

У четвертому розділі представлено результати морфологічного та біохімічного аналізу сіянців дуба звичайного. Наведено варіабельність морфологічних ознак листків, результати визначення вмісту фенольних сполук, флавоноїдів та антиоксидантної активності, а також виявлено зв'язок між морфологічними і біохімічними характеристиками. Особливу увагу приділено аналізу поліморфізму як фактору підвищення стійкості дуба до стресових чинників і перспективам використання отриманих даних у лісовому господарстві.

За результатами виконаної роботи сформульовано висновки та рекомендації щодо збереження і використання морфологічного та біохімічного поліморфізму дуба звичайного для підвищення стійкості лісових насаджень, збереження біорізноманіття та відбору перспективних форм для лісовідновлення.

Ключові слова: дуб звичайний, морфологічний поліморфізм, біохімічний поліморфізм, фенольні сполуки, флавоноїди, антиоксидантна активність, сіянці, лісове господарство.

ЗМІСТ

ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. ПОЛІМОРФІЗМ ДУБА ЗВИЧАЙНОГО (<i>QUERCUS ROBUR</i> L).....	9
1.1. Морфологічний поліморфізм у дуба звичайного	9
1.2. Фізіологічний поліморфізм.....	10
1.3. Фенологічні форми дуба звичайного	11
1.4. Генетичний поліморфізм дуба звичайного	12
1.5. Біохімічний поліморфізм дуба звичайного	13
1.6. Стійкість до хвороб та шкідників	14
1.7. Екологічний поліморфізм дуба звичайного	15
1.8. Антропогенний вплив на поліморфізм дуба звичайного.....	16
1.9. Значення поліморфізму для лісового господарства та селекції.....	16
РОЗДІЛ 2. ОБ’ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	18
2.1. Місце проведення досліджень та обладнання лабораторії.....	18
2.2. Визначення вмісту фенолів у листках	18
2.3. Визначення загального вмісту флавоноїдів	19
2.4. Кількісне визначення концентрації фенольних антиоксидантів.	19
2.5. Біохімічне профілювання рослинних екстрактів методом високоєфективної тонкошарової хроматографії.....	20
2.6. Біохімічне профілювання рослинних екстрактів методом високоєфективної рідинної хроматографії.....	20
РОЗДІЛ 3. ФІТОХІМІЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ЯК АДАПТИВНА СТРАТЕГІЯ ДУБА ЗВИЧАЙНОГО	23
3.1. Морфологічний та біохімічний поліморфізм вторинного метаболізму дуба звичайного (<i>Quercus robur</i> L.).....	23
3.2. Поліморфізм листків сіянців дуба звичайного за вмістом загальних фенолів і флавоноїдів.....	24
3.3. Профілювання вторинних метаболітів дуба звичайного.....	28

3.4. Адаптивна роль фенольних сполук у фізіології стійкості дуба звичайного.....	33
3.5. Класифікація хемоморфів дуба звичайного за адаптивними властивостями	35
РОЗДІЛ 4. ФІЗІОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ РІЗНИХ ХЕМОМОРФ НА ВПЛИВ ЕНДОФІТНИЙ МІКРООРГАНІЗМІВ	37
4.1. Вплив ендofітних мікроорганізмів на фенольний синтез сіянців дуба звичайного.....	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	45
ДОДАТКИ.....	50

ВСТУП

Дуб звичайний (*Quercus robur* L.) є одним із найважливіших аборигенних деревних видів лісостепової та поліської зон України, який відіграє ключову роль у формуванні біорізноманіття, підтриманні стабільності екосистем та забезпеченні цінною деревиною і іншими ресурсами для лісового господарства. В умовах сучасних кліматичних змін, зростаючого антропогенного навантаження та поширення хвороб і шкідників особливої актуальності набуває вивчення внутрішньовидового поліморфізму дуба звичайного, зокрема на ранніх етапах онтогенезу - у сіянців. Поліморфізм, як прояв генетичної, морфологічної, фізіологічної та біохімічної різноманітності, визначає адаптивний потенціал виду, його стійкість до несприятливих чинників середовища та здатність до виживання в різних екологічних нішах. Особливий інтерес становить дослідження морфологічних і біохімічних особливостей сіянців дуба, оскільки саме на цьому етапі формуються основні адаптивні ознаки, що забезпечують подальший розвиток і продуктивність деревостану.

Мета даної бакалаврської кваліфікаційної роботи - дослідити особливості внутрішньовидового поліморфізму сіянців дуба звичайного для виявлення цінних хемоморф, які мають господарське значення та можуть бути використані у лісовідновленні й селекції. Для досягнення цієї мети поставлені такі завдання: аналіз сучасних наукових підходів до вивчення поліморфізму деревних рослин, вивчення морфологічних і фізіологічних особливостей дуба звичайного, засвоєння методів морфологічного і біохімічного аналізу, визначення вмісту фенольних сполук у листках сіянців, проведення біохімічного профілювання та виділення окремих хемоморф із цінними ознаками.

Об'єктом дослідження є внутрішньовидовий поліморфізм дуба звичайного, а предметом – морфологічний та фітохімічний поліморфізм сіянців і його адаптивне значення. Практична цінність роботи полягає у визначенні перспективних для лісового господарства хемоморф, що сприятиме підвищенню стійкості та продуктивності дубових насаджень.

РОЗДІЛ 1

ПОЛІМОРФІЗМ ДУБА ЗВИЧАЙНОГО (*QUERCUS ROBUR L.*)

1.1. Морфологічний поліморфізм у дуба звичайного

Морфологічний поліморфізм характеризується різноманіттям зовнішніх морфологічних особливостей. Одним із найбільших проявів морфологічного поліморфізму є мінливість форм листя, навіть у межах одного виду, популяцій чи окремого дерева листки можуть відрізнятися за глибиною розсічення, розмірами, кількістю лопатей та наявністю опушення. Форми листків варіюють від майже цілокраїх до різко зубчастих дрібно -лопатових, лопатових та глибоко розсічених. Ця різноманітність відображає адаптацію до різних кліматичних умов, а також впливає на фотосинтетичну активність і водний баланс рослини [25].

Різноманітність кольорів листків також є вражаючою. Окрім звичайного зеленого кольору, у дуба зустрічаються форми з білими смугами, золотаво-жовтим, темно-пурпуровим, чорним, багрянистим та мармуровим забарвленням. Також існують і триколірні форми, які високо цінуються в декоративному садівництві. Це явище обумовлене наявністю різних пігментних систем і генетичних варіацій [27].

Крім того, ще один важливий елемент поліморфізму – тип опушення листків. У дуба зустрічаються як і повністю голі листки так і листки з різними типами волосків: густими, рідкими, дворогими та короткими зірчастими. Опушення відіграє важливу роль у захисті від шкідників, зниження випаровування вологи і регулюванні мікроклімату поверхні листка.

Також жолуді демонструють значну мінливість за розміром, формою, товщиною шкарлупи і кольором. Вони можуть бути загостреними, яйцеподібними, бочкоподібними. Ці ознаки суттєво впливають на їхню здатність до проростання та виживання молодих рослин.

Наступний поліморфізм спостерігається за габітусом крони. Спостерігається різноманітність густоти та форм крони, типу розгалуження

гілок. У природі дуб звичайний може мати шатроподібну крону -типову для цього виду а також різні варіації пірамідальної форми. Також зустрічаються плакучі форми з низько звисаючими гілками, кулясті або овальні крони. Така різноманітність дозволяє дубу ефективно використовувати простір і світло в різних екосистемах [11].

Причинами морфологічного поліморфізму є як і генетичні відмінності, так і вплив абіотичних чинників середовища, таких як: ґрунтів, кліматичні умови, інтенсивність освітлення та рівень вологості. Додатковим чинником є гібридизація дуба звичайного з іншими видами, яка сприяє збагаченню морфологічної різноманітності виду [13].

1.2. Фізіологічний поліморфізм

Фізіологічний поліморфізм дуба звичайного характеризується суттєвим відмінностями у функціональних процесах, які спостерігаються на рівні окремих генотипів, популяцій і навіть індивідуальних особин цього виду. Один із найяскравіших прикладів є різна реакція дуба на екологічні стреси зокрема посуху, низьку родючість ґрунтів, затінення та інші чинники середовища.

Результати досліджень паростків дуба у різних типах лісових угруповань Новгород-Сіверського Полісся свідчить про прояви значної фізіологічної пластичності вже на ранніх етапах розвитку рослин. Це виражається у зміні середніх значень морфо-фізіологічних характеристик залежно від екологічних умов зростання, а також спостерігається значна мінливість цих показників у межах однієї популяції.

Наприклад, у зонах із низькою родючістю ґрунтів проростки демонструють менші розміри, а у більш зімкнутих лісах – нижчу біомасу, що свідчить про пристосування до дефіциту ресурсів.

На генетичному рівні, фізіологічний поліморфізм дуба звичайного зумовлений значною алельною різноманітністю, яка впливає на характеристики пов'язані зі стійкістю до стресових факторів, темпом росту, водообміном, фотосинтетичної активністю та іншими адаптивними процесами.

Суттєві відмінності у фізіологічних властивостях дуба звичайного часто зумовлені різноманітними фенологічними формами цього виду.

1.3. Фенологічні форми дуба звичайного

Фенологічні форми дуба звичайного (*Quercus robur* L.) представляють собою внутрішньовидові різновиди, які відрізняються за термінами початку вегетаційного періоду, розпускання листя та його опадання. Ці фенологічні відмінності є ключовими для адаптації виду до різноманітних екологічних умов і кліматичних зон.

Серед основних фенологічних форм виділяють ранню, пізню та проміжну. Рання форма починає вегетацію і завершує її на 2-3 тижні раніше, порівняно з пізньою. Листя ранньої форми розпускається за менш сприятливих температурних умов і при меншій кількості сонячного світла, а восени повністю опадає.

Ця форма зазвичай зустрічається на підвищених, сухих ділянках і характеризується більшою солевитривалістю та посухостійкістю. Водночас ця форма є більш чутливою до кліматичних змін.

Пізня фенологічна форма розпускає листя пізніше, причому листя може залишатися на дереві навіть в зимовий період, особливо у молодих особин.

Ця форма переважає у регіонах з підвищеною вологістю, нижчими температурами та на знижених рельєфах. Деревина пізньої форми якісніша через менший вміст ранньої деревини, а лісові насадження за участю цієї форми менш уражаються шкідниками. Крім того, відзначається трохи більший показник радіального приросту дерев та підвищена стійкість до зовнішніх стресових чинників.

Існує також проміжні фенологічні форми. Вони включають: ранню проміжну, середню проміжну і пізню проміжну форми, які за термінами розпускання листя і цвітіння, займають проміжне положення між ранньою і пізньою формою.

Ці форми часто відзначається вищою інтенсивністю цвітіння та

плодоношення що робить їх перспективними для лісового господарства.

Для визначення фенологічної форми дерева використовують спостереження за термінами початку розгортання листя і масового цвітіння. Різниця між ранніми та пізніми формами може становити 30-40 днів. Запропоновані методи дають змогу оперативно і точно класифікувати дерева за фенологічними формами на основі бальної оцінки їхнього фенологічного стану.

Наприклад, дослідження дубових насаджень у Донецькій області показали що ритми розвитку ранніх і пізніх форм дуба мають певні відмінності. Вони проявляються у різних темпах росту і плодоношення дерев. У той же час на території Західного Лісостепу спостерігається синхронність та подібність у радіальному прирості в обох фенологічних формах. Проте пізня форма демонструє дещо вищий приріст, що є особливо помітним у період 1972-2002 років [26].

1.4. Генетичний поліморфізм дуба звичайного

Під генетичним поліморфізмом дуба звичайного розуміють широкий спектр варіацій у генетичній структурі популяцій, що забезпечують їхню адаптивну здатність до різноманітних екологічних умов .

