

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА**

**СЕЛЮТІНА ОКСАНА ВОЛОДИМИРІВНА**

УДК 591.5:595.782

**БІО-ЕКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КАШТАНОВОГО МІНЕРА  
(*CAMERARIA OHRIDELLA* DESCHKA & DIMIC, 1986)  
У СТЕПОВІЙ ЗОНІ УКРАЇНИ**

03.00.16 – екологія

**Автореферат**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Дніпро – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Дніпровському національному університеті імені Олеся Гончара  
Міністерства освіти і науки України

**Науковий керівник:** кандидат біологічних наук, доцент  
**Голобородько Кирило Костянтинович**  
Дніпровський національний університет  
імені Олеся Гончара, НДЛ наземної екології, лісового  
грунтознавства та рекультивації земель НДІ біології,  
провідний науковий співробітник

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор  
**Маркіна Тетяна Юрївна,**  
Харківський національний педагогічний  
університет імені Г. С. Сковороди, кафедра зоології,  
професор, природничий факультет, декан

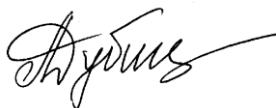
кандидат біологічних наук  
**Кавурка Віталій Володимирович,**  
Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України,  
науковий співробітник лабораторії фондів колекцій  
відділу ентомології та наукових фондів колекцій

Захист відбудеться «\_\_» квітня 2021 року о \_\_-00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 08.051.04 для захисту дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук у Дніпровському національному університеті імені Олеся Гончара за адресою: 49010, м. Дніпро, пр. Гагаріна 72, корпус 17, біолого-екологічний факультет, ауд. 711.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара за адресою: 49010, м. Дніпро, вул. Казакова, 8.

Автореферат розісланий «    » березня 2021 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
кандидат біологічних наук, доцент



А. О. Дубина

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Одним з унікальних індикаторів забруднення навколишнього середовища є гіркокаштан звичайний (*Aesculus hippocastanum* Linnaeus, 1753), поширений в різних екологічних умовах більшості Європейських міст як у південній, так і в північній зоні з помірним кліматом (Григорюк та ін., 2004; Grabenweger, Grill, 2000; Steadman, Pritchard, 2004). Він відноситься до природного фільтру очищення повітря, ґрунту і води від токсичних речовин, які у великій кількості викидаються промисловими підприємствами великих міст, а також є цінною породою через широке використання в медицині (Apers et al., 2006; Čalić-Dragosavas, 2010; Štajner et al., 2014). Тривалий час гіркокаштан звичайний належав до числа високостійких деревних порід (Григорюк та ін., 2004). Але в останні два десятиліття стан гіркокаштанових насаджень суттєво погіршився як внаслідок впливу несприятливих абіотичних факторів середовища (через глобальні зміни клімату та посилення техногенного навантаження), так й через масове розмноження фітофагів і фітопатогенів (Григорюк та ін., 2004; Shupranova et al., 2014; Holoborodko et al., 2016; Jagiełło et al., 2017).

Особливо *A. hippocastanum* потерпає від каштанового мінера (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986), для якого вона є основною кормовою рослиною. Наслідком такого впливу є сильне пошкодження листя і передчасна дефоліація, що негативно позначаються на накопиченні резервів поживних речовин необхідних для підтримки життєвості рослин узимку і відновлення росту навесні (Зерова и др., 2007). Рівень пошкодження гусінню *C. ohridella* листових пластинок гіркокаштану в умовах зелених насаджень міст сягає від 3,0 до 84,5% (Зерова и др., 2007).

Походження цього фітофага довгий час залишалось нез'ясованим, так як він не був виявлений в місцях природного зростання роду *Aesculus* ні в Східній Азії, ні в Америці. Його походження з південних Балкан (Албанія, Македонія та Греція) було доведено на основі генетичного аналізу (Valade et al., 2009), який показав, що генетичне різноманіття виду найбільш велике в місцях його початкового виявлення. Звідти за невідомою причиною почав розповсюджуватися один його гаплотип, який і сформував сьогоднішній новий ареал виду. Цей фітофаг занесений до числа 100 найнебезпечніших інвазійних видів Європи (Augustin, 2009), а його біологія, екологія, фізіологія та біохімія, шляхи ефективного управління активно вивчаються (Baraniak et al., 2005; Голобородько та ін., 2009; Stygar et al., 2010; Rämert et al., 2011; Barta, 2018; Shupranova et al., 2019).

Хімічний захист рослин базується на білках і включає ферменти, які можуть послабити організм фітофага за рахунок перешкоджанню здатності комах використовувати ресурси з ураженої тканини рослини (Sánchez-Sánchez, Morquecho-Contreras, 2017). Комахи-фітофаги, як і всі тварини, потребують широкого набору поживних речовин. Дослідженнями Stygar et al. (2010) встановлено, що основними поживними речовинами в листках гіркокаштану звичайного для гусені є крохмаль і цукроза, що підтверджено високою амілазною активністю, а також активністю мальтази і цукрази. Другим важливим класом макромолекул є розчинні білки, здатні впливати поряд із вуглеводами на продуктивність комах, у тому числі на швидкість росту та розмноження (Behmer, Joern, 2008; Behmer, 2009; Roeder, Behmer 2014), толерантність до рослинних токсинів (Patel et al., 2013; Deans et al. 2016) та до

патогенів (Lee et al., 2006; Povey et al., 2009). Індуковані поїданням листя фітофагами ферменти, такі як пероксидази, можуть сприяти більшій стійкості клітинної стінки в результаті синтезу лігніну, суберину, а також брати участь у нейтралізації активних форм кисню. Незважаючи на екологічне значення рослинних білків у формуванні взаємодій рослина-комаха, дослідження їх вмісту та активності ензимів у гіркокаштані звичайному є мало з'ясованим. З цих причин дослідження концентрації, мінливості легкокорозчинних білків та ферментів-антиоксидантів важливо для розуміння як особливостей екології живлення комах-фітофагів, так і в плані захисту рослин від їх нападу.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами.** Дисертаційна робота виконана згідно з тематикою зооекологічних досліджень кафедри зоології та екології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара та за держбюджетними темами «Розробка та впровадження інноваційної методики оцінки життєздатності та екологічних функцій інвазійних організмів у новому середовищі» (№0116U008040), «Концепція управління трансформаціями сучасного біорізноманіття тварин степової зони України в умовах змін клімату» (№ 0118U003305) та «Концепція інноваційного біомоніторингу токсичного навантаження тварин у природних і штучних екосистемах» (№0119U100718).

**Мета та завдання досліджень.** *Мета дисертаційної роботи* – встановити екологічні особливості популяції каштанового мінера (*C. ohridella*) та його вплив на вміст легкокорозчинних білків, активність пероксидаз та склад кислих ізоформ ферментів в листі гіркокаштана звичайного (*A. hippocastanum*).

Для досягнення мети поставлено такі завдання:

- 1) виявити екологічні особливості заселення *C. ohridella* різних типів паркових урбоекосистем в умовах промислової агломерації;
- 2) визначити вплив концентрації важких металів у тканинах кормової рослини на особливості існування *C. ohridella* в умовах промислової агломерації;
- 3) з'ясувати наявність сезонного ефекту впливу живлення *C. ohridella* на ферментативну антиоксидантну систему захисту в листках гіркокаштана звичайного;
- 4) визначити активність та ізоферментний склад бензидин-пероксидази, активність гваякол-пероксидази і каталази за умов механічного пошкодження листя гусінню *C. ohridella*;
- 5) виявити особливості біохімічної адаптації гіркокаштану звичайного до живлення гусені *C. ohridella* різних генерацій.

*Об'єкт досліджень* – популяції каштанового мінера (*C. ohridella*) як елемент штучних екосистем гіркокаштану звичайного (*A. hippocastanum*) в степовій зоні України.

*Предмет досліджень* – екологічні особливості впливу каштанового мінера (*C. ohridella*) на онтогенез гіркокаштану звичайного (*A. hippocastanum*) в степовій зоні України.

*Методи досліджень* – методи комплексних екологічних, ентомологічних, геоботанічних, біохімічних досліджень, методи варіаційної статистики, методи регресійного, однофакторного та двофакторного дисперсійного аналізу.

### **Наукова новизна одержаних результатів. Уперше:**

- на прикладі агломерації м. Дніпро, для степової зони України, з'ясовані особливості заселення *C. ohridella* різних типів паркових урбоєкосистем;
- визначено вплив концентрації важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd) у тканинах кормової рослини на особливості існування *C. ohridella* в умовах промислової агломерації;
- визначено активність та ізоферментний склад бензидин-пероксидази, активність гваякол-пероксидази і каталази за умов різного ступеню механічного пошкодження листа гусінню *C. ohridella*;
- з'ясовано, що найбільш вагомим для захисту клітин листка від *C. ohridella* є підвищення активності гваякол-пероксидази, що свідчить про посилення бар'єрних властивостей клітин;
- на основі визначення коефіцієнтів варіації показано, що активність бензидин-пероксидази має більш високий рівень мінливості, ніж каталази і гваякол-пероксидази;
- отримані дані демонструють, що дерева гіркокаштану звичайного можуть специфічно реагувати на механічне пошкодження листя *C. ohridella* через зміни в активності окремих молекулярних форм пероксидази.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати досліджень можуть бути використані для організації екологічного та фіто-санітарного моніторингу, складання кадастру інвазійної фауни, здійснення програм зі збереження міських зелених насаджень та штучного лісорозведення в степовій зоні України. Механізми спротиву гіркокаштану живленню мінера можуть бути використані у процесах селекції більш стійких порід дендрофлори.

Матеріали дисертаційної роботи використано в навчальному процесі Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара під час викладання дисциплін «Зоологія», «Ентомологія», «Моніторинг довкілля», «Захист рослин», «Біологічний метод захисту рослин» під час проведення навчальної практики студентів, виконання курсових та дипломних робіт.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачка самостійно провела планування досліджень, проаналізувала літературні джерела за темою дисертації, збирила польовий матеріал, здійснила його опрацювання у лабораторії, провела статистичну обробку даних, узагальнила отримані результати, сформулювала висновки. Особистий внесок у написанні кожної наукової публікації зазначено у «Списку наукових праць за темою дисертації».

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дисертаційної роботи обговорено на наукових конференціях та з'їздах, а саме на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Ентомологічні читання пам'яті видатного вченого-ентомолога проф. М.П. Дядечка» (Київ, 2014), II Міжнародній конференції «Відновлення біотичного потенціалу агроєкосистем» (Дніпропетровськ, 2015), VI International Scientific Agricultural Symposium «Agrosym 2015» (Jahorina (Bosnia and Herzegovina), 2015), Международной юбилейной конференции, посвященной 80-летию основания Ереванского ботанического сада (Ереван, 2015), V, VI, VII та VIII Міжнародних науково-практичних конференціях «Рослини та урбанізація» (Дніпропетровськ, 2016; Дніпро, 2017, 2018, 2019), 3RD International Conference

«Smart Bio» (Kaunas, 2019), X Міжнародній науковій конференції «Zoocenosis – 2019. Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах» (Дніпро, 2019), IX Міжнародній науково-практичній конференції «Рослини та урбанізація» (Дніпро, 2020).

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 18 наукових праць, із яких: дві статті у наукових журналах, що входять до наукометричних баз даних Scopus, Web of Science та Index Copernicus, п'ять – у наукових фахових виданнях України, 11 тез доповідей вітчизняних і міжнародних конференцій.

**Структура та обсяг роботи.** Дисертаційна робота складається зі вступу, шести розділів, висновків, списку використаних джерел, додатку. Загальний список використаної літератури містить 255 джерел, з яких 126 – іноземними мовами. Повний обсяг дисертації становить 170 сторінок. Робота містить 10 таблиць, 18 рисунків.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### ДОСВІД ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ *CAMERARIA OHRIDELLA* DESCHKA ET DIMIĆ, 1986 НА ОНТОГЕНЕЗ КОРМОВИХ РОСЛИН

**Досвід дослідження біо-екологічних особливостей *C. ohridella* у новому ареалі.** *C. ohridella* занесений до 100 найнебезпечніших інвазійних видів в Європі (Augustin, 2009), а його біологія, екологія, фізіологія та біохімія, шляхи ефективного управління (Augustin et al., 2004, 2005) активно вивчаються (Baraniak et al., 2005; Kenis et al., 2007; Stygar et al., 2010; Holoborodko et al., 2016; Barta, 2018). Перші дослідження біології й екології *C. ohridella* були ініційовані в 1994 році в Австрії (Pschorn-Walcher, 1994). Самиці відкладають яйця 0,2–0,4 мм на верхній частині листка вздовж жилки (De Prins et al., 2003; Кузьминская и др., 2016). Продуктивність розвитку достатньо висока – 40-50 яєць на одну самку, за сезон відбувається 3–4 генерації (Лобановський та ін., 2005; Дрозда та ін., 2013). На одному листку *A. hippocastanum* можна знайти до 100 яєць (Gilbert et al., 2004). Зародки розвиваються 2–3 тижні з 30% смертністю, що залежить від погодних умов (Pschorn-Walcher, 1994). Мікрокліматичні відмінності між біотопами, а також всередині біотопу впливають на тривалість фаз сезонного розвитку генерації, особливо в межах урбанізованих ландшафтів (Бащенко та ін., 2019; Кузнецов и др., 2020).

**Досвід дослідження впливу *C. ohridella* на онтогенез *A. hippocastanum*.** При дослідженні реакції рослин гіркокаштану звичайного на вплив фітофага підкреслюється важливість хімічної складової захисних систем рослин, яка охоплює вторинні метаболіти (алкалоїди, терпеноїди, ціаногенні глікозиди, флавоноїди, таніни, оксикоричні кислоти), ферменти антиоксидантного захисту, які беруть участь у блокуванні процесів передачі сигналу по рослині, інгібуванні метаболізму, підвищенні витрат ресурсів та енергії на засвоєння поживних речовин (Mithöfer, Boland, 2012; Григорюк, Лук'яненко, 2015), нейтралізації активних форм кисню (Štajner et al., 2014; Shupranova et al., 2019) та ін. Thalmann et al. (2003), вивчаючи повторний вплив дефоліації *C. ohridella* на репродукцію *A. hippocastanum*, зробив висновок про сильне зниження запасання фотосинтатів насінням у заражених деревах щодо контролю. Математичні розрахунки моделей заражених *C. ohridella* дерев у Північній Італії показали, що фотосинтетичні чисті втрати первинної

продукції заражених дерев становили близько 30% щорічно (Nardini et al., 2004). Подібні процеси можуть серйозно погіршити майбутній ріст і виживання саджанців гіркого каштану звичайного.

**Досвід дослідження механізмів адаптації та стійкості *A. hippocastanum* до впливу *C. ohridella*.** Хімічний захист рослин базується на білках і включає ферменти, які можуть послабити організм фітофага за рахунок перешкоджання здатності комах використовувати ресурси з ураженої тканини рослини (Sánchez-Sánchez, Morquecho-Contreras, 2017). Комахи-фітофаги, як і всі тварини, потребують широкого набору поживних речовин. Дослідженнями Stygar et al. (2010) встановлено, що основними поживними речовинами в листках *A. hippocastanum* для гусені є крохмаль і цукроза, що підтверджено високою амілазною активністю, а також активністю мальтази і цукрази. Другим важливим класом макромолекул є розчинні білки, здатні впливати поряд із вуглеводами на продуктивність комах, у тому числі на швидкість росту та розмноження (Behmer, Joern, 2008; Behmer, 2009; Roeder, Behmer 2014), толерантність до рослинних токсинів (Patel et al., 2013; Deans et al. 2016) та до патогенів (Lee et al., 2006; Povey et al., 2009). Незважаючи на екологічне значення рослинних білків у формуванні взаємодій рослина-комаха, дослідження їх вмісту та активності ензимів у *A. hippocastanum* в польових умовах є мало з'ясованими.

### **ФІЗИКО-ГЕОГРАФІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНУ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Степова зона України займає південну частину держави з заходу на схід від нижньої частини Дунаю до південних відрогів Середньоруського плоскогір'я. Довжина українського степу до 1000 км, а ширина – до 500 км. Степова зона України займає 240 тис. км<sup>2</sup>, що становить 40% території держави (Пащенко, 1983). Степову зону України поділяють на підзони: Дністровсько-Дніпровська, Лівобережно-Дніпровська, Приазовська, Донецька, Степовий Крим (Половина, 1998). Рельєф рівнинний, неоднорідний, з горбами, ярами й балками. Поширені форми флювіального рельєфу, зокрема яри, балки та лоцини. На півдні низовин поширені поди (або степові блюдця) – неглибокі овальні зниження з плоским дном. Клімат помірно континентальний. Степова зона виділяється найбільшими тепловими ресурсами і найменшою зволоженістю порівняно з іншими природними зонами країни. Річний тепловий баланс земної поверхні коливається від 4100 МДж/м<sup>2</sup> на півночі до 5320 МДж/м<sup>2</sup> на півдні (Булава, 2008). Середня температура січня змінюється з південного заходу на північний схід від –2 до –9 °С; липня — від +20 до +24 °С. (Пасічний, 1992) Літо довге, сонячне, жарке, посушливе. Осінь тепла, у другій половині йдуть дощі. Зима коротка, холодна, малосніжна. Весна настає рано. Річна сума опадів зменшується від 450 до 300 мм, що є причиною маловодості річок, особливо влітку (Булава, 2008). Через недостатність атмосферних опадів густота річкової мережі незначна. Найпоширенішими ґрунтами степу є чорноземи звичайні 6-9 % гумусу) та чорноземи південні 5-6 % гумусу), які разом становлять 90% площі природної зони (Бельгард, 1971). Для степової зони характерна трав'яна злакова степова рослинність.

## МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проведені протягом сім років (2014–2020 рр.) у межах степової зони України на 10 пробних ділянках (Дніпропетровська обл.: м. Дніпро, м. Нікополь; Запорізька обл.: НПП «Великий Луг»; Миколаївська обл.: РЛП «Тилігульський»), що відображають умови різних типів штучних насаджень гіркокаштану звичайного. Розглянуті екосистеми відрізняються за географічним положенням, типом і ступенем антропогенного навантаження. У зелених зонах населених місць, як об'єкт досліджень, були виділені вісім груп модельних дерев гіркокаштану звичайного 20–30-річного віку із близькими морфолого-таксаційними ознаками, але з різним ступенем ураженості листків мінером *C. ohridella*.

Для проведення біохімічного аналізу впливу трофічної діяльності *C. ohridella* на тканини листків гіркокаштану звичайного було закладено 8 пробних площ в умовах м. Дніпро. Листя середньої формації по 5 шт. відбирали на річному вегетативному прирості з нижньої третини крони південної експозиції в суху ясну погоду в період масового заселення (липень-серпень) 2017 – 2020 рр. від п'яти дерев гіркокаштану звичайного одночасно з кожної дослідної ділянки (всього досліджено 40 дерев).

Ступінь ураженості листкових пластинок гіркокаштану звичайного *C. ohridella* оцінювали візуально за модифікованою шкалою запропонованою М. Д. Зеровою та ін. (2007).

Для біохімічних аналізів листки промивали водою і одразу використовували для екстракції ензимів. Для виділення ферментного препарату листки каштану (0,3 г) гомогенізували в 6 мл 0,05 М трис-НСL буфері, рН 7,4 з 0,5% полівінілпіролідом (PVP). Екстракцію проводили при +40С протягом 1 год та центрифугували 15 хв при 14000 об/хв. Супернатант відбирався для визначення активності та ізоферментного складу бензидин-пероксидази (BPOD), активності гваякол-пероксидази (GPPOD) і каталази (CAT).

Активність BPOD (BPOD, ЕС 1.11.1.7) вимірювали при 490 нм у реакційній суміші (0,8 мл Na-оцтовий буфер, рН 5,4; 1 мл розчину бензидину і 0,2 мл ферментного препарату) після додавання 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Розрахунок активності проводився в інтервалі часу 1 хв, за якої спостерігалась максимальна швидкість реакції (Gregory, 1966). Результат виражали в опт.од./г сирової речовини хв.

Ізоферментний склад ВРх визначали методом ізоелектричного фокусування (IEF) в 5% горизонтальному поліакриламідному гелі (ПААГ) на приладі Ultrophor (LKB, Bromma, Sweden), діапазон рН 3,5–6,5. Для виявлення ферментативної активності в ПААГ використовували бензидиновий метод Guikema and Shermen (1980). Забарвлені гелі сканували та аналізували за комп'ютерною програмою 1D Phoretix, за якою для кожної ізоформи визначали її питому вагу (%) у загальному спектрі пероксидази. Виміри рН проводили безпосередньо на гелі з 1-см інтервалом за допомогою мікроелектрода (LKB 2117–111 Multiphor Surface Electrodes) при +100°С. Значення ізоелектричних точок (pI) ізоформ визначали за калібрувальною кривою.