Дослідження поліморфізму нерідко здійснюється за допомогою молекулярних методів, таких як аналіз мікросателітних локусів та ТВР-маркерів. Застосування цих підходів дозволяє виявити генетичні відмінності між різними фенологічними формами і популяціями.

Одним із основних методів є дослідження мікросателітних маркерів, які показують алельну різноманітність в популяціях. Як приклад, у ранніх фенологічних формах дуба, було ідентифіковано 9 унікальних алелів, тоді як у пізніх формах лише 5. Крім того вчені встановили, що домінантний алель *qcuGA-0C19-226* присутній у 80 % ранніх фенологічних формах дуба, тоді як у пізніх цей показник становить лише 50 %. Ці дані показують наявність генетичних відмінностей між цими формами.

Ще одним методом є ТВР-аналіз, який вивчає поліморфізм інтронів генів

β -тубуліну. Ранні форми за цими маркерами проявляють меншу кількість фрагментів у порівнянні з пізніми.

Індекс Шенона, що відображає рівень генетичної різноманітності, у пізніх форм вищий, ніж у ранніх, що підтверджує більшу генетичну мінливість пізньої форми.

Генетичні відмінності між фенологічними формами мають важливе адаптаційне значення. Для ранніх форм характерне домінування певних алелів та нижчий рівень генетичної різноманітності, що може бути пов'язано з їх пристосуванням до посушливих умов. Пізні форми, навпаки, демонструють вищий рівень поліморфізму та більшу кількість унікальних генетичних маркерів, що свідчить про їх здатність займати різні екологічні ніші [16].

Загалом, генетичний поліморфізм дуба звичайного є важливим фактором його вживання і адаптаційної здатності. Висока внутрішньопопуляційна мінливість дає можливість виду ефективно реагувати на кліматичні зміни та антропогенні впливи. Це має велике значення для лісового господарства, оскільки допомагає зберігати біорізноманіття та підвищувати стійкість лісових насаджень [14].

1.5. Біохімічний поліморфізм дуба звичайного

Біохімічний поліморфізм дуба звичайного проявляється у значній різноманітності складу біохімічних сполук і активності ферментів, що забезпечують його адаптацію до різних екологічних умов.

У листі, корі та деревині виявлено різний вміст фенольних сполук, дубильних речовин, флавоноїдів, а також активність ферментів-антиоксидантів таких як: пероксидаза, каталаза та супероксиддисмутаза.

Фенольні сполуки дуба, серед яких катехіни, галова і еллагова кислоти, резорцин, пірогалол і флавоноїди, виконують важливі захисні функції. Вони мають протимікробні, антиоксидантні та в'язучі властивості, що допомагає рослині боротися з патогенами та стресами середовища.

Вміст цих речовин суттєво змінюється в залежності від генотипу, віку

дерева та умов зростання, що є прикладом біохімічного поліморфізму.

Активність ферментів-антиоксидантів змінюється при впливі абіотичних стресів, зокрема на температурні коливання, забруднення повітря або інші несприятливі фактори. Ці ферменти нейтралізують реактивні форми кисню, захищаючи клітини від пошкоджень. Різні генотипи дуба відрізняються за рівнем ферментативної активності, що вказує на існування внутрішньовидової біохімічної мінливості.

Дослідження показують, що вміст первинних метаболітів, наприклад хлорофіл і білок, мають позитивну кореляцію між собою, тоді як між первинними і вторинними метаболітами наприклад флавоноїди, таніни – негативну. Це явище свідчить про складну регуляцію біохімічних процесів у рослинні, яка залежить від її генотипу і впливає на стійкість до патогенів і шкідників.

1.6. Стійкість до хвороб та шкідників

Поліморфізм дуба звичайного значно підвищує його стійкість до різних хвороб завдяки наявності різноманітних генетичних, морфологічних та біохімічних варіантів, які забезпечують рослині різноманітні захисні механізми.

Завдяки генетичній різноманітності в популяціях дубів наявні особини, які мають підвищену стійкість до певних патогенів, що знижує ризик масового ураження.

Наприклад, фенологічні форми дуба – рання, пізня та проміжна, демонструють відмінності в генетичних характеристиках, які впливають на їхню стійкість до захворювань та шкідників.

Одним із поширених захворювань є поперечний рак дуба, спричинене бактерію *Pseudomonas quercus*. Генотипи з товстішою корою або з здатністю синтезувати більшу кількість фенолів та інших антимікробних сполук, забезпечують ефективний захист від проникнення бактерій. Також морфологічні особливості, такі як компактна крона, зменшують механічні ушкодження, які часто стають воротами для інфекції.

Судинні хвороби, викликані грибами роду *Ophiostoma* та *Ceratocystis*, блокують судини дерева, призводячи до всихання гілок та листя. Ранні фенологічні форми дуба здатні швидше загоювати пошкодження, спричинені комахами, що значно знижує ризик грибкових заражень. Генетична стійкість до цих патогенів пов'язана з наявністю специфічних алелів, які регулюють синтез антифунгальних речовин.

Ще один приклад – листогризучі шкідників, зокрема дубова листовійка (*Tortrix viridana*). Різні генотипи мають різний вміст танінів і алкалоїдів у листі, що робить їх менш привабливими або навіть токсичними для таких комах. Також пізні фенологічні форми дуба розпускають свої листя пізніше, що дозволяє їм уникати періодів максимальної активності листовійки.

Гриб *Heterobasidion annosum*, який є збудником кореневої губки, також становить загрозу для дубів. Проте, рослини виробляють особливі дефензини – антимікробні пептиди, які допомагають пригнічувати цей патоген. Крім того, мішані насадження дубів разом із іншими видами дерев зменшують поширення цього гриба.

1.7. Екологічний поліморфізм дуба звичайного

Екологічний поліморфізм дуба звичайного (*Quercus robur* L.) полягає в здатності цього виду формувати різноманітні екотипи залежно від умов довкілля. Дуб звичайний зростає в широкому діапазоні екологічних ніш – від вологих заплавл до сухих піщаних схилів, що призводить до значних відмінностей у морфологічних, фізіологічних і біохімічних характеристиках дерев із різних місць зростання. Екотипи, які розвиваються під впливом таких чинників, як клімат, тип ґрунту, вологість і освітленість, відрізняються розмірами листя, формою крони, темпами росту та стійкістю до стресових умов.

Наприклад, дуби, що ростуть на піщаних або бідних ґрунтах, зазвичай характеризуються меншими листками, компактнішою кроною і більшою посухостійкістю. У той же час на заплавлних територіях або багатших ґрунтах листя може бути більше, а ріст інтенсивніший. Такі відмінності є результатом

тривалої адаптації до конкретних умов, що закріплюється генетично. Завдяки екологічному поліморфізму дуб звичайний може заселяти різні біотопи і зберігати високу життєздатність у змінних умовах середовища [15].

1.8. Антропогенний вплив на поліморфізм дуба звичайного

Антропогенний вплив виступає одним із ключових факторів, які визначають сучасний поліморфізм дуба звичайного. Інтенсивні вирубки, фрагментація лісових масивів, забруднення повітря й ґрунтів, а також зміна гідрологічного режиму спричиняють зміни у структурі популяцій та формуванні різних проявів поліморфізму. У міських та промислових зонах дуби часто характеризуються зменшеною площею листової пластинки, зміненою формою крони та підвищеним рівнем вторинних метаболітів, що є відповіддю дерев на стресові умови навколишнього середовища.

Антропогенний тиск також може призводити до зниження генетичної різноманітності через ізоляцію популяцій та скорочення їх чисельності. Це зменшує адаптаційний потенціал виду, роблячи його більш уразливим перед хворобами, шкідниками й змінами клімату. Однак у деяких випадках під впливом нових стресових факторів виникають адаптивні форми, які сприяють збагаченню генетичного та морфологічного поліморфізму дуба.

1.9. Значення поліморфізму для лісового господарства та селекції

Поліморфізм дуба звичайного відіграє значну роль у лісовому господарстві та селекційній діяльності. Завдяки високій морфологічній, фізіологічній та генетичній різноманітності стає можливим обирати посадковий матеріал, максимально адаптований до специфічних умов зростання. Це сприяє підвищенню виживаності та стійкості молодих лісових насаджень, що є особливо актуальним в умовах кліматичних змін і частіших екстремальних погодних умов.

У селекції дуба знання про поліморфізм допомагають цілеспрямовано відбирати дерева із бажаними властивостями, такими як стійкість до хвороб,

швидке зростання, якісна деревина чи здатність до самовідновлення. Це відкриває можливості для створення нових сортів і форм дуба, які ефективніше відповідають сучасним потребам лісового господарства.

Висновки до 1 розділу

Підсумовуючи результати першого розділу, можна стверджувати, що поліморфізм дуба звичайного є складним і багатогранним явищем, яке проявляється на різних рівнях організації – від морфологічних особливостей до біохімічних та генетичних відмінностей. Проведений аналіз літератури дозволив з'ясувати, що мінливість форм листя, жолудів, крони, а також різноманіття фізіологічних реакцій і фенологічних форм забезпечують дубу високу адаптивність до різних екологічних умов.

Особливу увагу було приділено генетичному та біохімічному різноманіттю, які визначають стійкість дуба до захворювань і шкідників, а також впливають на його життєздатність у мінливому середовищі. Встановлено, що екологічний поліморфізм дозволяє дубу звичайному заселяти широкий спектр біотопів, а генетична різноманітність підтримує здатність виду пристосовуватися до нових викликів, зокрема до впливу людини.

Окремо варто відзначити, що антропогенний чинник суттєво впливає на прояви поліморфізму, змінюючи як морфологічні, так і генетичні характеристики популяцій дуба. Незважаючи на негативні наслідки, такі як зниження різноманітності, у деяких випадках спостерігається поява нових адаптивних форм, що свідчить про високий еволюційний потенціал виду.

Загалом, результати першого розділу підкреслюють важливість вивчення поліморфізму дуба звичайного для лісового господарства та селекції. Розуміння різноманіття форм і механізмів їх виникнення дозволяє ефективніше використовувати цей вид у практиці, підвищувати стійкість лісових насаджень і зберігати біорізноманіття у сучасних умовах.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Місце проведення досліджень та обладнання лабораторії

Дослідження проводили на території розсадника деревних культур Ботанічного саду НУБіП України та в Центрі молекулярно-генетичних досліджень ННІ Лісового і садово-паркового господарства. Схема розміщення дослідних зразків дуба звичайного на території Ботанічного саду НУБіП України з нумерацією дерев (див. дод. А).

Дослідна ділянка включала 14 дубів, кожен з яких було позначено індивідуальною биркою з порядковим номером для точного обліку. Перед відбором зразків ми ретельно оглянули ділянку, щоб оцінити загальний стан дерев і вибрати оптимальні місця для збору матеріалу. З кожного дуба було відібрано по 3 листочки з різних висот, що дозволило отримати репрезентативні дані для подальшого аналізу.

Після збору листя ми фотографували кожен зразок та зробили детальний опис їхніх зовнішніх характеристик. Для подальшої лабораторної роботи з кожного листочка було взято 50 міліграмів тканини листя, яку залили спиртом для приготування екстракту. Цей екстракт використовувався для подальших досліджень та аналізів.

Використовували наступне обладнання: мікроцентрифуга-вортекс AG 22331, дистилятор GFL 2008, ваги RADWAG WPX-210/C/1 0,001, термостат електричний ТС 80М-2, центрифуга MiniSpin Eppendorf, спектрофотометр однопроменевий Optizen Pop, спектрофотометр DeNovix DS-11, система багатоканальної флуоресцентної візуалізації Invitrogen™ EVOS™ FL Digital Inverted Fluorescence Microscope.

2.2. Визначення вмісту фенолів у листках

Загальний вміст фенольних сполук у листках визначали спектрофотометричним методом (СФ Optizen Pop, Південна Корея) з

використанням фенольного реактиву Фоліна Чокальтеу (ФЧ). До 100 мкл екстракту додавали 500 мкл реактиву ФЧ. За 3 хв додавали 400 мкл 1М розчину карбонату натрію (Na_2CO_3). Реакційну суміш витримували в темному місці протягом 2 год у термостаті за 23 °С, після чого проводили спектрофотометрію зразків за $\lambda = 760$ нм у чотирьох аналітичних повторах. Калібрувальний графік базувався за галовою кислотою.