Активність гваякол-залежної пероксидази (GPOD, ЕС 1.11.1.7) оцінювали згідно Ranieri et al. (2001) шляхом визначення окису гваяколу при 470 нм у реакційній суміші, яка містила оцтовий буфер (рН 6,0), 2 мМ розчин гваяколу,



0,2 мл ферментного препарату і 0,15%  $H_2O_2$ . Результати розраховували з урахуванням молярного коефіцієнту екстинкції ( $26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) і виражали в мМ гваякол/г . сирій речовини.

Визначення активності каталази (CAT, EC 1.11.1.6) оцінювали згідно Goth (1991) шляхом вимірювання оптичної густини при 410 нм в реакційній суміші з 0,2 мл ензимного препарату, 0,1%  $H_2O_2$  і 4% молібдатом амонію. Результати розраховували з урахуванням коефіцієнту екстинкції ( $22,2 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) і виражали у мкМ  $H_2O_2$ /мг білку хв. Вміст білку в зразках визначався за методом Bradford (1976) з барвником Coomassie brilliant blue G 250 (Serva, USA) відносно стандарту альбуміну сироватки бика (Serva, USA).

Результати досліджень активності ферментів представляли як середнє значення  $\bar{x}$ , SD (стандартне відхилення). Отримані дані аналізували за допомогою програми Statistica (версія 8, StatSoft, США). Для визначення достовірної різниці групових середніх застосовували критерій Тьюкі (Honestly Significant Difference). Відмінності визнані статистично значущими за  $P < 0,05$ . Оскільки в місті не було знайдено абсолютно непошкодженого *C. ohridella* дерев гіркокаштану звичайного за контроль взяті насадження з низьким (8,67%) ураженням рослин мінером.

### **ОСОБЛИВОСТІ ЗАСЕЛЕННЯ *C. OHRIDELLA* РІЗНИХ ТИПІВ ПАРКОВИХ УРБООКОСИСТЕМ В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОЇ АГЛОМЕРАЦІЇ (НА ПРИКЛАДІ М. ДНІПРО)**

**Оцінка ступеня пошкодження листкової поверхні *A. hippocastanum* протягом вегетаційного сезону.** Аналіз ушкодження листкових пластинок кормової рослини *C. ohridella* проводили протягом трьох років (2017-2020 рр.) візуально за модифікованою шкалою запропонованою М. Д. Зеровою та ін. (2007). Дослідженнями було охоплено всі основні паркові урбоекосистеми м. Дніпро, де висаджено дерева гіркокаштану. Моніторинг здійснювався протягом трьох літніх місяців, що відповідає основному періоду живлення трьох найактивніших генерацій *C. ohridella* (I, II та III). З'ясувалось, що листкові пластинки *A. hippocastanum* ушкоджуються по-різному у різних паркових урбоекосистемах. Найбільший відсоток ушкоджень в усіх паркових зонах спостерігається у серпні, коли своє живлення майже повністю здійснили три генерації.

Наші дослідження показують достовірну залежність ступеня ушкодження листкової пластинки від висоти над рівнем моря на якій знаходиться паркова урбоекосистема та вмістом важких металів у тканинах листка *A. hippocastanum* (табл.1.). З'ясувалось, що чим вище за рельєфом розташовані насадження гіркокаштану звичайного, тим більший відсоток їх заселення, причому така тенденція спостерігалась всі три літні місяці. Наприклад, в парку Мануйлівському насадження гіркокаштану розташовані на позначці 56 м над рівнем моря, середнє заселення листків у серпні становить 14%, у цей же місяць у Ботанічному саду ДНУ (149 м) рівень заселення становив 78%.

Дослідження із впливу важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd) на популяції *C. ohridella* також показали достовірні відмінності за типами урбоекосистем (рис.1.). Виявилось, що чим більший вміст важких металів у тканинах листків кормової рослини, тим більше відсоток ураження мінами їх поверхні.

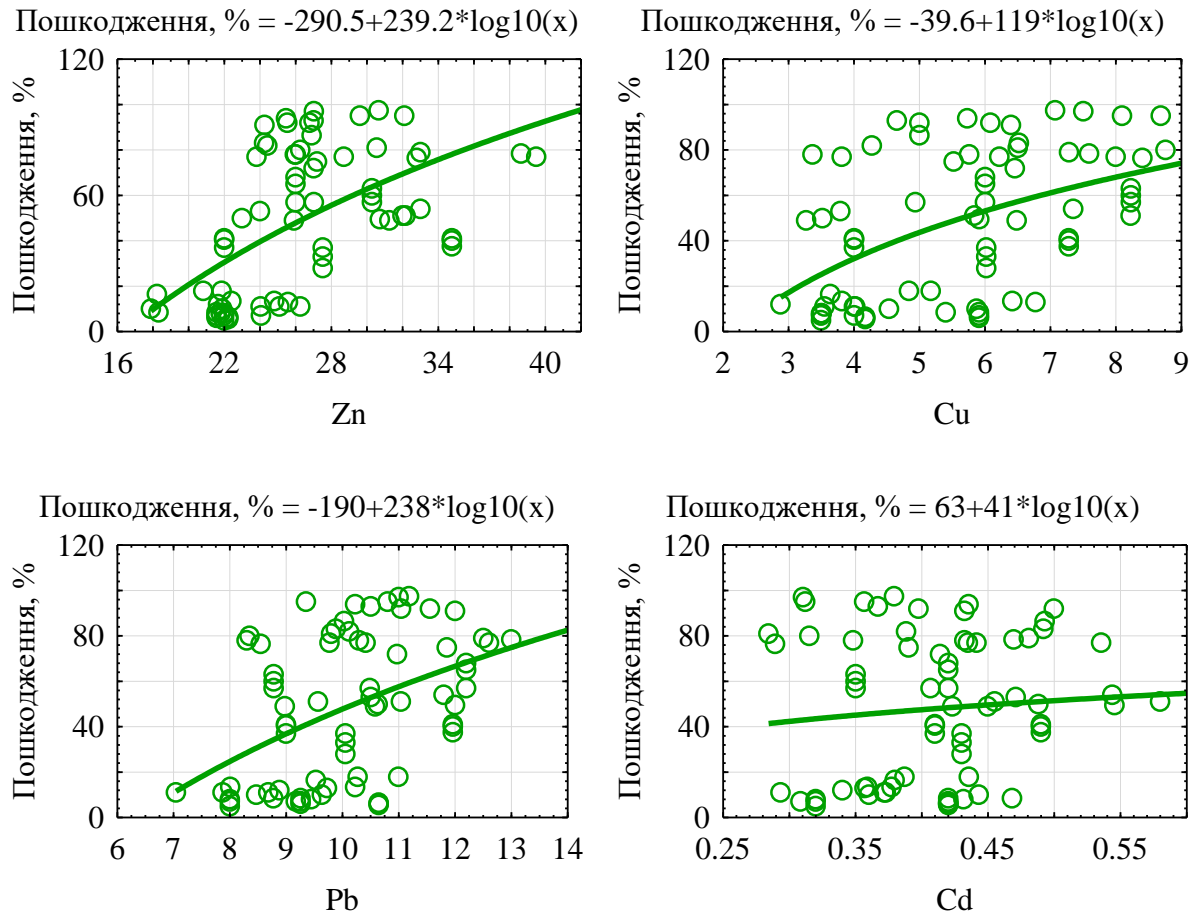


Рис. 1. Залежність пошкодження листкової поверхні (вісь ординат, %) від концентрації важких металів (вісь абсцис, мкг/г)

Таблиця 1.

Результати Загальної лінійної моделі впливу вмісту важких металів, висоти рельєфу та місяця на пошкодження листових пластин ( $R^2_{adj} = 0.69$ ,  $F = 23.4$ ,  $p < 0.001$ )

| Вплив          | Сума квадратів | Ступені вольності | Середня сума квадратів | F-відношення | p-рівень |
|----------------|----------------|-------------------|------------------------|--------------|----------|
| Константа      | 4272,2         | 1                 | 4272,2                 | 14,15        | < 0,001  |
| Zn             | 2961,6         | 1                 | 2961,6                 | 9,81         | < 0,001  |
| Cu             | 3335,8         | 1                 | 3335,8                 | 11,05        | < 0,001  |
| Pb             | 2493,7         | 1                 | 2493,7                 | 8,26         | 0,01     |
| Cd             | 33,7           | 1                 | 33,7                   | 0,11         | 0,74     |
| Висота рельєфу | 1441,3         | 1                 | 1441,3                 | 4,77         | 0,03     |
| Місяць         | 11992,4        | 2                 | 5996,2                 | 19,86        | < 0,001  |
| Помилка        | 19318,6        | 64                | 301,9                  | –            | –        |

Нами також встановлений постійне достовірне збільшення відсотка ураження листової поверхні *A. hippocastanum* в усіх паркових урбоекосистемах від початку червня (коли відбувається живлення гусені останніх віків I генерації) до кінця серпня (живлення гусені останніх віків III генерації). Протягом трьох років спостережень, по м. Дніпро цей узагальнений показник становив від 32 % у червні до 65 % у серпні.

**Оцінка кількості мін *C. ohridella* у різних паркових урбоекосистемах.** Дослідження тотального заселення листків гіркокаштану звичайного було здійснено у вересні протягом трьох років (2017-2020 рр.) у восьми паркових зонах м. Дніпро. Цей місяць було обрано як останній повний у вегетаційному сезоні в степовій зоні України для *A. hippocastanum*. Окрім того, у цей період вже закінчується динаміка заселення, адже в межах України не розвивається V генерація *C. ohridella*, та не відбувається нашарування різних віків гусені різних генерацій.

Як бачимо на рисунку 2 встановлена залежність між кількістю мін та концентрацією важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd) у різних паркових урбоекосистемах. У паркових зонах із найбільшою концентрацією важких металів виявилась і найбільша кількість мін на листку. Максимальні значення кількості мін на окремих листках *A. hippocastanum* сягали 450-465 шт.