2.3. Визначення загального вмісту флавоноїдів

Кількісний вміст флавоноїдів в екстрактах листя визначали методом спектрофотометрії (СФ Optizen Pop) при $\lambda = 419$ нм. До 100 мкл водно-спиртового (70%) екстракту (1/10) додають 200 мкл 0,1 М розчину алюміній хлориду (AlCl_3), 300 мкл 1 М ацетату натрію (CH_3COONa) і 400 мкл 70% водного етилового спирту. Калібрувальний графік будували за кверцетином (Sigma, Німеччина).

2.4. Кількісне визначення концентрації фенольних антиоксидантів

Концентрацію фенольних антиоксидантів в екстрактах визначали спектрофотометрично за Бренд-Вільямсом за використання вільного стабільного радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразида (DPPH). Для побудови калібрувальної графіка у якості стандарту використовували водорозчинний вітамін Е (Тролокс).

Реакційна суміш містила 0,25 мл рослинного екстракту, 1,75 мл 80% етанолу та 2 мл 0,2 мМ розчину DPPH. У контрольні зразки до 2 мл 0,2 мМ розчину DPPH додавали 2 мл 80% етанолу. Пробірки інтенсивно струшували і залишали на 30 хв у темряві при кімнатній температурі. Оптичну густину реакційної суміші визначали за довжиною хвилі 517 нм. Інгібування DPPH у відсотках розраховували за формулою:

$\text{In DPPH} = 100 \cdot (\text{Dк} - \text{Do}) / \text{Dк}$, де:

Dк – оптична густина у відсутності антиоксидантів (контроль);

Do – оптична густина за присутності антиоксидантів.

Антиоксидантну активність рослинних екстрактів виражали в μM -екв Trolox.

2.5. Біохімічне профілювання рослинних екстрактів методом високоефективної тонкошарової хроматографії

Дослідження фенольного комплексу методом високоефективної тонкошарової хроматографії. Біохімічне профілювання вегетативних і генеративних органів рослин берези проводили методом НРТЛС на пластинах силікагелю G60 (Merck). Розділення загальних фенольних сполук і флавоноїдів проводили в системах розчинників: етилацетат — мурашина кислота — оцтова кислота — вода (v/v/v/v — 100:11:11:24). На пластинки наносили стандартні розчини (кверцетин, рутин, хлорогенова кислота) (3,0 мкл кожної концентрації 1 мг·мл⁻¹). Дериватизацію проводили за допомогою 0,5% реагенту NP (1,0 г аміноетилового ефіру дифенілборилової кислоти, розчиненого в 200 мл етилацетату) і 1% PEG 400 з наступним нагріванням (5 хв при 105 °С). Виявлення фенольних речовин на хроматограмі проводили в УФ при 366 нм. Коефіцієнт утримання (Rf) окремих сполук визначали фотоденситометрично за допомогою програмного забезпечення Sorbfil TLC ver. 2.3.0.2994. Значення Rf дорівнює відстані, пройденій окремою сполукою, поділеній на відстань, пройдену фронтом рухомої фази.

2.6. Біохімічне профілювання рослинних екстрактів методом високоефективної рідинної хроматографії

Профілювання вторинних метаболітів у листках сіянців дуба звичайного проводили методом обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії. Розділення проводили на хроматографі Agilent 1100. Використовували двох-елюентну схему (елюент А = 0,05 М водний розчин ортофосфорної кислоти H₃PO₄; В = метанол (Sigma-Aldrich) на колонці ZORBAX Eclipse Plus C18, 3,5мкм, 2,1×150 мм з роздільною здатністю понад 12 000 т.т.

Об'єм зразка 2 мкл. Термостатування колонки проводили за 20 °С. Швидкість потоку 0,2 мл/хв; тривалість аналізу до 60 хв, профіль елюювання — широкосмуговий лінійний градієнт від 10 % В в А до 100 % В за 30 хв, далі

ізократа В, з прискоренням потоку до 0,5 мл/хв та підвищенням температури колонки до 40°C. Детектування продуктів виконували за 206 і 254 нм для визначення більшості ароматичних сполук: фенольних сполук, фенолкарбонових кислот, фенілпропаноїдів (оксикоричні кислоти та лігнани), флавоноїдів (флавори, флавоноли, катехіни).

Висновки до розділу 2

У другому розділі кваліфікаційної роботи детально висвітлено методичні підходи та експериментальну базу дослідження. Робота проводилась на базі Ботанічного саду НУБіП України та Центру молекулярно-генетичних досліджень, де було відібрано 14 зразків дуба звичайного з індивідуальною маркувальною системою. Для забезпечення репрезентативності даних листя збирали з різних висот крони, після чого проводили фіксацію морфологічних ознак і підготовку екстрактів.

Спектрофотометричні методи стали основою для кількісного аналізу фенольних сполук та флавоноїдів. Використання реактиву Фоліна-Чокальтеу та алюміній хлориду дозволило стандартизувати процес вимірювань, а калібрувальні графіки на основі галлової кислоти та кверцетину забезпечили високу точність результатів. Для оцінки антиоксидантного потенціалу застосовували метод інгоування радикалу DPPH, що дало змогу виразити активність у мікромольних еквівалентах Trolox.

Сучасні хроматографічні методи (HPTLC та HPLC) дозволили провести детальне профілювання фенольного комплексу. Застосування колонок ZORBAX Eclipse Plus C18 та силікагелевих пластин Merck із специфічними елюентними системами забезпечило ефективне розділення сполук. Фотоденситометричний аналіз хроматограм із використанням програмного забезпечення Sorbfil TLC дозволив ідентифікувати окремі компоненти за коефіцієнтами утримання.

Використане обладнання, таке як спектрофотометри Optizen Pop і DeNovix DS-11, центрифуги Eppendorf та термостати з контролем температури, забезпечили високу відтворюваність експериментів. Систематичний підхід до

відбору зразків, стандартизація протоколів і багаторівнева статистична обробка даних створюють надійну основу для інтерпретації результатів у наступних розділах роботи.

РОЗДІЛ 3

ФІТОХІМІЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ЯК АДАПТИВНА СТРАТЕГІЯ ДУБА ЗВИЧАЙНОГО

3.1. Морфологічний та біохімічний поліморфізм вторинного метаболізму дуба звичайного (*Quercus robur L.*)

Рослини як сесильні організми, еволюціонували та розвивали складні системи адаптації до навколишнього середовища, що динамічно змінюється. Ці адаптації зокрема ґрунтуються на синтезі широкого спектру вторинних метаболітів. Незважаючи на те, що ці сполуки не беруть безпосередньої участі в первинних метаболічних процесах росту та розвитку, вони все ж таки відіграють критично значиму роль у взаємодії рослин як з біотичними, так і з абіотичними стресорами. До біотичних стресорів належать патогени, шкідники та симбіонти, тоді як до абіотичних – посуха, УФ-випромінювання та температурні коливання.

Серед найважливіших класів вторинних метаболітів виділяють фенольні сполуки, які є похідними шикіматного та фенілпропановидного шляхів. Дуб звичайний (*Quercus robur L.*), як довгоживучий та екологічно значущий вид, демонструє значний біохімічний поліморфізм, що є основою його здатності адаптуватися до різноманітних умов. Це дослідження було зосереджено на аналізі профілів фенолкарбонових кислот у метанольних екстрактах листків трирічних сіянців дуба звичайного, отриманих за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Основною метою було виявлення біохімічного поліморфізму та його потенційної ролі у формуванні стійкості до стресів та впливу на морфогенез рослин.

Для більш детального вивчення поліморфізму дуба звичайного було проведено морфологічний аналіз листків трирічних сіянців. У таблиці наведено основні морфометричні показники – довжина, ширина, форма листкової пластинки та лопатей, а також оцінка стану листків за наявністю ушкоджень, борошнистої роси та загальним виглядом. Ці дані дозволяють простежити варіабельність морфологічних ознак, що є важливою складовою загального

біохімічного та морфологічного поліморфізму виду, і дають змогу оцінити адаптивні реакції рослин на різні стресові фактори (див. дод. Б).

3.2. Поліморфізм листків сіянців дуба звичайного за вмістом загальних фенолів і флавоноїдів

Для оцінювання біохімічних особливостей листя дуба звичайного важливим є визначення вмісту основних груп біологічно активних речовин, зокрема фенольних сполук флавоноїдів антиоксидантної активності. Фенольні сполуки і флавоноїди є ключовими елементами захисної системи рослин, оскільки вони беруть участь у нейтралізації вільних радикалів, забезпечуючи клітинний захист від окисного стресу та впливають на стійкість рослин до несприятливих факторів середовища.

Антиоксидантна активність листків дуба звичайного також визначає їхню цінність як потенційної сировини для фармацевтичної та харчової промисловості.

Наукові дослідження показали, що листя дуба звичайного містять широкий набір фенольних кислот серед яких: галова, елагова, протокатехова, хлорогенова, кавова, та інші. Також присутні флавоноїди такі як: рутин, кверцетин, епікатехін, нарингін, а також танін. Вони забезпечують високий антиоксидантний потенціал листя, що підтверджується різними біохімічними тестами (FRAP, DPPH, PRAC).

Вміст фенольних сполук і флавоноїдів може змінюватись залежно від віку листків, екологічних умов сезону та навіть генетичних особливості конкретної популяції дуба.

Нижче наведено три таблиці, які відображають основні показники біохімічного складу листків дуба звичайного: вміст фенольних сполук у листках сіянців дуба звичайного (табл.3.1), загальний вміст флавоноїдних сполук у листках сіянців дуба звичайного (табл.3.2) та рівень антиоксидантних сполук у листках сіянців дуба звичайного (табл.3.3). Ці дані дозволяють комплексно оцінити хімічний склад і захисні властивості листя на різних стадіях розвитку.

Таблиця 3.1

Вміст фенольних сполук у листках сіянців дуба звичайного

№	Фенотип шифр	$M \pm m$	σ	Cv%
1	QR2-LPh	155,5 ± 57,0	114,1	73,4
2	QR3-LPh	123,1 ± 39,9	79,7	64,7
3	QR7-LPh	169,9 ± 61,1	122,3	72,0
4	QR9-LPh	97,1 ± 29,8	59,5	61,3
5	QR14-LPh	172,7 ± 63,0	125,9	72,9
6	QR1-MPh	222,1 ± 83,6	167,2	75,3
7	QR4-MPh	208,7 ± 76,4	152,7	73,2
8	QR6-MPh	180,4 ± 61,6	123,2	68,3
9	QR10-MPh	187,2 ± 58,7	117,4	62,7
10	QR13-MPh	246,8 ± 82,5	165,0	66,8
11	QR5-HPh	320,6 ± 105,9	211,8	66,0
12	QR8-HPh	322,4 ± 113,1	226,2	70,2
13	QR11-HPh	311,8 ± 110,4	220,8	70,8
14	QR12-HPh	317,7 ± 130,6	261,2	82,2

Отримані результати показують, що існує значна мінливість загальної кількості фенольних сполук у листках різних видів саджанців дуба звичайного (*Quercus robur L.*). Незважаючи на те, що всі досліджувані рослини належать до одного виду, між окремими фенотипами спостерігалися значні відмінності за цим показником.

Середнє значення кількості фенольних сполук у листках суттєво варіюється: від $97,06 \pm 29,77$ у фенотипі QR9-LPh до $322,43 \pm 113,11$ у фенотипі QR8-HPh. Найвищі значення виявлені у фенотипі з кодом HPh, тоді як найнижчі значення - у фенотипі з кодом LPh. Це може свідчити про генетичну схильність до здатності синтезувати фенольні сполуки у різних рослин навіть у межах одного виду.

Значення стандартного відхилення (σ) та коефіцієнта варіації (Cv%) для більшості фенотипів також досить високі. Зокрема, в деяких випадках коефіцієнт

варіації перевищує 70%, що свідчить про значну мінливість навіть серед саджанців одного фенотипу. Це може бути пов'язано як з генетичними особливостями, так і з впливом факторів мікросередовища.

Високий вміст фенольних сполук у листках окремих фенотипів має важливе біологічне значення, оскільки фенольні сполуки виконують захисну функцію, підвищуючи стійкість рослин до патогенів, шкідників та несприятливих умов навколишнього середовища. Тому ідентифікація фенотипів зі збільшеним вмістом фенолів може бути корисною для подальшої селекції та виведення рослин, більш стійких до стресових факторів.

Таблиця 3.2

Загальний вміст фенольних антиоксидантів у листках сіянців дуба звичайного

№	Фенотип шифр	$M \pm m$	σ	Cv%
1	QR2-LPh	$302,7 \pm 31,2$	54,1	17,9
2	QR3-LPh	$310,4 \pm 22,5$	39,1	12,6
3	QR7-LPh	$325,8 \pm 23,0$	39,8	12,2
4	QR9-LPh	$209,5 \pm 1,4$	2,4	1,1
5	QR14-LPh	$263,2 \pm 19,4$	33,7	12,8
6	QR1-MPh	$343,9 \pm 11,9$	20,7	6,0
7	QR4-MPh	$334,1 \pm 21,7$	37,6	11,2
8	QR6-MPh	$317,7 \pm 26,2$	45,3	14,3
9	QR10-MPh	$361,5 \pm 4,3$	7,5	2,1
10	QR13-MPh	$351,0 \pm 9,9$	17,2	4,9
11	QR5-HPh	$323,4 \pm 3,4$	5,9	1,8
12	QR8-HPh	$366,4 \pm 1,3$	2,3	0,6
13	QR11-HPh	$352,5 \pm 6,6$	11,5	3,3
14	QR12-HPh	$310,4 \pm 15,4$	26,7	8,6

У ході дослідження було визначено загальний вміст фенольних антиоксидантів у листках сіянців дуба звичайного різних фенотипів. Отримані результати свідчать про наявність деяких відмінностей між фенотипами за цим

показником. Середні значення варіювалися від $209,5 \pm 1,4$ у фенотипу QR9-LPh, до $366,4 \pm 1,3$ у фенотипу QR8-HPh.

Варто відзначити, що більшість фенотипів характеризуються досить високим вмістом фенольних антиоксидантів — понад 300 еквівалентних одиниць. Зокрема, фенотипи QR1-MPh, QR4-MPh, QR6-MPh, QR10-MPh, QR13-MPh, QR5-HPh, QR8-HPh, QR11-HPh та QR12HPh мають найбільші показники. Це свідчить про потенційно високу здатність цих рослин до синтезу біологічно активних сполук, які виконують захисні функції.

Таблиця 3.3

Вміст флавоноїдів у листках сіяньців дуба звичайного (мг/г сирої маси)

№	Фенотип шифр	$M \pm m$	σ	Cv%
1	QR2-LPh	$4,8 \pm 1,0$	1,7	34,5
2	QR3-LPh	$2,9 \pm 0,6$	1,1	37,0
3	QR7-LPh	$2,7 \pm 0,9$	1,5	54,6
4	QR9-LPh	$0,8 \pm 0,2$	0,3	36,8
5	QR14-LPh	$2,2 \pm 0,4$	0,8	34,4
6	QR1-MPh	$6,7 \pm 1,2$	2,0	30,1
7	QR4-MPh	$4,4 \pm 0,6$	1,1	24,1
8	QR6-MPh	$2,9 \pm 0,7$	1,2	40,1
9	QR10-MPh	$2,8 \pm 0,4$	0,7	24,6
10	QR13-MPh	$3,2 \pm 0,3$	0,6	18,8
11	QR5-HPh	$5,3 \pm 0,2$	0,3	5,6
12	QR8-HPh	$6,6 \pm 1,3$	2,2	33,6
13	QR11-HPh	$6,2 \pm 1,4$	2,4	39,6
14	QR12-HPh	$5,2 \pm 1,3$	2,2	41,9

Аналіз рівня антиоксидантних сполук у листках сіяньців дуба звичайного показує суттєві відмінності між фенотипами за цим показником. Середні значення вмісту флавоноїдів (мг/г) варіюють від $0,8 \pm 0,2$ (QR9-LPh) до $6,7 \pm 1,2$ (QR1-MPh), що свідчить про значний поліморфізм у вмісті антиоксидантів навіть серед сіяньців одного виду.

Фенотипи з шифром HPh (QR5-HPh, QR8-HPh, QR11-HPh, QR12-HPh) демонструють найбільші середні значення рівня флавоноїдів (понад 5 мг/г), що може свідчити про їхню підвищену здатність протистояти окислювальному стресу. Водночас фенотипи з позначкою LPh мають нижчі показники, іноді значно відмінні, як у випадку QR9-LPh ($0,8 \pm 0,2$).

Коефіцієнт варіації (Cv%) коливається від 5,6% (QR5-HPh) до 54,6% (QR7-LPh), що свідчить про різну стабільність показника в межах фенотипів. Найнижча мінливість у фенотипах із високим рівнем флавоноїдів, що вказує на більш однорідний вміст цих сполук у листках.

Високий рівень антиоксидантних сполук є важливим для захисту рослин від дії вільних радикалів і несприятливих екологічних факторів, таких як посуха, ультрафіолетове випромінювання та патогени. Отже, фенотипи з підвищеним вмістом антиоксидантів можуть мати більш високий адаптаційний потенці

3.3. Профілювання вторинних метаболітів дуба звичайного

Біохімічний аналіз листків у сінців дуба звичайного проводили методом обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Виконували ідентифікацію та кількісну оцінку фенолкарбонових кислот. Площі піків були використані як показник відносної концентрації відповідних сполук. Аналізувалися чотири хемоморфи, позначені як А, В, С, D.

Представлені хроматографічні дані демонструють значні варіації у профілях фенолкарбонових кислот серед досліджуваних хемоморфів дуба звичайного, що підтверджує гіпотезу про наявність вираженого біохімічного поліморфізму у вторинному метаболізмі цього виду (табл. 3.4).

Більшість ідентифікованих сполук є ключовими інтермедіатами та кінцевими продуктами фенілпропанового шляху, який бере початок з ароматичної амінокислоти L-фенілаланіну (або L-тирозину).

Фенілпропановий шлях починається від первинного метаболізму, а саме від шикіматного шляху, який продукує ароматичні амінокислоти – L-фенілаланін та L-тирозин. Цей фундаментальний зв'язок між первинним і

вторинним метаболізмом підкреслює енергетичну затратність та важливість синтезу цих захисних сполук.

Таблиця 3.4

Результати фітохімічного профілювання листків сіянців дуба звичайного методом ВЕРХ

Назва речовини	Час утримання, хв	Хемоморфа			
		А	В	С	Д
		Площа піка (mAU)	Площа піка (mAU)	Площа піка (mAU)	Площа піка (mAU)
Галова кислота	4,58	78,84	46,75	96,65	118,84
Гідроксипропіл акрилат	8,04	112,96	73,48	142,74	125,14
Хлорогенова кислота	-	-	-	-	23,5
Кофейна кислота	10,66	33,81	51,91	24,07	-
Сирінгова кислота	12,71	21,08	21,69	7	19,37
Бензойна кислота	-	-	-	37,33	17,82
р-кумарова кислота	14,2	240,43	174,38	149,7	239,06
Транс-ферулова кислота	-	-	13,42	17,98	15,16
Синапова кислота	16	39,67	14,05	18,64	17,88
Транс-циннамова кислота	18,45	82,52	115,44	49,93	100,81
Хінна кислота	23,16	12,91	37,69	118,93	34,01

Ключовим і часто лімітуючим ферментом фенілпропаноїдного шляху є фенілаланін-аміак-ліаза (PAL). Цей фермент каталізує незворотне дезамінування L-фенілаланіну до транс-циннамової кислоти. Активність PAL є чутливим

індикатором стресу і часто підвищується у відповідь на атаки патогенів, пошкодження шкідниками або абіотичні стреси, сигналізуючи про мобілізацію захисних ресурсів. Саме тому транс-циннамова кислота була виявлена у всіх наших хемоморфах дуба, що свідчить про активну роботу цього початкового ферменту. Найвищий вміст транс-циннамової кислоти спостерігався у хемоморфах В (115,44) та D (100,81), що може вказувати на високу активність PAL або уповільнений метаболізм цієї сполуки в наступні продукти.

Далі транс-циннамова кислота піддається низці модифікацій, які включають гідроксилювання та метилювання бічного ланцюга та/або ароматичного кільця. Це призводить до утворення різноманітних гідроксикоричних кислот. Наприклад, п-кумарова кислота утворюється з транс-циннамової кислоти за участі циннамат-4-гідроксилази (C4H). Це важлива точка розгалуження, оскільки п-кумароїл-КоА (активована форма п-кумарової кислоти) є центральним попередником для синтезу численних флавоноїдів, включаючи катехіни, а також лігніну. Значна кількість п-кумарової кислоти у хемоморфах А (240,43) та D (239,06) свідчить про інтенсивність ранніх етапів фенілпропаноїдного шляху у цих генотипах. Це може вказувати на інтенсивну роботу цього ключового вузла, звідки далі відбувається синтез лігніну або направлення ресурсів на флавоноїди.

Кавова кислота (3,4-дигідроксициннамова кислота) утворюється шляхом гідроксилювання п-кумарової кислоти за участі п-кумарат-3-гідроксилази (C3H). Вона є наступним ключовим інтермедіатом, з якого можуть утворюватися ферулова кислота або естери, такі як хлорогенова кислота. Її присутність у хемоморфах А, В та відсутність у С та D є яскравим прикладом біохімічної диференціації. Це може свідчити про швидшу конверсію кавової кислоти в інші сполуки (наприклад, хлорогенову кислоту або ферулову кислоту) у хемоморфах С та D.

Особливо цікавим є виявлення хлорогенової кислоти лише у хемоморфі D (23,50). Ця сполука є естером кавової та хінної кислот. Її синтез каталізується гідроксициннамоїл-КоА-хінатрансферазою (HQT), яка естерифікує кавову

кислоту з хінною кислотою. Присутність хлорогенової кислоти виключно у D, незважаючи на відсутність вільної кавової кислоти, може вказувати на ефективне перетворення кофейної кислоти в хлорогенову, або на наявність іншого попередника/шляху синтезу хлорогенової кислоти, що активно функціонує в цьому хемоморфі.

Транс-ферулова кислота утворюється з кавової кислоти шляхом O-метилування за участі кавоат-O-метилтрансферази (COMT). Її вміст варіює між хемоморфами, будучи відсутнім у A та C. Вона є важливим попередником лігніну. Синапова кислота є ще одним похідним фенілпропаноїдного шляху, що утворюється з ферулової кислоти через гідроксилювання та подальше метилування. Її наявність у всіх хемоморфах свідчить про універсальність цього шляху, але з варіаціями у концентраціях (від 14,05 у B до 39,67 у A). Синапова кислота також є попередником лігніну. Сирінгова кислота, що присутня у всіх хемоморфах, є метоксильованим похідним галлової кислоти або продуктом деградації лігніну. Її синтез тісно пов'язаний з фенілпропаноїдним шляхом, оскільки вона є попередником синапових мономерів лігніну.

Варто зауважити, що галова кислота, на відміну від вищезгаданих, утворюється через шикіматний шлях, ймовірно, з 3-дегідрошикімової кислоти за участі дегідрошикімат-дегідрогенази (DSDG). Її високий вміст у хемоморфі D (118,84) та значні коливання між іншими хемоморфами підкреслюють важливість цього шляху для продукування танінів. Хінна кислота, циклічний поліол, є ключовим попередником шикіматного шляху. Її висока концентрація у хемоморфі C (118,93) та D (100,20) може вказувати на активність цього первинного метаболічного шляху, що надає субстрати для синтезу всіх ароматичних амінокислот та, як наслідок, фенілпропаноїдів.