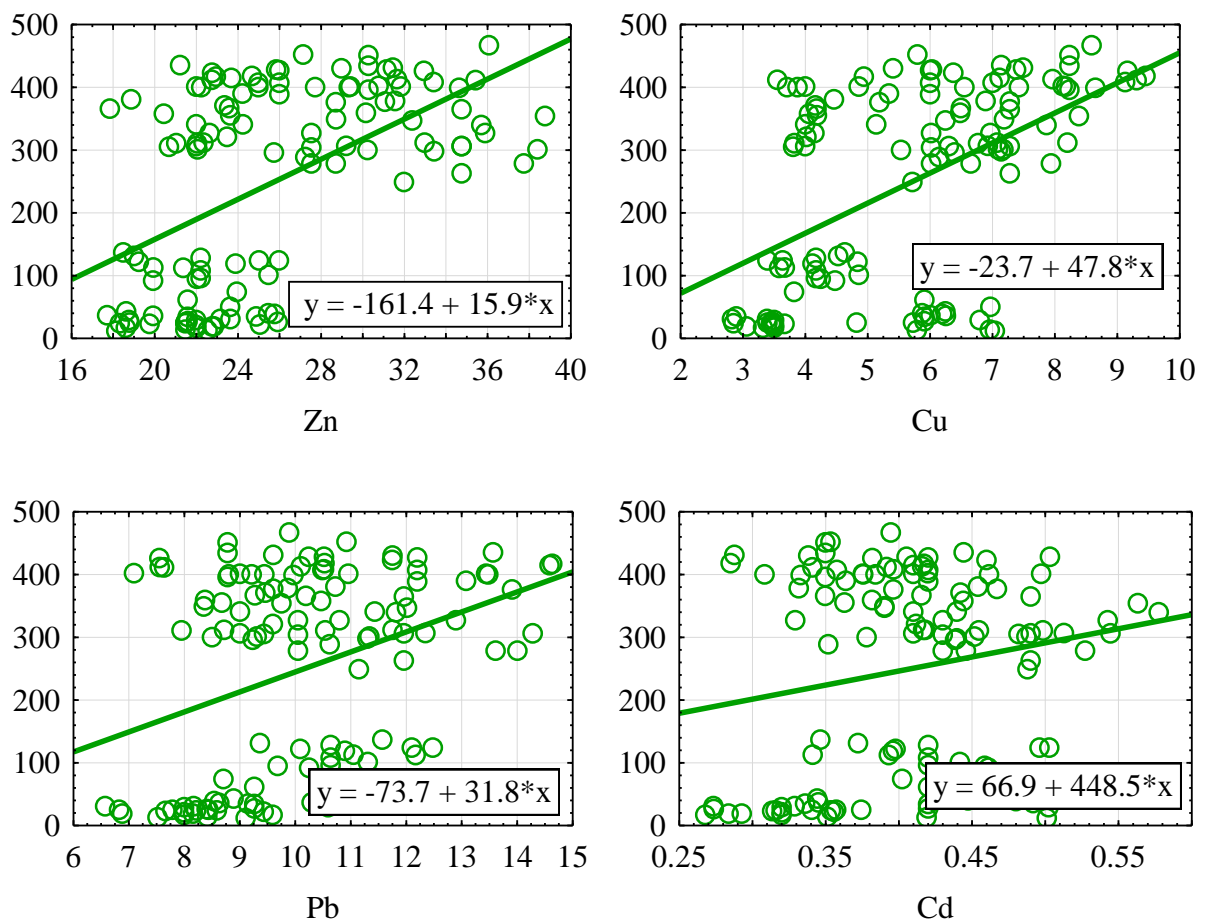


Рис. 2. Залежність кількості мін (вісь ординат) від концентрації важких металів в тканинах листка кормової рослини (вісь абсцис, мкг/г)

Дослідження виявили достовірну залежність кількості мін на одному листку гіркокаштана звичайного від типу біогеоценозу в якому знаходиться дерево та вмісту важких металів у тканинах кормової рослини (табл. 2.).

Таблиця 2.

Результати Загальної лінійної моделі впливу вмісту важких металів в листках кормової рослини, типу біогеоценозу та року на кількість мін

$$(R^2_{adj} = 0.97, F = 364.3, p < 0.001)$$

| Вплив     | Сума квадратів | Ступені вольності | Середня сума квадратів | F-відношення | p-рівень |
|-----------|----------------|-------------------|------------------------|--------------|----------|
| Константа | 9589,3         | 1                 | 9589,3                 | 15,68        | <0,001   |
| Zn        | 7,8            | 1                 | 7,8                    | 0,01         | 0,91     |
| Cu        | 5876,2         | 1                 | 5876,2                 | 9,61         | <0,001   |
| Pb        | 526,3          | 1                 | 526,3                  | 0,86         | 0,36     |
| Cd        | 377,6          | 1                 | 377,6                  | 0,62         | 0,43     |
| БГЦ       | 1414058,1      | 7                 | 202008,3               | 330,35       | <0,001   |
| Рік       | 4031,3         | 2                 | 2015,7                 | 3,30         | 0,04     |
| Помилка   | 64819,7        | 106               | 611,5                  | –            | –        |

Аналіз впливу особливостей рельєфу на кількість мін у листку гіркокаштанів показав, що чим вище над рівнем моря знаходились посадки *A. hippocastanum* тим більша кількість мін спостерігалась на одному листку. Найбільші показники заселення виявились у паркових урбокосистемах, що знаходились на 100 м та вище (парк Т.Г. Шевченко, Ботанічний сад ДНУ та сквер Металургів), середня кількість мін за останні три роки спостережень – понад 320 шт/листок. І навпаки, у парках Мануйлівський (56 м) та Молодіжний (57 м) середня кількість мін на листку не перевищувала за роки спостережень 35 шт.

### **ВПЛИВ *C. OHRIDELLA* НА ВМІСТ РОЗЧИННИХ БІЛКІВ В АСИМІЛЮЮЧИХ ОРГАНАХ *A. HIPPOCASTANUM***

Аналіз вмісту легкорозчинних білків у листі рослин гіркокаштану звичайного виявив їх невеликий діапазон серед більшості досліджених ділянок насаджень м. Дніпро, що становило 2,61-2,84 мг/г. Найбільший вміст легкорозчинних білків виявлено в листі дерев дослідної ділянки №8 в парку Придніпровський 3,01 мг/г і дослідної ділянки №1 скверу Металургів 3,03 мг/г, а найменший в листі дерев дослідної ділянки №4 в парку Дружби народів 2,39 мг/г. (рис.3.)

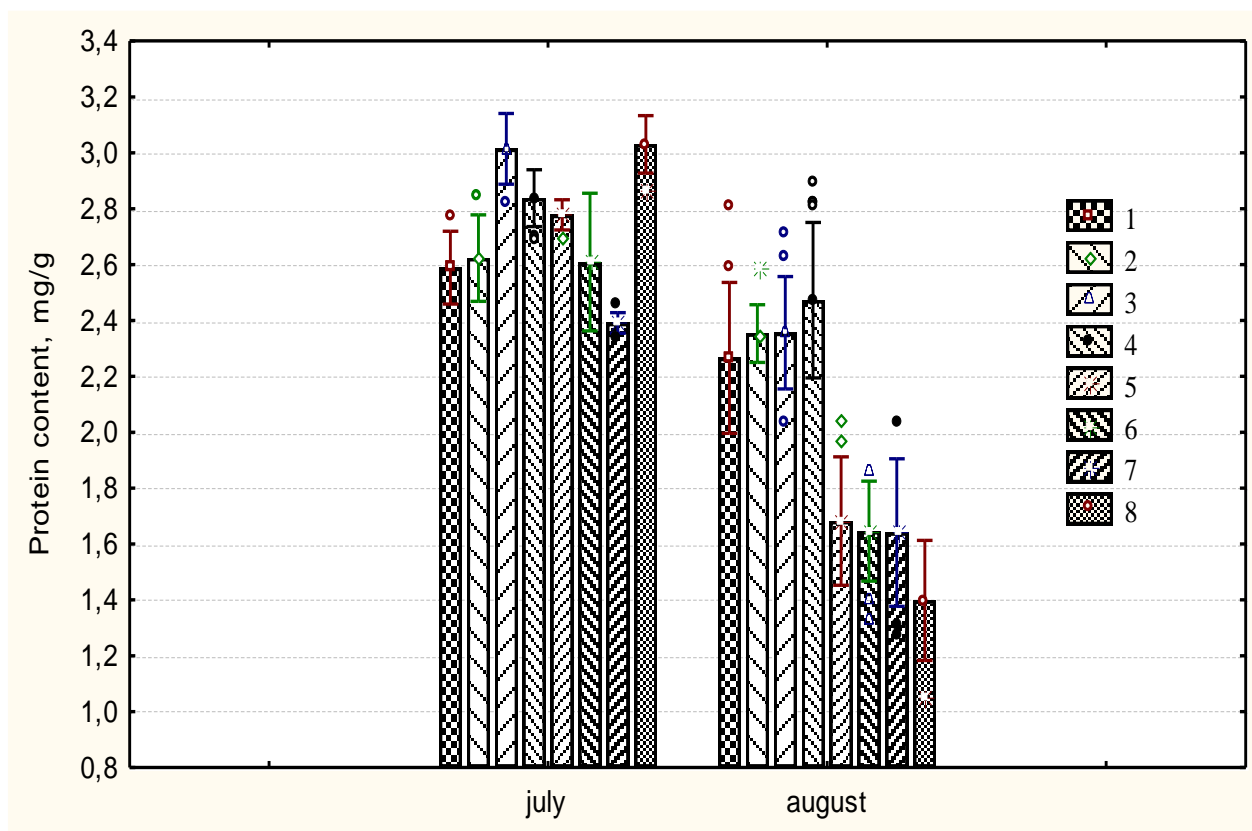


Рис. 3. Зміни вмісту легкокорозчинних білків у листі рослин гіркокаштану звичайного уражених *C. ohridella* ( $m \pm SD$ )

У середньому в липні значення кількості білків у листі рослин гіркокаштану звичайного з трьох досліджених ділянок за рівнем ураження дерев були подібними від 2,71 до 2,74 мг/г.

У подальшому в серпні відмічено зниження вмісту легкокорозчинних білків, що корелювало з підвищенням рівня руйнування листків *C. ohridella*. Зниження вмісту легкокорозчинних білків в групі умовно стійких дерев каштану (з 13,3% ураженням листків) складало від 10,3% на дослідній ділянці №6 в парку. Молодіжний до 21,6% на дослідній ділянці №8 в парку Придніпровський.

У дерев з рівнем пошкодження листя мінером 78,3% картина виявилась дещо іншою: дерева з дослідної ділянки №3 в парку Т.Г. Шевченка показали зниження вмісту білка на рівні 13%. У той час вміст легкокорозчинних білків дерев дослідної ділянки №7 з Ботанічного саду 36,8%, а дерев дослідної ділянки №5 в парку Лазаря Глоби 39,6% відповідно.