Нарешті, бензойна кислота, проста фенолкарбонова кислота, може утворюватися як шляхом укорочення бічного ланцюга фенілпропаноїдів, так і через альтернативні шляхи. Її наявність лише у хемоморфах C та D може вказувати на специфічні метаболічні процеси або механізми детоксикації. Також був виявлений гідроксипропілакрилат, присутній у всіх хемоморфах, з

найвищим вмістом у С (142,74) та найнижчим у В (73,48), який також є похідним фенілпропаноїдів.

3.4. Адаптивна роль фенольних сполук у фізіології стійкості дуба звичайного

Варіації у вмісті фенольних сполук між хемоморфами дуба звичайного відображають різні стратегії адаптації до стресових умов, що є ключовим аспектом екологічної ніші та успішності виду. Фенілпропаноїдний шлях є арсеналом рослинних захисних сполук, що дозволяє їм виживати в агресивному середовищі.

Захист від біотичних стресів

Галова кислота є попередником гідролізованих танінів, які є потужними антипоживними речовинами. Вони зв'язуються з білками травного тракту комах, зменшуючи засвоюваність поживних речовин, та інгібують ферменти, що призводить до зниження росту і розвитку шкідників. Високий вміст галової кислоти у хемоморфі D (118,84) може свідчити про підвищену хімічну оборону від травоядних комах, включаючи дубову мінуючу міль (*Acrocercops brongniardella*), яка є серйозним шкідником дуба. Це робить хемоморфи D потенційно стійким до атак шкідників.

Фенолкарбонові кислоти (кавова, ферулова, п-кумарова, синапова) мають прямі антимікробні та фунгіцидні властивості. Вони можуть також служити попередниками для синтезу лігніну, який утворює фізичний бар'єр у клітинних стінках, ускладнюючи проникнення патогенів. Накопичення цих сполук є частиною індукованої захисної відповіді рослин на вторгнення патогенів, наприклад, при ураженні грибковими захворюваннями, такими як борошниста роса. Особливо важливу роль у фенольному синтезі мають катехіни. Хоча ці поліфеноли не були прямо ідентифіковані в даному аналізі, наявність їхніх попередників (п-кумарова, кавова кислоти) вказує на потенційний синтез. Флавоноїди, включаючи катехіни, мають широкий спектр біологічних активностей, включаючи антиоксидантні, антимікробні та інсектицидні

властивості. Вони можуть діяти як фітоалексини, що синтезуються у відповідь на інфекцію, або як конститутивні захисні сполуки.

Стійкість до абіотичних стресів

Багато фенольних сполук, зокрема хлорогенова, кавова, ферулова кислоти, є потужними антиоксидантами. Вони нейтралізують реактивні форми кисню (РФК), що утворюються в рослинних клітинах у відповідь на стрес (наприклад, посуху, високу інсоляцію), запобігаючи окислювальному пошкодженню клітинних структур. Присутність хлорогенової кислоти у хемоморфі E може свідчити про його підвищену здатність до антиоксидантного захисту, що важливо для адаптації до умов посухи. Фенольні сполуки, особливо флавоноїди, ефективно поглинають УФ-В випромінювання, захищаючи чутливі біомолекули у клітинах рослин від пошкодження. Синтез лігніну з фенілпропаноїдних попередників є критично важливим для формування механічної міцності рослинних тканин. Збільшення лігніфікації може допомогти рослинам підтримувати тургор та витримувати механічні навантаження в умовах водного стресу.

Потенційний вплив метаболічних профілів на морфогенез

Вторинні метаболіти, зокрема фенольні сполуки, не лише відіграють захисну роль, але й можуть активно впливати на процеси морфогенезу та архітектуру рослин. Фенілпропаноїди є основними мономерами лігніну – полімеру, що забезпечує міцність і жорсткість клітинних стінок, особливо у судинних тканинах. Різні профілі фенілпропаноїдів (наприклад, співвідношення гуаяцилових, сирингілових та п-гідроксифенілових мономерів) можуть впливати на структуру лігніну, що, у свою чергу, відображається на механічній міцності стебел та гілок, їхньому діаметрі та загальній архітектурі крони. Хемоморфи з підвищеним вмістом попередників лігніну (наприклад, транс-ферулова, синапова, п-кумарова кислоти) можуть мати більш лігніфіковані тканини, що може проявлятися у більшій жорсткості листових пластинок, міцніших черешках та жилках.

Інтенсивність фенілпропаноїдного метаболізму може опосередковано

впливати на розміри листків. Наприклад, підвищений синтез захисних сполук може вимагати значних енергетичних витрат, що може призвести до зменшення розмірів листя як компенсаторного механізму або до формування більш компактних, щільних листків. Деякі фенольні сполуки можуть впливати на формування кутикули та воскового нальоту на поверхні листя, що є важливим адаптивним механізмом для зменшення транспірації та захисту від УФ-випромінювання. Це може зумовлювати різницю у блиску, текстурі та товщині листя між хемоморфами. Окрім цього, деякі фенольні сполуки, наприклад, бензойна кислота та її похідні, можуть взаємодіяти з гормональними шляхами, впливаючи на ріст, розвиток та диференціацію клітин. Наприклад, вони можуть впливати на транспорт ауксинів, що є ключовим для формування архітектури рослин та розвитку органів.

3.5. Класифікація хемоморфів дуба звичайного за адаптивними властивостями

На основі отриманих даних та з урахуванням ролі ідентифікованих фенольних сполук, можна зробити попередні припущення щодо адаптивних властивостей різних хемоморфів дуба звичайного.

Хемоморфи, потенційно стійкі до патогенів та шкідників

Хемоморфа D демонструє найвищий вміст галової кислоти (118,84) та наявність хлорогенової кислоти (23,50), а також високі концентрації п-кумарової (239,06) та транс-циннамової (100,81) кислот. Це вказує на потужну систему захисту, що включає як антипоживні таніни, так і антимікробні/антиоксидантні сполуки, а також попередники лігніну. Цей хемоморф може бути найбільш стійким до широкого спектра біотичних загроз. Хемоморф А характеризується найвищим вмістом п-кумарової кислоти (240,43) та значними кількостями синапової (39,67) і транс-циннамової (92,97) кислот. Це може вказувати на активний синтез лігніну та інших полімерів, що забезпечують структурний захист, а також наявність інших захисних фенолів. Можливо, цей хемоморф добре захищений від шкідників.

Хемоморфи, потенційно стійкі до посухи

Хемоморфа D, окрім вищезгаданих захисних властивостей, має хлорогенову кислоту (відомого антиоксиданту) та високі рівні попередників лігніну, що свідчить про підвищену здатність протистояти окислювальному стресу та підтримувати структурну цілісність в умовах водного дефіциту. Також важливим є хемоморфа D з високим вмістом хінної кислоти (118,93), що може свідчити про активний метаболізм рослини цієї групи через шикіматний шлях, що забезпечує достатню кількість попередників для синтезу антиоксидантів та осмопротекторів. Відносно високий вміст гідроксипропілакрилату та бензойної кислоти у хемоморфі D може бути пов'язаний з певними стрес-індукованими механізмами.

Хемоморфи з потенційно високою швидкістю росту

Пряма кореляція між профілем вторинних метаболітів та швидкістю росту є складною і вимагає подальших досліджень. Загалом, існує гіпотеза про компроміс між ростом та захистом ("growth-defense trade-off"), згідно з якою рослини, що інвестують значні ресурси у виробництво вторинних метаболітів для захисту, можуть мати повільніший ріст, і навпаки. Хемоморф C демонструє відносно низький вміст більшості ідентифікованих фенолкарбонових кислот порівняно з іншими хемоморфами. Якщо цей хемоморф не перебуває під значним тиском патогенів чи шкідників, менша "інвестиція" у вторинний метаболізм може дозволити йому спрямовувати більше ресурсів на первинний метаболізм, що потенційно може призвести до швидшого росту. Однак, це є лише спекулятивним припущенням і потребує експериментального підтвердження шляхом моніторингу швидкості росту та біомаси.

Висновки до розділу 3

Отже, проведений аналіз результатів ВЕРХ підкреслює наявність значного біохімічного поліморфізму серед трирічних сіянців дуба звичайного у виробництві фенолкарбонових кислот. Ці відмінності у метаболічних профілях, ймовірно, відображають різноманітні адаптивні стратегії, що можуть впливати

на стійкість до біотичних та абіотичних стресорів, а також на морфогенез та анатомічну будову рослин.

Для подальшого поглибленого розуміння цих взаємозв'язків бажано провести детальний аналіз морфологічних та анатомічних параметрів (розмір і форма листків, товщина кутикули, ступінь лігніфікації) для кожного хемоморфу. Також важливо проводити біопробы на стійкість рослин проти патогенів (наприклад, збудників борошнистої роси) та ураженням шкідниками (дубовою мінуючою міллю) для прямої оцінки рівня стійкості. Важливо моделювання умов посухи, високої температури або УФ-випромінювання для оцінки адаптивної здатності.

Отже, дослідження біохімічного поліморфізму дуба звичайного має практичне значення для селекції стійких форм, формування адаптивних лісових насаджень та розуміння екологічної ролі вторинних метаболітів у природних екосистемах. Глибокий аналіз поліморфізму – це не просто біохімія, а ключ до сталого майбутнього наших лісів.

РОЗДІЛ 4

ФІЗІОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ РІЗНИХ ХЕМОМОРФ НА ВПЛИВ ЕНДОФІТНИЙ МІКРООРГАНІЗМІВ

Рослини піддаються постійному впливу стресових факторів біотичної та абіотичної природи. Внаслідок зміни клімату до кінця XXI століття очікується зміна зональних типів рослинності і значне збільшення площ із несприятливими умовами для росту деревних рослин. За таких умов прогнозується істотне зменшення продуктивності лісоутворювальних порід, ослаблення їхньої стійкості проти шкідників і хвороб, з поступовою втратою репродуктивної здатності та можливості до природного відновлення лісів, що може відбуватись на фоні збільшення ризиків виникнення лісових пожеж. У зв'язку з глобальними викликами особливо актуальними є використання природних компенсаторних механізмів, які підтримують стійкість лісових екосистем.

4.1. Вплив ендofітних мікроорганізмів на фенольний синтез сіянців дуба звичайного

Одна з основних функцій фенольних сполук – це регуляція окисно-відновних процесів у клітинах та забезпечення стійкості рослини проти негативних чинників. За умов травматичних пошкоджень рослина активізує багаторівневу систему захисту, яка спрямована на створення хімічних і тканинних бар'єрів. Ці екстрені фізіологічні процеси супроводжуються вивільненням значної кількості вільних радикалів, які знешкоджують фітопатогенні організми і віруси. Побічним ефектом надмірного окислення поліфенолів є пошкодження клітинних мембран через перикисне окислювання ліпідів, а також утворення значної кількості токсичних для самої рослини продуктів. Модельний експеримент показав як змінюються фенольні профілі у листках сіянців дуба звичайного за умов травмування і внесення живих мікроорганізмів. За результати хроматографії було встановлено, що склад фенольних сполук у листках змінюється в залежності від внесених

мікрорганізмів (рис. 4.1).