Найбільша втрата легкокорозчинних білків виявилась для *A. hippocastanum*, які у липні показали високий рівень ураження листя *C. ohridella* з території дослідної ділянки №1 скверу Металургів, а саме на 53,8%. У листі рослин гіркокаштану звичайного з дослідної ділянки №4 парку Дружби народів зниження вмісту легкокорозчинних білків складало 31,4%. Зареєстровано широку амплітуду варіювання вмісту легкокорозчинних білків у липні в межах 1,5-8,9%, а в серпні 4,3-15,9%, але мінливість знаходилась у межах нормального розподілу.

*C. ohridella* впливає на функціональний стан гіркокаштану звичайного, що підтверджується змінами у вмісті розчинних білків. Дослідження показали

зменшення вмісту легкокорозчинних білків листя *A. hippocastanum* у серпні. Можна припустити, що вміст білка значно знижується в листках, уражених каштановим мінером, оскільки рослина знижує швидкість синтезу легкокорозчинного білка в умовах біотичного стресу, а весь механізм трансляції зміщений на вироблення білків, пов'язаних із захистом. Крім того, зниження рівня білка в серпні може бути пов'язане з відтоком біомолекул до органів зберігання рослини. Зниження вмісту розчинних білків у фазі активного відтоку асимілятів є нормальним фізіологічним процесом, але в листі, пошкодженому мінером, цей процес може бути прискорений порівняно з контролем.

### ВПЛИВ *C. OHRIDELLA* НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ АСИМІЛЮЮЧИХ ОРГАНІВ *A. HIPPOCASTANUM*

**Особливості реакції пероксидазної системи *A. hippocastanum* на живлення гусени *C. ohridella*.** Активність пероксидази корелює з широким спектром фізіологічних процесів рослин, що включає лігніфікацію, метаболізм ауксину, поранення, стійкість до хвороб. У зв'язку з цим було проведено вивчення реакції пероксидазної системи і склад антиоксидантних ферментів: бензидин-пероксидази (BPOD), гваякол-пероксидази (GPOD) і каталази (CAT) листя рослин гіркокаштану звичайного в липні і серпні за присутності каштанового мінера з метою з'ясування наслідків впливу на функціональний стан дерев. Результати дисперсійного аналізу залежності активності BPOD, GPOD і CAT листя гіркокаштану звичайного від ступеня ураження дерев шкідником виявили значимі відмінності за  $P < 0,05$  (табл. 3.). При пошкодженні листків із середнім рівнем ураження листя (49.3%) активність BPOD була достовірно вища порівняно з контролем на 41,4% ( $F = 10.22$ ;  $p = 2.4 \cdot 10^{-3}$ ;  $F_{0.05} = 4.03$ ), а при рівні ураження 86,5% активність підвищувалась на 50,0 % ( $F = 44.94$ ;  $p = 3.5 \cdot 10^{-8}$ ;  $F_{0.05} = 4.07$ ). Достовірної відмінності в активності BPOD між середнім і високим ступенем пошкодження не виявлено ( $F = 0.292$ ;  $p = 0.592$ ;  $F_{0.05} = 4.07$ ).

Таблиця 3.

Активність антиоксидантних ферментів (BPOD, GPOD, CAT) та значення коефіцієнта варіації (CV) у листках гіркокаштану звичайного різного ступеня ураження *C. ohridella*

| Рівень пошкодження листя, % | n  | BPOD, U/g FW, мін            | CV, % | n  | GPOD, мМ гваякол/ g FW, мін | CV, % | n  | CAT, μM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /mg білку, мін | CV, % |
|-----------------------------|----|------------------------------|-------|----|-----------------------------|-------|----|--|-------|
| 8,67                        | 27 | 120,12 ± 27,478 <sup>a</sup> | 22,9  | 27 | 4,96 ± 0,842 <sup>a</sup>   | 16,9  | 24 | 1,90 ± 0,184 <sup>a</sup>                            | 9,5   |
| 49,3                        | 27 | 169,86 ± 76,035 <sup>b</sup> | 44,8  | 27 | 9,28 ± 1,034 <sup>b</sup>   | 11,1  | 24 | 1,57 ± 0,275 <sup>b</sup>                            | 17,8  |
| 86,5                        | 18 | 180,13 ± 32,157 <sup>b</sup> | 17,9  | 18 | 8,71 ± 0,728 <sup>c</sup>   | 8,4   | 16 | 1,39 ± 0,245 <sup>c</sup>                            | 18,0  |

У листках гіркокаштану також підвищувалась активність гваякол-пероксидази порівняно з контролем, але в більшій мірі, ніж ВРОД, а саме: на 87,1 ( $F = 178.86$ ;  $p = 5.0 \cdot 10^{-28}$ ;  $F_{0.05} = 3.13$ ) і 75,6 % ( $F = 238.20$ ;  $p = 3.8 \cdot 10^{-19}$ ;  $F_{0.05} = 4.07$ ) відповідно до 50,0 і 86,5% пошкодження листя. Зареєстровано достовірне зниження (на 6,1 %) активності GPOD між середнім і високим рівнем ураження листків ( $F = 4.08$ ;  $p = 0,0495$ ;  $F_{0.05} = 4.07$ ).

Каталаза виявила протилежну закономірність: зменшення активності залежно від рівня ураження листків мінером: на 17,4 ( $F = 24.24$ ;  $p = 1.8 \cdot 10^{-8}$ ;  $F_{0.05} = 3.15$ ) і 26,8 % ( $F = 55.98$ ;  $p = 5.8 \cdot 10^{-9}$ ;  $F_{0.05} = 4.10$ ) відповідно до середнього і високого рівня пошкодження листя гіркокаштану. Між середнім і високим рівнем пошкодження листків мінером активність каталази достовірно знижувалась на 11,5% ( $F = 4.282$ ;  $p = 0,0454$ ;  $F_{0.05} = 4.10$ ).

Аналіз даних виявив широку амплітуду мінливості активності ферментів за ступенем ураження листків *C. ohridella*, особливо, ВРОД. Найбільшу мінливість значень активності бензидин-пероксидази виявлено у зразках листків гіркокаштану за середнього ураження мінером. Найменші показники коефіцієнту варіації зареєстровані для активності GPOD за високого, а для САТ – за низького рівня пошкодження листків фітофагом (табл. 1.). При вивченні активності гваякол-пероксидази в гомогенатах листків гіркокаштану знайдено поступове зниження варіабельності параметрів активності від 16,9 до 8,4 % (коефіцієнту варіації) від найменшого до високого ураження листків мінером. У той час як у каталази навпаки – зростання варіабельності від найменшого до більшого ступеня пошкодження листків шкідником (9,5→18,0 %).

**Вплив живлення гусені *C. ohridella* на ізоферментний склад бензидин-пероксидази.** Ізоферментний склад ВРОД у липні характеризувався невеликою гетерогенністю (4–6 ізоформ), але в різних групах дерев гіркокаштану звичайного ураженого *C. ohridella* спостерігалась висока варіабельність щодо відносного вмісту окремих ізоформ (рис. 4.).

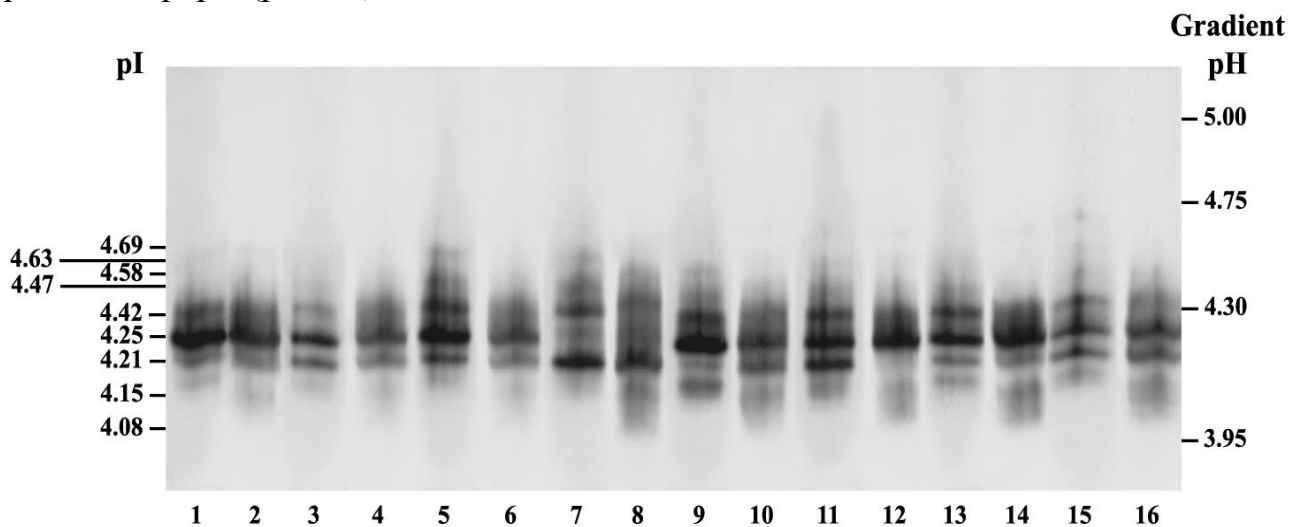


Рис. 4. Зміни в профілях ізоелектричного фокусування (IEF) поліакриламідного гелю ВРОД з листя *A. hippocastanum*, ураженого *C. ohridella*. Ізоензимний спектр бензидин-пероксидази в листках *A. hippocastanum* (липень/серпень).

Смуги 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 і 15 дослідні ділянки парків Придніпровський, Мануйлівський, Молодіжний 8,67 % пошкодження листків, Т.Г. Шевченка, Лазаря Глоби, Ботанічний сад ДНУ 49,3 % пошкодження листків, Дружби народів і скверу Металургів 86,3 % пошкодження листків відповідно показують спектри, отримані в липні. Смуги 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 і 16 (той же порядок дослідних ділянок парків, що і в першому випадку) показують спектри, отримані в серпні, низький рівень ураження листків (К – контроль). Смуга 3 – дослідна ділянка в парку Т.Г. Шевченка (40 % пошкодження листя); смуги 5 і 7 дослідні ділянки парків Лазаря Глоби, Ботанічний сад ДНУ відповідно, показують середній рівень пошкодження листя (52,5 %); смуги 1 і 4 дослідні ділянки скверу Металургів та лісопарку Дружба народів відповідно, є зразками з високим ступенем ураження листя (95%).

У всіх групах насаджень, окрім дослідної ділянки парку Т. Г. Шевченка, домінантною ізоформою є ізопероксидаза з рІ 4,25, найбільша питома вага якої представлена у групі дерев гіркокаштану звичайного з низьким рівнем пошкодження листків *S. ohridella* і складає в середньому 40,5 %. У насадженнях із середнім і високим рівнем ураженості листків каштановим мінером значення цього параметру коливаються від 30,6 до 37,5 %. Високий відносний вміст зареєстровано для молекулярної форми ВРОД 4,42, що для низького рівня пошкодження *S. ohridella* становило 17,1–24,5%, для середнього – 20,3–23,3 % і для високого рівня пошкодження листків *A. hippocastanum* – 21,0–26,1 %.

В умовах механічного пошкодження листя гіркокаштану звичайного достовірно знижувалась на 31,0 % питома вага домінантної ізопероксидази з рІ 4,25 за середнього ступеня ураження листків мінером ( $F = 13.65$ ;  $p = 2.0 \cdot 10^{-3}$ ;  $F_{0.05} = 4.49$ ). Тенденція до зниження питомої ваги на 14,9 % цього компоненту відмічається для високого пошкодження листків *S. ohridella* порівняно з контролем ( $F = 4.61$ ;  $p = 0.0513$ ;  $F_{0.05} = 4.67$ ) (рис. 5.).

У спектрі цитоплазматичної пероксидази листя каштану кінського в серпні виявлено 5 ізоензимів в діапазоні рН 4,08 – 4,69 (рис. 6).

Методом ІЕФ у спектрі пероксидаз, виділених із листя в серпні, заражених фітофагом різного ступеня, ідентифіковано 4-6 ізоензимів. Порівняно з липнем у серпні основна структура спектрів ферменту в основному зберіглась. Зареєстровано деякі зміни значень рІ у листі дерев гіркокаштану звичайного дослідної ділянки №3 в парку Т. Г. Шевченка. Замість компонентів з рІ 4,69 і 4,42 зафіксовано появу ізопероксидаз з рІ 4,63 і 4,47. Смуга з рІ 4,15 виявилась більш розмитою.

Фіксується додаткова смуга з близькою ізоелектричною точкою 4,08 в листі дерев гіркокаштану звичайного дослідних ділянок 3, 5, 7, 4, 1 з парків Т. Г. Шевченка, Лазаря Глоби, Ботанічного саду, Дружби народів і скверу Металургів. Відміни спостерігались головним чином, як і в липні, в зміні експресії всіх компонентів спектру.

У листі всіх досліджених дерев, окрім дерев з дослідної ділянки №3 з парку Т. Г. Шевченка, домінантною залишалась ізопероксидаза з рІ 4,25. Порівняно з липнем у серпні в листі дерев з низьким рівнем пошкодження *S. ohridella* її вміст знизився на майже на 9%, а з високим рівнем пошкодження (97,5%) на 15%.



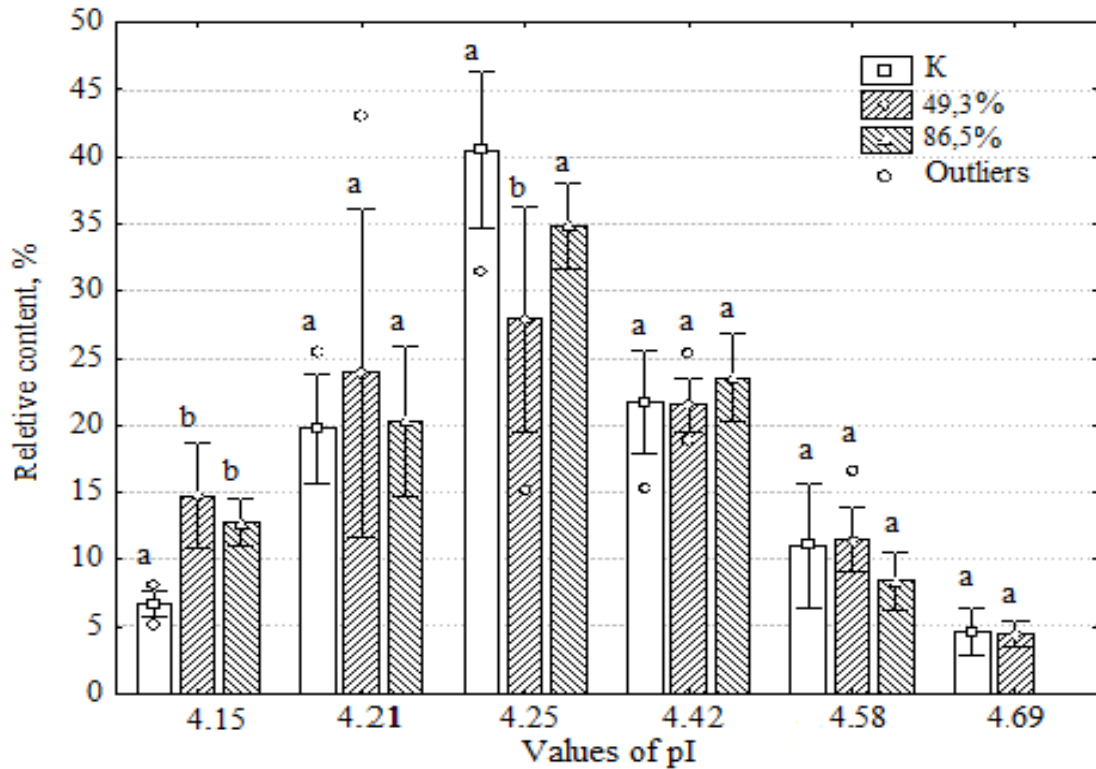


Рис. 5. Відносний вміст ізоформ ВРОД (% від сумарної кількості ізоформ в ІЕФ-спектрі) залежно від рівня пошкодження листя фітофагом; різними літерами (а, b), позначали значущу різницю згідно Tukey t-test  $P < 0,05$ ; значення представляють середні  $n = 3$  ІЕФ спектру

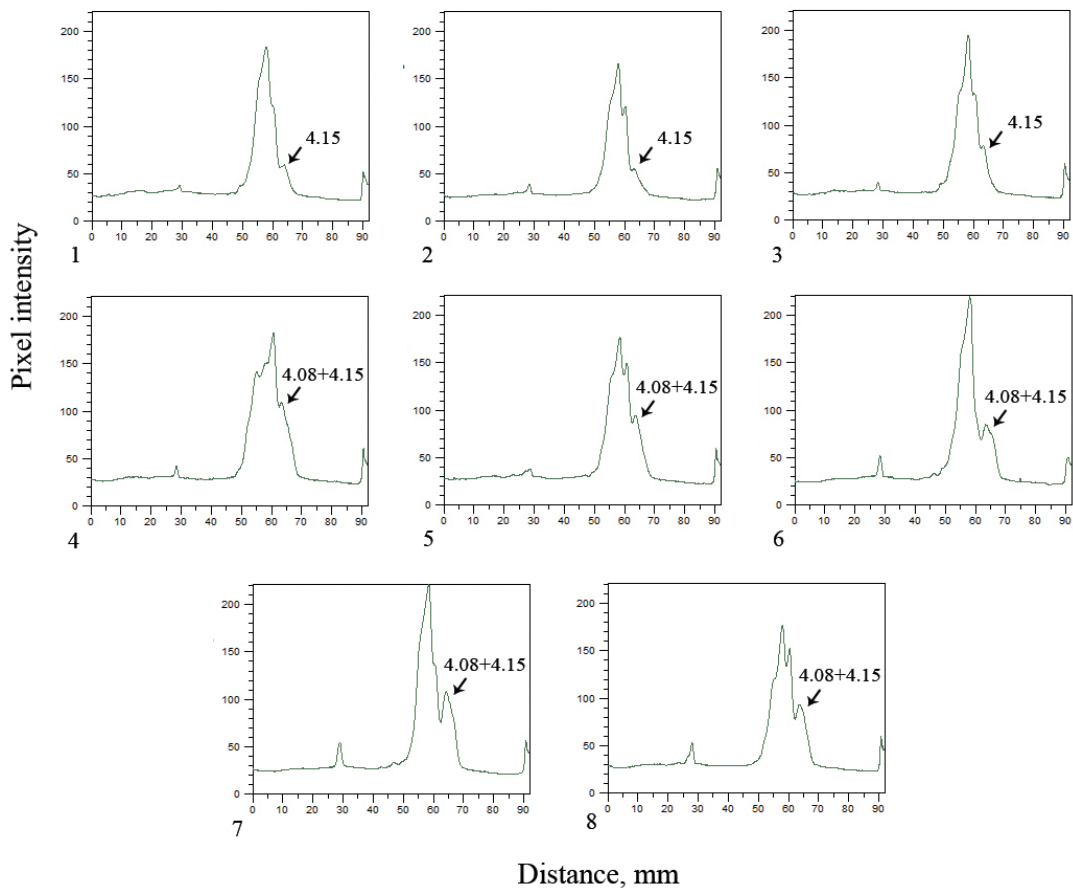


Рис. 6. Денситограми ізоферментів ВРОД в листках *A. hippocastanum* уражених *C. ohridella* різного ступеня (серпень)

Аналіз ІЕФ-спектру пероксидази у розчинній білковій фракції показав різницю у їх відносному вмісті в листках *A. hippocastanum* з різним ступенем ураження *C. ohridella* (табл. 4).

Таблиця 4

Відносний вміст ізоформ ВРОД в листках *A. hippocastanum* з різним ступенем ураження *C. ohridella* (n = 3; ± SD)

| Рівень пошкодження листя, % | pI значення ізопероксидаз |                          |                          |                          |                           |
|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                             | 4.08 - 4.15               | 4.21                     | 4.25                     | 4.42                     | 4.58                      |
| 13,3                        | 11,5 ± 1,91 <sup>a</sup>  | 19,8 ± 1,13 <sup>a</sup> | 36,8 ± 1,66 <sup>a</sup> | 28,3 ± 3,95 <sup>a</sup> | 5,36 ± 1,04 <sup>a</sup>  |
| 78,3                        | 19,2 ± 5,25 <sup>ab</sup> | 19,8 ± 9,53 <sup>a</sup> | 28,9 ± 9,64 <sup>a</sup> | 24,5 ± 6,07 <sup>a</sup> | 3,74 ± 1,12 <sup>ab</sup> |
| 97,5                        | 24,9 ± 0,43 <sup>b</sup>  | 17,0 ± 3,40 <sup>a</sup> | 29,9 ± 1,64 <sup>a</sup> | 26,0 ± 0,50 <sup>a</sup> | 2,99 ± 0,13 <sup>b</sup>  |

За ступенем ураження листя гіркокаштану звичайного 78,3 % відбулось незначне підвищення питомої ваги цього компонента на 3,7%. Заселення *C. ohridella* листя *A. hippocastanum* підвищувало експресію ізоформи з pI 4,42 в серпні на 30,6, 14,0 і 10,4 % відповідно до I, II і III груп дерев порівняно з липнем. Як і у випадку з липнем достовірне підвищення зареєстровано в найбільш кислій зоні рН: підвищення відбулось в серпні у всіх трьох досліджених групах дерев порівняно з липнем. У II і III групах дерев активність ізопероксидази 4,15+4,08 підвищилась на 67,7 % і в 2,2 рази відповідно порівняно з умовним контролем (I група). Порівняно з липнем ці значення в I групі підвищення було на рівні 71,7 %, в II групі – на 30,2 % і в III групі – на 97,9 %.