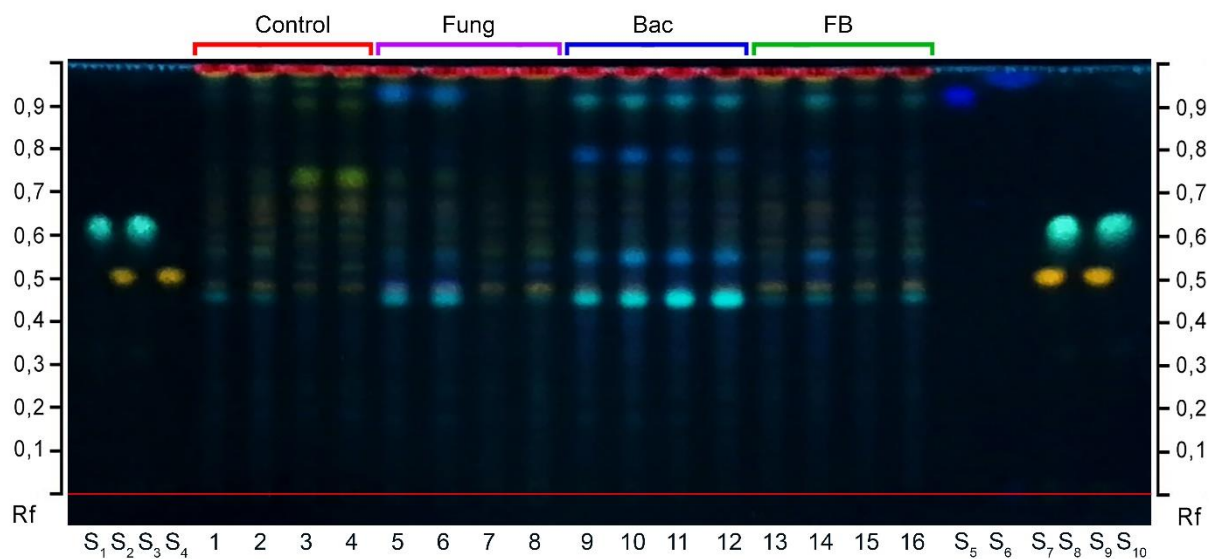


Рис. 4.1. Хроматограма метанольних екстрактів листків дуба звичайного: Control – контроль, Fung – *F. solani*, Bac – бактерія *B. halotolerans*, FB – за інокуляції *B. halotolerans* й *F. solani* разом; S₁, S₃, S₈, S₁₀ – хлорогенова кислота; S₂, S₄, S₇, S₈ – рутин; S₅, S₆ – кавова і ферулова кислоти відповідно

Серед значимих виділено 16 речовин. Найстабільнішими і відносно вирівненими виявились профіли рослин, які були інокульовані *B. halotolerans*. У рослин, які були заражені *F. solani*, а також за умов змішаної інокуляції метаболічні профілі були доволі варіативні за складом і за вмістом індивідуальних сполук (рис. 4.1).

Для визначення відмінностей рослин із різним способом впливу було використано метод дискримінантного аналізу найменших квадратів (PLS-DA). Для визначення надійності отриманої дискримінантної моделі було застосовано перехресну перевірку (рис. 4.2). За результатами перевірки дискримінантна модель є достатньо точною і підтверджує різницю між групами рослин.

За першою компонентою окремою групою виділено рослини, які були інокульовані бацилами (рис. 4.3, в).

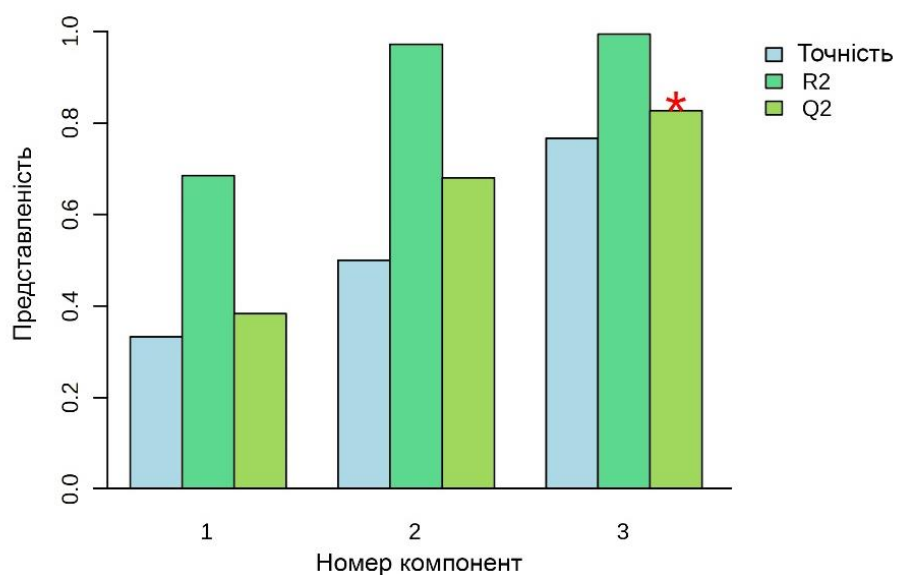


Рис. 4.2. Результати перехресної перевірки точності PLS-DA моделі з урахуванням специфіки впливу мікроорганізмів на сіянці дуба звичайного

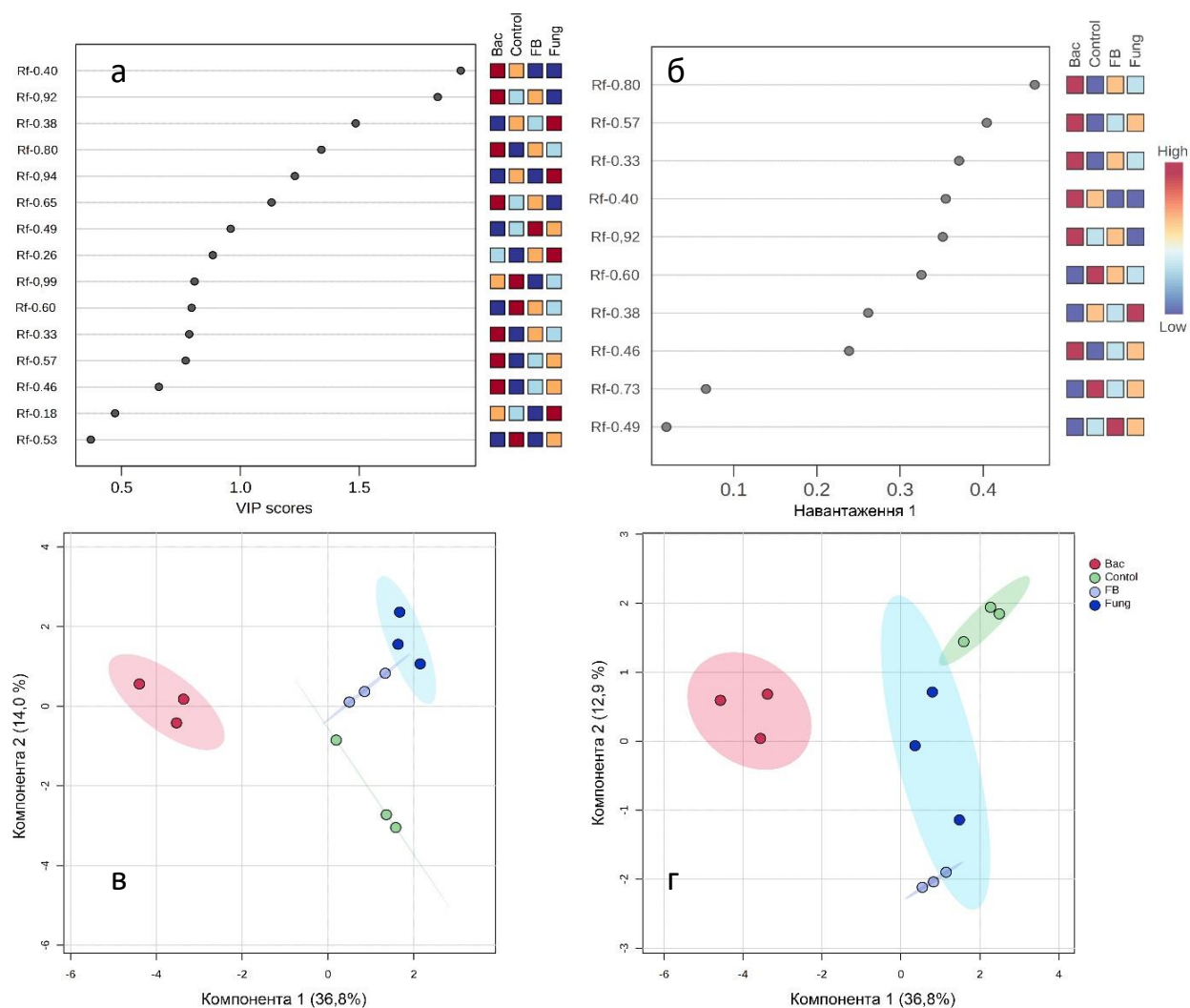


Рис. 4.3. Графік навантажень на 15 фенольних сполук для першої головної компоненти, які відібрано за допомогою моделі дискримінантного аналізу

найменших квадратів (PLS-DA) (а) і розрідженого дискримінантного аналізу (sPLS-DA) (б); результати PLS-DA (а,в) і sPLS-DA (б,г); control – контрольна група рослин, Bac – сіянци після інокуляції бактерій *B. halotolerans*; Fung – сіянци після зараження фітопатогеном *F. solani*, FB – сіянци після сумісної інокуляції *B. halotolerans* та *F. solani*; маркери ранжовано за абсолютними значеннями їх навантажень

Контрольна група рослин зайняла простір протилежної напіввісі першої компоненти, а відокремлювалась у координатах другої компоненти від сіянцив за сумісної інокуляції *B. halotolerans* та *F. Solani* і групи рослин, заражених мікроміцетом. Розріджений дискримінантний аналіз показав схожий результат (рис. 4.3, г).

За значимістю і вкладом окремих сполук у групову дисперсію найінформативнішими виявились 5 речовин з $R_f \sim 0,80; 0,57; 0,33; 0,40$ і $0,92$. Ці речовини виявлено у всіх без виключення сіянцах після інокуляції бацил, але їх не виявлено зовсім або вони знаходились у незначних кількостях в листках інших сіянцив. Навпаки речовина з $R_f \sim 0,38$ накопичувалась у листкаї після зараження спорами фітопатогенного гриба, але не утворювалась там у рослин, інокульованих бактеріями. Отже на підставі отриманих результатів можна зробити попередній висновок про те, що у рослин дуба звичайного, незважаючи на відсутність безпосереднього впливу на окремі органи, відбуваються значні зміни у вторинному метаболізмі. Речовини, які були виявлені нами за допомогою дискримінантного аналізу можуть розглядатись як кандидати у біохімічні маркери бактеріального, грибного або змішаного впливу.

Множинний кореляційний аналіз показав які сполуки за умов травмування і різних способів екзогенного впливу тісно пов'язані між собою (рис. 4.4.). Так було встановлено зв'язки між речовинами з $R_f \sim 0,33; 0,46; 0,57$ і $0,80$.

Три з вказаних вище сполук виділено за допомогою дискримінантного аналізу як речовини з маркерними ознаками.

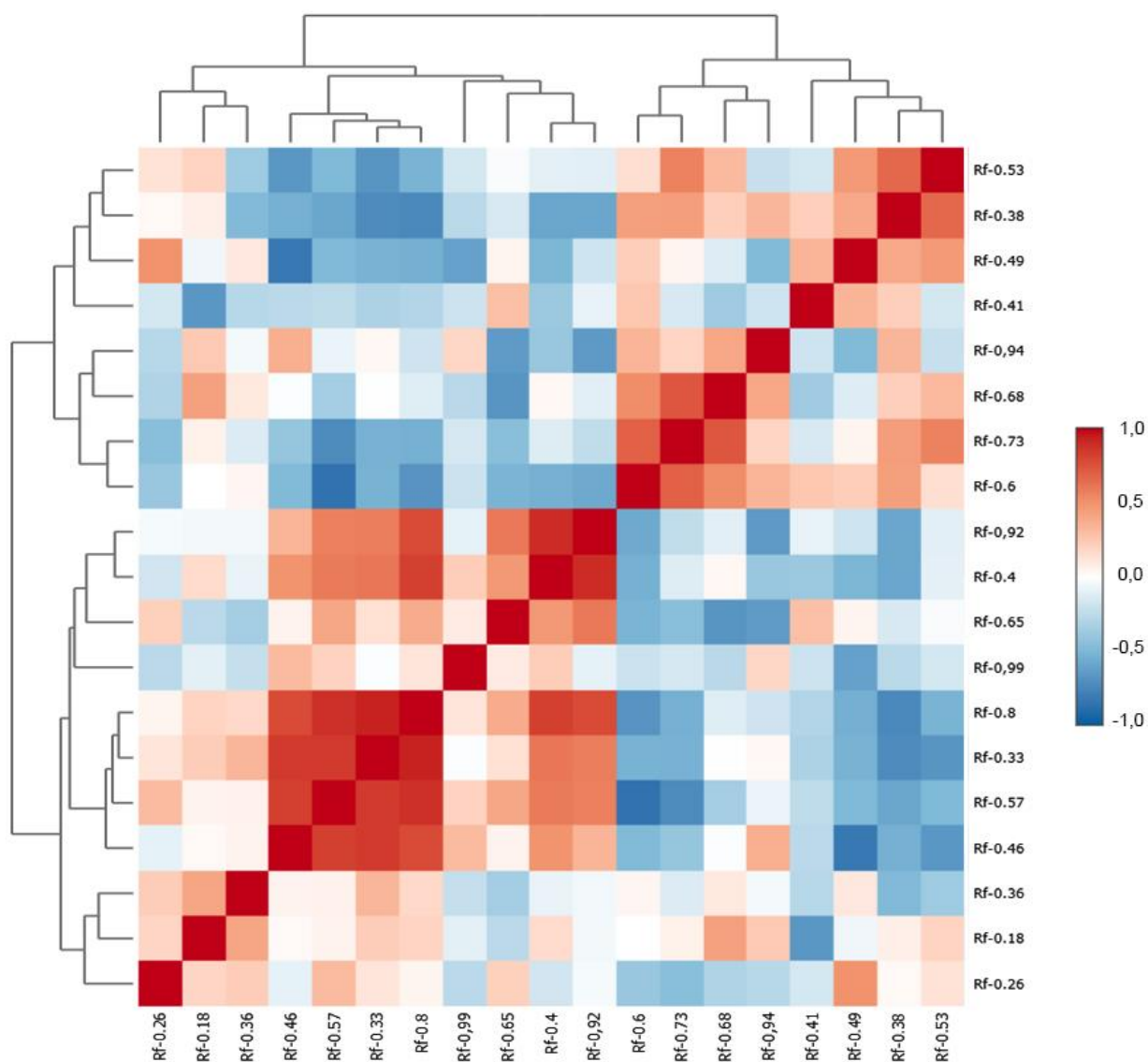


Рис. 4.4. Кореляційна матриця фенольних сполук з поєднанням кластерного аналізу фітохімічних профілів листків дуба звичайного за умов травмування та наступної інокуляції рослин *B. halotolerans* й *F. solani*

Враховуючи, що тісний позитивний зв'язок індивідуальних сполук у процесах біохімічного синтезу зазвичай пов'язані спільними шляхами синтезу або розкладання більш складних речовин, до складу яких вони можуть входити, можна припустити, що поява у рослинній системі мікроорганізми є джерелом специфічних молекулярних тригерів, на які рослини в межах одного виду реагують однаково.

Висновки до розділу 4

У четвертому розділі було досліджено, як різні хемоморфи сіянців дуба звичайного реагують на вплив ендоефітних мікроорганізмів. Проведені експерименти показали, що інокуляція рослин бактеріями та грибами суттєво впливає на їхній фенольний профіль. Особливо помітні зміни спостерігалися у складі та кількості фенольних сполук, що свідчить про активацію захисних механізмів рослини у відповідь на біотичний стрес.

Аналіз результатів хроматографії виявив, що найбільш стабільний біохімічний склад спостерігався у сіянців, які були інокульовані бактерією *B. halotolerans*, тоді як у рослин, заражених грибом *F. solani* або під дією змішаної інокуляції, відзначалася більша варіабельність фенольних сполук. Це свідчить про те, що різні типи мікроорганізмів по-різному впливають на вторинний метаболізм дуба.

Додатково, за допомогою статистичних методів було виділено низку фенольних сполук, які можуть слугувати біохімічними маркерами для визначення характеру впливу ендоефітів.

Виявлено, що певні речовини накопичуються лише за наявності бактерій, а інші – у відповідь на зараження грибами, що підкреслює специфічність фізіологічних реакцій дуба навіть у межах одного виду.

Загалом, результати цього розділу підтверджують, що фізіологічні реакції сіянців дуба звичайного на вплив ендоефітних мікроорганізмів залежать як від генотипу рослини, так і від типу біотичного чинника. Отримані дані можуть бути корисними для подальших досліджень і практичного застосування у селекції та підвищенні стійкості дубових насаджень до стресових факторів.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз профілів фенолкарбонових кислот у 14 трирічних сіянців виконаний методом вискоефективної рідинної хроматографії підтвердив значні кількісні та якісні відмінності у складі фенілпропаноїдів між окремими хемоморфами (А, В, С, D) дуба звичайного. Поліморфізм досліджених рослин охоплює як базові фенілпропаноїди (транс-циннамова, п-кумарова кислоти), так і їхні близькі похідні (хлорогенова, галова, ферулова кислоти), що вказує на генетичну детермінованість біохімічного поліморфізму у межах виду.

2. Диференціація адаптивних потенціалів сіянців на основі фенольних профілів дозволила виділити 4 хемоморфи дуба звичайного позначені як А, В, С, D з певними адаптивними потенціалами до біотичних та абіотичних стресів. Хемоморфа D характеризується високим вмістом галової кислоти та наявністю хлорогенової кислоти, що демонструє підвищений потенціал стійкості до фітофагів та окислювального стресу і робить її перспективною для використання в умовах змін клімату. Хемоморфа А містить найвищі концентрації п-кумарової кислоти, вказує на активну продукцію попередників лігніну, що потенційно забезпечує хемоморфі підвищену механічну міцність та стійкість проти патогенів. Хемоморфи В, С виявили власні унікальні профілі, що розкриває існування спектру адаптивних стратегій в популяції дуба звичайного, який може бути використаний для селекції найбільш пристосованих форм до конкретних умов довкілля.

3. За інокуляції ендofітів у тканини листків сіянців дуба звичайного виявлено різницю в реакції хемоморф однорічних сіянців дуба на інокуляцію ендofітних бактерій. Про це свідчили відсутність ознак ураження поверхні листків, прискорена регенерація рослинних тканин та підвищення відновлених рослинних фенолів з високою антиоксидантною активністю.

4. Ідентифікація різних фітохімічних хемоморф дуба звичайного відкриває перспективи практичного застосування цього підходу у селекції особливо цінних генотипів для лісового господарства. Спрямована селекція та розмноження

адаптивно цінних генотипів, таких як хемоморфа D з підвищеною стійкістю до біотичних та абіотичних стресів, може стати ключовим інструментом для підвищення стійкості дубових лісів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Білоус В.І. Вирощування високопродуктивних культур дуба в Лісостепу України : монографія. Київ : Урожай, 2007. 200 с.
2. Білоус В.І. Гібридизація дуба в лісах України : монографія . Київ : Урожай, 2003. 160 с.
3. Білоус В.І. Дуб звичайний в лісах України: монографія. Вінниця: Книга-Вега, 2009. 176 с.
4. Бородавка В. О., Бородавка О. Б. Природне відновлення дуба звичайного у сосняках Волині: сучасний стан і перспективи . *Український науково-дослідний інститут лісового господарства та агролісомеліорації ім. Г. М. Висоцького*. 2024. URL:<https://uriffm.org.ua/uk/news/100> (дата звернення: 26.05.2025).
5. Бородавка В., Бородавка О. Дослідження формування підросту дуба звичайного під наметом соснових деревостанів Поліської зони. *Деревинник*. 2024. URL: <https://surl.li/aqbeou> (дата звернення: 25.05.2025).
6. Дуб звичайний природного походження у змішаних соснових молодняках Західного Полісся: сучасна ситуація. Державне агентство лісових ресурсів України. URL: <https://forest.gov.ua/news/dub-zvichajnij-prirodnogo-pohodzhennya-u-zmishanih-sosnovih-molodnyakah-zahidnogo-polissya-suchasna-situaciya> (дата звернення: 10.05.2025).
7. Дуб: властивості деревини, застосування, переваги. Love Mutou : веб-сайт. URL: <https://surl.cc/ksrbhq> (дата звернення: 02.06.2025).
8. Гойчук А.Ф. Господарські заходи формування високопродуктивних дубових насаджень. Житомир: Полісся, 1998. 95 с.
9. Заячук В. Дендрологія: підручник . Львів: СПОЛОМ, 2014. 676 с.
10. Кендзьора Н. З., Заїка В. К. Біологічна продуктивність дуба звичайного в лісових культурах Розточчя . *Науковий вісник НЛТУ України*. 2008. Вип. 18.4. С. 33–39.
11. Козлов О.М. Морфологічна мінливість дуба звичайного (*Quercus robur L.*) в умовах Лісостепу України. Матеріали Міжнародної науково-

практичної конференції. Харків: ХНАУ, 2023. С. 120–122. URL:https://repo.btu.kharkov.ua/bitstream/123456789/43175/1/Konf_23_FLDZ_DB_TU_120-122.pdf (дата звернення: 02.05.2025).

12. Кузьменко О.О., Федорчук М.І., Пирко Я.В. Генетичні особливості фенологічних форм *Quercus robur L.* *Український ботанічний журнал*. 2018. Т. 75, № 5. С. 489–497. URL:<https://ukrbotj.co.ua/pdf/75/5/ukrbotj-2018-75-5-489.pdf> (дата звернення: 20.05.2025).

13. Кучерявий В.П. Екологія. Львів: Світ, 2001. 500 с.

14. Лихолат Ю.В., Хромих Н.О., Шупранова Л.В. Закономірності адаптації деревних рослин у степовому Придніпров'ї. Суми: СНАУ, 2018. 192 с.

15. Лісові генетичні ресурси та їх збереження на Тернопільщині: Підручники і посібники. Тернопіль, 2008. 276 с.

16. Лось С.А. Аналіз 15-річної динаміки інтенсивності цвітіння і плодоношення клонів дуба звичайного на Північному Сході України. *Лісівництво і агролісомеліорація*. 2008. № 113. С. 42–50.

17. Лось С.А., Годованій О.М., Григор'єва В.Г., Губін Є.А. Особливості розвитку крон та репродукції дуба звичайного на насінних плантаціях ДП «Гутянське ЛГ» Харківської області. *Лісівництво і агролісомеліорація*. 2017. № 131. С. 87–95.

18. Мазепа В. Новак А., Шимків О. Природне поновлення дубових лісостанів за умов антропогенного впливу. Стале природокористування : підходи, проблеми, перспектива : матер. III Міжнародної наукової конференції, присвяченої 10-ій річниці кафедри геоecології та 25-ій річниці кафедри фізичної географії. Тернопіль :Тернопіль ,2010. С. 97–98.

19. Макарова Л. Є. Фізіологічне значення фенольних сполук при формуванні бобово-ризобіального симбіозу на етапі преінфекції. *Вісник Харківського національного аграрного університету*, 2012. № 2. С. 25–40.

20. Моніторинг і оцінювання земельних ресурсів: навч. посіб. Київ: НУБіП України, 2021. 167 с.

21. Полякова Л. В., Гамаюнова С. Г., Журова П. Т. Порівняльний

біохімічний аналіз багатовікових дерев та 55-річних культур дуба черешкового, що виростають на території НВП «Святі гори». *Журнал Лісознавство*. 2012. С. 173–180.

22. Прокопук Ю. С. Кліматогенні варіації радіального приросту дуба звичайного. *Дослідження Інституту еволюційної екології НАН України*. 2021. URL:<https://www.kdpu-nt.gov.ua/uk/content/klimatogenni-variaciyi-radialnogo-pryrostu-duba-zvychaynogo> (дата звернення: 21.04.2025).