Динаміка активності ферменту при переході від липня до серпня, як на ділянках контрольної зони, так і в зонах з високим рівнем ураження листків гіркокаштану звичайного *C. ohridella*, була спрямована в бік підвищеної активності. Ця закономірність поряд із підвищенням тривалості дії *C. ohridella* може бути формою захисту, завдяки якій рослини знижують окиснювальне навантаження, викликане активними формами кисню, які утворюються за стресових умов.

## ВИСНОВКИ

1. З'ясовано достовірну залежність ступеня ушкодження листкової пластинки від висоти над рівнем моря на якій знаходиться паркова урбоєкосистема та вмістом важких металів у тканинах листка *A. hippocastanum*. Чим вище за рельєфом розташовані насадження гіркокаштану звичайного, тим більший відсоток їх заселення, причому така тенденція спостерігалась всі три літні місяці. Найнижчий показник в парку Мануйлівському, де насадження гіркокаштану розташовані на позначці 56 м над рівнем моря, середнє заселення листків у серпні становить 14%, у цей же місяць у Ботанічному саду ДНУ (149 м) рівень заселення становив 78%.

2. Установлена залежність між кількістю мін *C. ohridella* на листку та концентрацією важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd) у тканинах кормової рослини гусені. У паркових урбоекосистемах із найбільшою концентрацією важких металів у тканинах листків *A. hippocastanum* виявилась найбільша кількість мін на листку. Максимальні значення кількості мін на окремих листках *A. hippocastanum* сягали 450-465 шт.

3. *C. ohridella* впливає на функціональний стан гіркокаштану звичайного, що підтверджується змінами у вмісті розчинних білків. Дослідження показали зменшення вмісту легкорозчинних білків листя *A. hippocastanum* у серпні. Вміст білка значно знижується в листках, уражених каштановим мінером, оскільки рослина знижує швидкість синтезу легкорозчинного білка в умовах біотичного стресу, а весь механізм трансляції зміщений на вироблення білків, пов'язаних із захистом.

4. Виявлено широку амплітуду мінливості активності ферментів за ступенем ураження листків *C. ohridella*, особливо, бензидин-пероксидази. Найбільшу мінливість значень активності бензидин-пероксидази виявлено у зразках листків гіркокаштану за середнього ураження мінером. Найменші показники коефіцієнту варіації зареєстровані для активності гваякол-пероксидази за високого, а для каталази – за низького рівня пошкодження листків фітофагом. При вивченні активності гваякол-пероксидази в гомогенатах листків гіркокаштану знайдено поступове зниження варіабельності параметрів активності від 16,9 до 8,4% (коефіцієнту варіації) від найменшого до високого ураження листків мінером. У той час як у каталази навпаки – зростання варіабельності від найменшого до більшого ступеня пошкодження листків шкідником (9,5→18,0%).

5. Ізоферментний склад бензидин-пероксидази характеризувався невеликою гетерогенністю (4–6 ізоформ), але в різних групах дерев гіркокаштану звичайного ураженого *C. ohridella* спостерігалась висока варіабельність щодо відносного вмісту окремих ізоформ.

6. У більшості груп насаджень, домінантною ізоформою є ізопероксидаза з  $pI$  4,25, найбільша питома вага якої представлена у групі дерев гіркокаштану звичайного з низьким рівнем пошкодження листків *C. ohridella* і складає в середньому 40,5%. У насадженнях із середнім і високим рівнем ураженості листків каштановим мінером значення цього параметру коливаються від 30,6 до 37,5%. Високий відносний вміст зареєстровано для молекулярної форми бензидин-пероксидази 4,42, що для низького рівня пошкодження *C. ohridella* становило 17,1–24,5%, для середнього – 20,3–23,3% і для високого рівня пошкодження листків *A. hippocastanum* – 21,0–26,1%.

7. Динаміка активності ферменту при переході від липня до серпня, як на ділянках контрольної зони, так і в зонах з високим рівнем ураження листків гіркокаштану звичайного *C. ohridella*, була спрямована в бік підвищеної активності. Ця закономірність поряд із підвищенням тривалості дії *C. ohridella* може бути формою захисту, завдяки якій рослини знижують окиснювальне навантаження, викликане активними формами кисню, які утворюються за стресових умов.

## СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

## У виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз даних

1. Shupranova, L.V., Holoborodko, K.K., **Seliutina, O.V.**, Pakhomov, O.Y. (2019). The influence of *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae) on the activity of the enzymatic antioxidant system of protection of the assimilating organs of *Aesculus hippocastanum* in an urbogenic environment. Biosyst. Divers., 2019, 27(3). 238–243. doi: 10.15421/011933 (**Scopus, Web of Science**) (особистий внесок: опрацювання літератури, збирання та часткова обробка фактичного матеріалу, написання статті).
2. **Seliutina, O.V.**, Shupranova, L.V., Holoborodko, K.K., Shulman, M.V., Bobylev, Y.P. (2020). Effect of *Cameraria ohridella* on accumulation of proteins, peroxidase activity and composition in *Aesculus hippocastanum* leaves. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 11 (2), 299–304. <https://doi.org/10.15421/022045> (**Web of Science**) (особистий внесок: опрацювання літератури, збирання та часткова обробка фактичного матеріалу, написання статті).

## Публікації у наукових фахових виданнях України

3. Голобородько, К.К., Русинов, В.І., **Селютіна, О.В.** (2018). Інвазійні моли-строкатки (*Gracillariidae* Stainton, 1854) фауни Ботанічного саду Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара. Питання степового лісознавства та лісової рекультивациі земель. 47, 87–91. (особистий внесок: опрацювання літератури, збирання та часткова обробка фактичного матеріалу, написання статті).
4. Holoborodko, K.K., Rusynov, V.I., **Seliutina, O.V.** (2018). Addition to analysis of morphological parameters of mines on two invasive leaf-mining Lepidoptera species ((*Parectopa robiniella* (Clemens, 1863) and *Phyllonorycter robiniella* (Clemens, 1859)) on black locust. Problems of bioindications and ecology 23 (2), 134–141. (особистий внесок: опрацювання літератури, збирання та часткова обробка фактичного матеріалу, написання статті).
5. Shupranova, L., Holoborodko, K., **Seliutina, O.**, Pakhomov, O. (2019). Influence of *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic on the activity of antioxidant enzymes in horse chestnut leaves (*Aesculus hippocastanum* L.). Problems of bioindications and ecology 24 (1), 116–122. (особистий внесок: опрацювання літератури, збирання та часткова обробка фактичного матеріалу, написання статті).
6. Голобородько, К.К., Алексєєва, А.А., **Селютіна, О.В.**, Горбань, В.А. (2020). Оцінка впливу каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimič, 1986) на процеси фотосинтезу гіркокаштану звичайного (*Aesculus hippocastanum* Linnaeus, 1753). Ecol. Noospher., 31(1), 11–15 (особистий внесок: збирання та часткова обробка фактичного матеріалу, написання статті).
7. Голобородько, К.К., **Селютіна, О.В.**, Крайник, Ю.М., Пахомов, О.Є. (2020). Комплекс інвазійних Лускокрилих (*Lepidoptera*) на території Національного природного парку «Великий Луг». Український ентомологічний журнал. 1-2 (18), 30–35. (особистий внесок: збирання та часткова обробка фактичного матеріалу, написання статті).

**Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

8. **Селютіна, О.В.**, Голобородько, К.К. (2014). Сучасний стан каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986) у м. Дніпропетровськ. *Ентомологічні читання пам'яті видатного вченого-ентомолога проф. М.П. Дядечка*: Матеріали наукової конференції. (С.125). К..
9. Голобородько, К.К., Пахомов, О.Є., **Селютіна, О.В.** (2015). Моніторингові дослідження небезпечних для лісового господарства лускокрилих в умовах штучних деревних насаджень Дніпропетровської області. *Відновлення біотичного потенціалу агроєкосистем*: Матеріали II Міжнародної конференції (С. 129-132.). Дніпропетровськ: Арбуз.
10. Holoborodko, K.K., **Seliutina, O.V.**, Loza, I.M. (2015). Quarantine species of Lepidoptera in steppe zone of Ukraine: *VI International Scientific Agricultural Symposium "Agrosym 2015"*. (330). Jahorina (Bosnia and Herzegovina).
11. Голобородько, К.К., Пахомов, А.Е., Бучнева, К.С., **Селютіна, А.В.**, Махіна, В.О. (2015). Современные тренды угроз биоразнообразию зональным экосистемам Степной зоны Украины: *Матеріали міжнародної юбилейної конференції, посвященної 80-летию основания Ереванского ботанического сада*. (С.26-29). Ереван: Інститут ботаніки НАН РА.
12. **Селютіна, О.В.**, Голобородько, К.К. (2016). Фенологічні особливості популяції *Cameraria ohridella* (Deschka & Dimic, 1986) у м. Дніпропетровськ. *Рослини та урбанізація*: Матеріали п'ятої Міжнародної науково-практичної конференції „Рослини та урбанізація” (С. 148.), Дніпропетровськ.
13. Голобородько, К.К., **Селютіна, О.В.**, Мак, Ю.І., Ляховченко, Б.Б. (2017). Розробка та впровадження сучасної системи фітосанітарного моніторингу полезахисних лісосмуг Дніпропетровської області. *Рослини та урбанізація*: Матеріали шостої Міжнародної науково-практичної конференції „Рослини та урбанізація” (С. 147–149.), Дніпро.
14. Голобородько, К.К., **Селютіна, О.В.**, Злобін С.В. (2018). Моніторинг небезпечних для лісового господарства видів лускокрилих у природному заповіднику «Дніпровсько-Орільський». *Рослини та урбанізація*: Матеріали сьомої Міжнародної науково-практичної конференції „Рослини та урбанізація” (С. 125-126). Дніпро.
15. Holoborodko, K.K., Rusinov, V.S., **Seliutina, O.V.**, Aliev T.M. (2019). Complex of invasive leafminer moths (*Gracillariidae* Stainton, 1854) in fauna of the botanical garden of Oles Honchar Dnipro National University. *Рослини та урбанізація*: Матеріали восьмої Міжнародної науково-практичної конференції „Рослини та урбанізація” (С. 153). Дніпро.
16. Nedzvetsky, V., Gasso, V., Holoborodko, K., Loza, I., **Seliutina, O.**, Gasso, I., Yermolenko, S., Hagut, A. (2019). Innovative Approach to Biomonitoring of Toxic Loading on Animals in Native and Artificial Ecosystems. *3RD International Conference „Smart Bio“* (p. 288). Kaunas: Vytautas Magnus University.
17. Голобородько, К.К., Крайник, Ю.М., Махіна, В.О., **Селютіна, О.В.** (2019). Інвазійні лускокрилі у фауні НПП «Великий Луг». *Біорізноманіття та роль*

*тварин в екосистемах*: Матеріали X Міжнародної наукової конференції. (С. 45) Дніпро: Ліра.