23. Пірко В. І. Генетичні особливості популяцій дуба звичайного (*Quercus robur L.*) в умовах України : автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.16. НАН України, Ін-т ботаніки ім. М. Г. Холодного. Київ, 2007. 20 с.

24. Пірко Я. В., Нецьветов М. В., Калафат Л. О. та ін. Генетичні особливості фенологічних форм *Quercus robur (Fagaceae)* за даними аналізу поліморфізму інтронів генів β -тубуліну та мікросателітних локусів. *Український ботанічний журнал*. 2018. Т. 75, № 5. С. 489–500.

25. Скляр В. Г. Морфологічні ознаки проростків дуба звичайного в різних еколого-ценотичних умовах Новгород-Сіверського Полісся. *Вісник Запорізького національного університету*. Біологічні науки. 2011. № 2. С. 119–125.

26. Слепих А. В. Ритм розвитку і розповсюдження фенологічних форм дуба звичайного (*Quercus robur L.*) в умовах Донецької області. *Біологічні системи*. 2016. Т. 8, вип. 2. С. 211–215.

27. Смашнюк Л. В. Мінливість морфологічних ознак листя дуба звичайного (*Quercus robur L.*) в умовах Вінниччини. Лісівництво, деревообробка та озеленення: стан, досягнення і перспективи : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (24–25 жовтня 2023 р., м. Харків). Харків : ДБТУ, 2023. С. 120–122.

28. Стецюк М.О., Дідус Ю.І., Юхименко О.П. Вегетативне відновлення дубових деревостанів. Тези Всеукраїнської науково-практичної конференції здобувачів вищої освіти і молодих учених «Сталий розвиток країни в рамках Європейської інтеграції», 12 листопада 2020 року. Житомир : Житомирська політехніка, 2020. С. 138.

29. Biodiversity and Conservation of Woody Plants / eds. M. R. Ahuja, S. Mohan Jain. Cham: Springer International Publishing, 2017. 323 p.
30. Dodd R.S., Afzal-Rafii Z. Selection and dispersal in a multispecies oak hybrid zone. *Evolution*. 2004. Vol. 58, No. 2. P. 261–269.
31. Dumolin-Lapègue S., Pemonge M.-H., Gielly L., Taberlet P., Petit R. J. Amplification of oak DNA from ancient and modern wood. *Molecular Ecology*. 1999. Vol. 8. P. 2137–2140.
32. Functional Plant Ecology / eds. F. Pugnaire, F. Valladares. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. 744 p.
33. Kremer A., Dupouey J.L., Deans J.D., et al. Leaf phenology in *Quercus robur* and *Quercus petraea*: genetic variation and responses to environmental conditions. *Annals of Forest Science*. 2002. Vol. 59, Issue 7. P. 715–733.
34. Kremer A., Petit R. J. Gene diversity in natural populations of oak species. *Annales des Sciences Forestières*. 1993. Vol. 50, Suppl. 1. P. 186s–202s.
35. Leaché A. D., Oaks J. R. The Utility of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Data in Phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2017. Vol. 48. P. 69–84. URL: <https://surli.cc/wbcunk> (дата звернення: 02.05.2025).
36. Molecular Biology of Woody Plants. Volume 2 / authors: S. C. Minocha, J. C. Wallace; eds. S. Mohan Jain, S. C. Minocha. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000. 386 p.
37. Pallardy S. G. *Physiology of Woody Plants*. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press, 2007. 454 p.
38. Petit R. J., Kremer A., Wagner D. B. Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. *Theoretical and Applied Genetics*. 1993. Vol. 87. P. 122–128.
39. Petit R.J., Brewer S., Bordács S., et al. Identification of refugia and post-glacial colonization routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*. 2002. Vol. 156, Issues 1–3. P. 49–74.
40. Plomion C., Leprovost G., Stokes A. Wood formation in trees. *Plant*

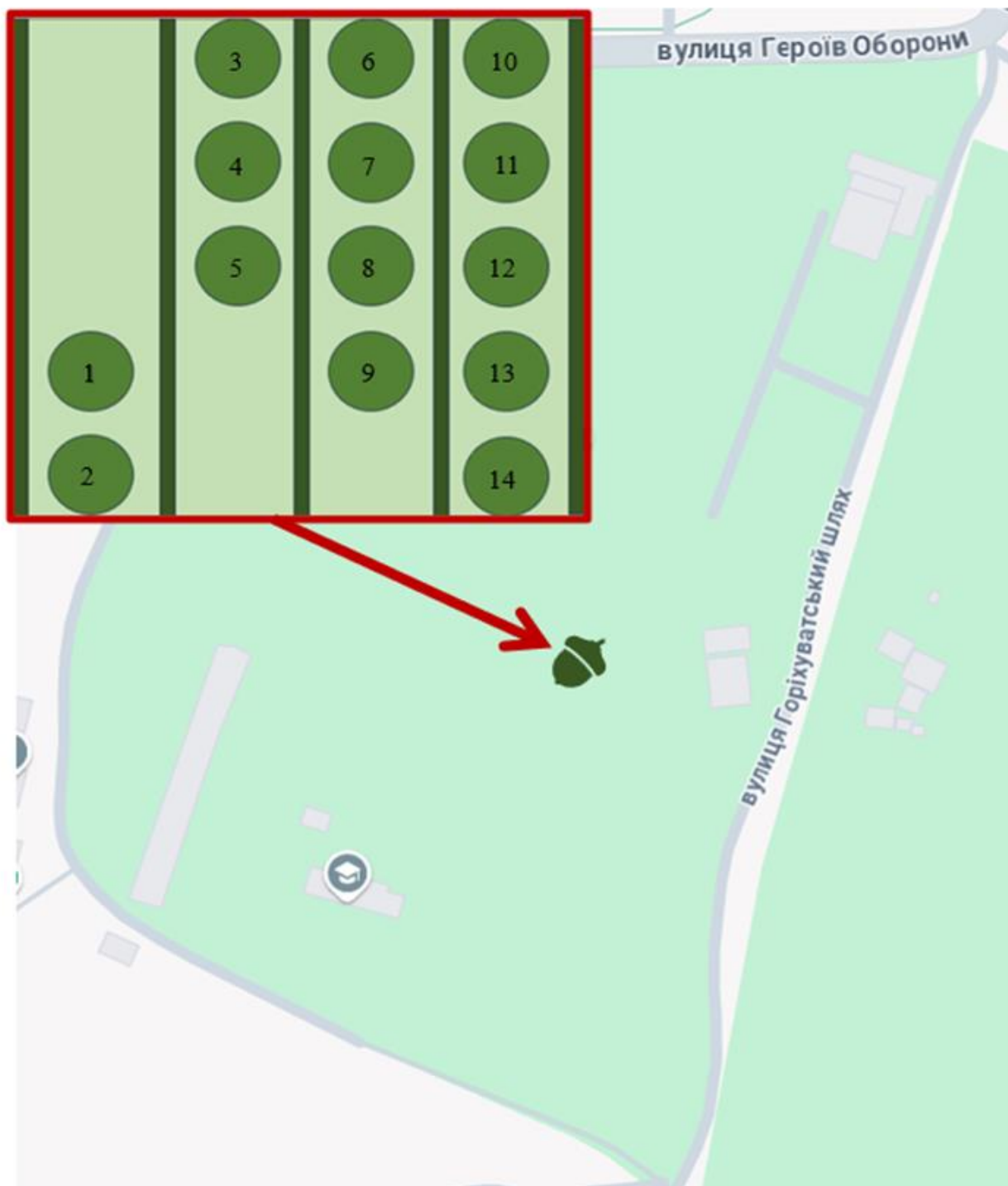
Physiology. 2001. Vol. 127, No. 4. P. 1513–1523.

41. *Quercus robur* - Європейська програма лісових генетичних ресурсів EUFORGEN: веб-сайт. URL: <https://www.euforgen.org/species/quercus-robur> (дата звернення: 07.05.2025).



ДОДАТКИ

Додаток А




**Схема розміщення дослідних зразків дуба звичайного на території
Ботанічного саду НУБіП України з нумерацією дерев.**






Опис морфологічних ознак листків дуба звичайного (*Quercus robur L.*)

№	Фото зразка	Розміри (довжина × ширина, см)	Опис форми та лопатей	Колір і загальний вигляд	Ушкодження, стан листка, борошніста роса
1		10 × 5	Видовжено-еліптичний, лопаті чітко виражені, край хвилястий, верхівка округла, основа серцеподібна	Насичено-зелений, блискучий, типовий для виду, здоровий	Борошніста роса відсутня, ушкоджень немає, стан відмінний
2		9 × 4	Овальний, лопаті слабо виражені, край рівний, верхівка округла, основа клиноподібна	Світло-зелений, рівномірний, листок молодий	Поодинокі плями борошністої роси, дрібні отвори по краю, стан задовільний




Продовження додатку Б

3		12 × 6	Видовжено-еліптичний, лопаті глибокі, край хвилястий, верхівка округла, основа серцеподібна	Темно-зелений, злегка матовий, життєздатний	Борошниста роса відсутня, краї трохи підсохлі, легкий фізіологічний стрес
4		8 × 3,5	Вузький, лопаті майже не виражені, край рівний, верхівка округла, основа клиноподібна	Світло-зелений, менш насичений, виглядає послабленим	Борошниста роса відсутня, окремі механічні пошкодження по краю, стан ослаблений
5		11 × 5,5	Еліптичний, лопаті добре виражені, край хвилястий, верхівка округла, основа серцеподібна	Темно-зелений з жовтуватим відтінком, листок щільний	Слабкий наліт борошнистої роси на лопаті, краї частково підсохлі, початкове ураження




Продовження додатку Б

6		10 × 5	Видовжено-еліптичний, лопаті чітко виражені, край хвилястий, верхівка округла, основа серцеподібна	Темно-зелений, блискучий, типовий вигляд	Борошниста роса відсутня, краї трохи підсохлі, загалом здоровий
7		9 × 4,5	Овальний, лопаті слабо виражені, край майже рівний, верхівка округла, основа клиноподібна	Світло-зелений, рівномірний	Поодинокі плями борошнистої роси, дрібні отвори по краю, ознаки ураження
8		11 × 5,5	Видовжено-еліптичний, лопаті середньої глибини, край хвилястий, верхівка округла, основа серцеподібна	Темно-зелений, злегка матовий	Борошниста роса відсутня, краї трохи підсохлі, початкові ознаки підсушування

Продовження додатку Б

9		8,5 × 4	Вузький, лопаті майже не виражені, край рівний, верхівка округла, основа клиноподібна	Світло-зелений, місцями знебарвлений	Борошниста роса відсутня, механічні пошкодження по краю, стан ослаблений
10		12 × 6	Еліптичний, лопаті чітко виражені, край хвилястий, верхівка округла, основа серцеподібна	Темно-зелений, рівномірний	Слабкий наліт борошнистої роси на лопаті, краї підсохлі, початкові ознаки ураження
11		9 × 4,5	Овальний, лопаті середньої глибини, край злегка хвилястий, верхівка округла, основа клиноподібна	Світло-зелений, рівномірний	Поодинокі плями борошнистої роси, дрібні отвори по краю, стан задовільний

Продовження додатку Б

12		10,5 × 5	Видовжено-еліптичний, лопаті чітко виражені, край хвилястий, верхівка округла, основа серцеподібна	Темно-зелений, блискучий	Борошниста роса відсутня, краї трохи підсохлі, здоровий стан
13		8 × 3,5	Вузький, лопаті майже не виражені, край рівний, верхівка округла, основа клиноподібна	Світло-зелений, менш насичений	Борошниста роса відсутня, механічні пошкодження по краю, стан ослаблений
14		11,5 × 5,5	Еліптичний, лопаті середньої глибини, край хвилястий, верхівка округла, основа серцеподібна	Темно-зелений, щільний	Слабкий наліт борошнистої роси на лопаті, краї підсохлі, початкові ознаки ураження