18. Голобородько, К.К., Селютіна, О.В., Шупранова, Л.В., Пахомов, О.Є. (2020) Вплив трофічної активності *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić на активність пероксидази листя *Aesculus hippocastanum* L. у зелених зонах м. Дніпро. *Рослини та урбанізація*: Матеріали дев'ятої Міжнародної науково-практичної конференції „Рослини та урбанізація” (С. 157–159). Дніпро.

## АНОТАЦІЯ

**Селютіна О.В. Біо-екологічні особливості каштанового мінера (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986) у степовій зоні України. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.16 «Екологія». – Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, 2021.

У дисертації розглянуто особливості заселення *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera, Gracillariidae*, 1854) різних паркових урбоекосистем (на прикладі м. Дніпро). Дослідження показують достовірну залежність ступеня ушкодження листкової пластинки від висоти над рівнем моря на якій знаходиться паркова урбоекосистема. Чим вище за рельєфом розташовані насадження гіркокаштану звичайного, тим більший відсоток їх заселення, причому така тенденція спостерігалась всі три літні місяці. Найнижчий показник в парку Мануйлівському, де насадження гіркокаштану розташовані на позначці 56 м над рівнем моря, середнє заселення листків у серпні становить 14%, у цей же місяць у Ботанічному саду ДНУ (149 м) рівень заселення становив 78%. Виявлено залежність між кількістю мін та концентрацією важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd) у різних паркових урбоекосистемах. У паркових зонах із найбільшою концентрацією важких металів у тканинах *Aesculus hippocastanum* L. виявилась і найбільша кількість мін на листку. Максимальні значення кількості мін на окремих листках *A. hippocastanum* сягали 450–465 шт. Проаналізовано динаміку пошкодження листя, вміст легкорозчинних білків, активність пероксидаз та склад кислих ізоформ ферментів в листі *A. hippocastanum* за впливу *C. ohridella*. Руйнування листя мінером у відносно стійких дерев гіркокаштану звичайного підвищувалось протягом липня-серпня до 13,3%, тоді як у нестійких – до 97,5%. У липні знайдено максимальну кількість білків у листі *A. hippocastanum*, яка суттєво знижувалась у серпні і корелювала з рівнем пошкодження листя *C. ohridella*. Листя гіркокаштану звичайного відрізнялось підвищеною активністю цитоплазматичної пероксидази більш ніж у два рази за високого рівня ураження листя фітофагом. Ці спостереження вказують на те, що ушкодження листя *C. ohridella* викликає окиснювальний стрес, який призводить до активації ферменту. Ізоферментний склад бензидин-пероксидази характеризувався невеликою гетерогенністю (4–6 ізоформ), але в різних групах дерев гіркокаштану звичайного ураженого *C. ohridella* спостерігалась висока варіабельність щодо відносного вмісту окремих лізоформ. У більшості груп насаджень, домінантною ізоформою є ізопероксидаза з рІ 4,25, найбільша питома вага якої представлена у

групи дерев гіркокаштану звичайного з низьким рівнем пошкодження листків *C. ohridella* і складає в середньому 40,5%. У насадженнях із середнім і високим рівнем ураженості листків каштановим мінером значення цього параметру коливаються від 30,6 до 37,5%. Високий відносний вміст зареєстровано для молекулярної форми бензидин-пероксидази 4,42, що для низького рівня пошкодження *C. ohridella* становило 17,1–24,5%, для середнього – 20,3–23,3% і для високого рівня пошкодження листків *A. hippocastanum* – 21,0–26,1%. В листі дерев *A. hippocastanum* з високим рівнем пошкодження мінером суттєво активується експресія ізоформ ферменту в діапазоні рН 4,08–4,15, що може розглядатися як надійний біохімічний маркер чутливості рослин *A. hippocastanum* до нападу фітофага *C. ohridella*. Динаміка активності ферменту при переході від липня до серпня, як на ділянках контрольної зони, так і в зонах з високим рівнем ураження листків гіркокаштану звичайного *C. ohridella*, була спрямована в бік підвищеної активності. Ця закономірність поряд із підвищенням тривалості дії *C. ohridella* може бути формою захисту, завдяки якій рослини знижують окиснювальне навантаження, викликане активними формами кисню, які утворюються за стресових умов. Установлена нами висока загальна активність пероксидази, а також активні перебудови в спектрі пероксидазної системи, очевидно, сприяють підтриманню функціональної цілісності фотосинтетичної системи листя *A. hippocastanum* за впливу *C. ohridella* шляхом нейтралізації активних форм кисню.

**Ключові слова:** степова зона України, *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae, 1854), *Aesculus hippocastanum* L., легкокорозинні білки рослин, спектр пероксидазної системи рослин, вплив на онтогенез рослин.

## АННОТАЦІЯ

**Селютіна О. В. Био-экологические особенности каштанового минера (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986) в степной зоне Украины. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.16 «Экология». – Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Днепр, 2021.

В диссертации рассмотрены особенности заселения *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae, 1854) различных парковых урбоэкосистем (на примере г. Днепр). Исследования показывают достоверную зависимость степени повреждения листовой пластинки от высоты над уровнем моря, на которой находится парковая урбоэкосистема. Обнаружена зависимость между количеством мин и концентрацией тяжелых металлов (Zn, Cu, Pb, Cd) в различных парковых урбоэкосистемах. В парковых зонах с наибольшей концентрацией тяжелых металлов в тканях *Aesculus hippocastanum* L. оказалось и большое количество мин на листке. Максимальные значения количества мин на отдельных листках *A. hippocastanum* достигали 450–465 шт. Проанализирована динамика повреждения листьев, содержание легкорастворимых белков, активность пероксидаз и состав кислых изоформ ферментов в листьях *A. hippocastanum* при воздействии *C. ohridella*. Разрушение листьев минером относительно устойчивых деревьев

каштана конского повышалось в течение июля-августа до 13,3%, тогда как в неустойчивых – к 97,5%. В июле обнаружено максимальное количество белков в листьях *A. hippocastanum*, которое существенно снижалось в августе и коррелировало с уровнем повреждения листьев *C. ohridella*. Листья каштана конского отличались повышенной активностью цитоплазматической пероксидазы более, чем в два раза при высоком уровне поражения листьев фитофагов. Эти наблюдения указывают на то, что повреждение листьев *C. ohridella* вызывает окислительный стресс, который приводит к активации ферментов. В листьях деревьев *A. hippocastanum* с высоким уровнем повреждения минером существенно активируется экспрессия изоформ ферментов в диапазоне pH 4,08–4,15, что можно рассматривать как надежный биохимический маркер чувствительности растений *A. hippocastanum* к заселению *C. ohridella*. Установленная нами высокая общая активность пероксидазы, а также активные перестройки в спектре пероксидазной системы, очевидно, способствуют поддержанию функциональной целостности фотосинтетической системы листьев *A. hippocastanum* при влиянии *C. ohridella* путем нейтрализации активных форм кислорода.

**Ключевые слова:** степная зона Украины, *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae, 1854), *Aesculus hippocastanum* L., легкорастворимые белки растений, спектр пероксидазной системы растений, влияние на онтогенез растений.

## ANNOTATION

**Selyutina O. V. Bio-ecological features of the horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986) in the steppe zone of Ukraine.** – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of biological sciences, specialty 03.00.16 "Ecology". – Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, 2021.

In the dissertation work, the features of *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae, 1854) invasion were studied in various park urban ecosystems (on the example of Dnipro city). The study shows a reliable dependence of the degree of leaf blade damage on height above sea level at which the park urban ecosystem is located. Dependence between number of leaf mines and concentration of heavy metals (Zn, Cu, Pb, Cd) in various park urban ecosystems was found. In the park areas that have the highest heavy metal concentration in *Aesculus hippocastanum* L. tissues, there was also a large number of mines on the leaf blade. Maximum values of the mine number on individual leaves of *A. hippocastanum* reached 450–465. Leaf damage dynamics, content of high soluble proteins, activity of peroxidases and composition of acidic isoforms of enzymes in the leaves of *A. hippocastanum* were analyzed on exposure to *C. ohridella*. Destruction of leaves on relatively stable horse chestnut trees caused by the miner increased during July–August to 13.3%, while in unstable trees this value reached 97.5%. In July, maximum amount of proteins in the leaves of *A. hippocastanum* was found, this value significantly decreased in August and correlated with the level of leaf damage caused by *C. ohridella*. The damaged horse chestnut leaves were characterized by increased cytoplasmic peroxidase activity more than twice when a level of leaf damage by phytophage was high. These findings indicate that damage of the leaves by *C. ohridella* resulted in oxidative



stress which leads to enzyme activation. In the leaves of *A. hippocastanum* trees having high-level damage by the miner, expression of the enzyme isoforms is significantly activated within the pH range of 4.08–4.15, which can be considered as a reliable biochemical marker of *A. hippocastanum* plants sensitivity to the phytophage *C. ohridella* attack. High total activity of peroxidase established by us, as well as the active rearrangements in the spectrum of peroxidase system obviously contribute to the maintenance of functional integrity of the photosynthetic system in leaves *A. hippocastanum* under *C. ohridella* influence through the neutralizing of reactive oxygen species.

**Keywords:** steppe zone of Ukraine, *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera*, *Gracillariidae*, 1854), *Aesculus hippocastanum* L., high soluble plant proteins, spectrum of plant peroxidase system, influence on plant ontogenesis.

Підписано до друку \_\_.03.2021  
Формат 60×90 1/16. Папір офсетний.  
Умовн. друк. арк. 1. Зам. № \_\_\_\_. Тираж 100 прим.

Друкарня ПП «Ліра ЛТД»,  
49107, м. Дніпро, вул. Наукова, 5