

Міністерство освіти і науки України  
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

СЕЛЮТІНА ОКСАНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 591.5:595.782

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

03.00.16 – екологія

Біологічні науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ О. В. Селютіна

Науковий керівник: Голобородько Кирило Костянтинович,  
кандидат біологічних наук, доцент

Дніпро – 2021

## АНОТАЦІЯ

Селютіна О.В. Біо-екологічні особливості каштанового мінера (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 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 гіркогоштанна звичайного, тим більший відсоток їх заселення, причому така тенденція спостерігалась всі три літні місяці. Найнижчий показник в парку Мануйлівському, де насадження гіркогоштанна 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*. Руїнування листя мінером у відносно стійких дерев гіркогоштанна 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 гіркокаштана 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. 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 гіркокаштана 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 гіркокаштана 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 фітофагом (9,5→18,0%).

Ізоферментний склад бензидин-пероксидази характеризувався невеликою гетерогенністю (4–6 ізоформ), але в різних групах дерев гіркокаштана звичайного, ураженого *C. ohridella* спостерігалась висока варіабельність щодо відносного вмісту окремих лізоформ. У більшості груп насаджень домінантною ізоформою є ізопероксидаза з  $pI$  4,25, найбільша питома вага якої представлена у групи дерев гіркокаштана 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 гіркогоаштана 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.

Не виключається вплив урбогенного середовища на метаболізм ферментів-антиоксидантів асимілюючих органів дерев *A. hippocastanum*, що потребує подальших досліджень сумісної дії несприятливих для рослин гіркогоаштана звичайного абіотичних і біотичних факторів середовища.

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

## АННОТАЦИЯ

Селютин 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. Чем выше по рельефу расположены насаждения каштана обыкновенного, тем больший процент их заселения, причем такая тенденция наблюдалась все три летних месяца. Самый низкий показатель в парке Мануйловский, где насаждения каштана конского расположены на отметке 56 м над уровнем моря, среднее заселение листьев в августе составляет 14%, в этот же месяц в Ботаническом саду ДНУ (149 м) уровень заселения составлял 78%. 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. Было определено широкую амплитуду изменчивости активности ферментов по степени поражения листьев *C. ohridella*, особенно – бензидин-пероксидазы. Наибольшую изменчивость значений активности бензидин-пероксидазы обнаружены в образцах листьев каштана конского при среднем поражении минером. Наименьшие показатели коэффициента вариации зарегистрированы для активности гваякол-пероксидазы при высоком, а для каталазы – при низком уровне повреждения листьев фитофагом. При изучении активности гваякол-пероксидазы в гомогенатах листьев каштана конского найдено постепенное снижение вариабельности параметров активности от 16,9 до 8,4% (коэффициента вариации) от малого до высокого поражения листьев минером. В то время, как у каталазы наоборот – рост вариабельности от малой к большой степени повреждения листьев фитофагов 9,5 → 18,0%.

Изоферментный состав бензидин-пероксидазы характеризовался небольшой гетерогенностью (4-6 изоформ), но в разных группах деревьев каштана конского обыкновенного пораженного *C. ohridella* наблюдалась высокая вариабельность по относительному содержанию отдельных лизоформ. В большинстве групп насаждений доминантной изоформой является изопероксидаза с  $pI$  4,25, наибольший удельный вес которой представлен в группе деревьев каштана обыкновенного с низким уровнем повреждения листьев *C. ohridella* и составляет, в среднем, 40,5%. В

насаждениях со средним и высоким уровнем поражения листьев каштановым минером значение этого параметра колеблется от 30,6 до 37,5%. Высокое относительное содержание зарегистрировано для молекулярной формы бензидин-пероксидазы 4,42, что для низкого уровня повреждения *C. ohridella* составило 17,1-24,5%, для среднего – 20,3-23,3% и для высокого уровня повреждения листьев *A. hippocastanum* – 21,0-26,1%.

В листьях деревьев *A. hippocastanum* с высоким уровнем повреждения минером существенно активируется экспрессия изоформ ферментов в диапазоне рН 4,08-4,15, что можно рассматривать как надежный биохимический маркер чувствительности растений *A. hippocastanum* к заселению *C. ohridella*. Динамика активности фермента при переходе с июля к августу, как на участках контрольной зоны, так и в зонах с высоким уровнем поражения листьев каштана конского обыкновенного *C. ohridella*, была направлена в сторону повышенной активности. Эта закономерность наряду с повышением продолжительности действия *C. ohridella* может быть формой защиты, благодаря которой растения снижают окислительные нагрузки, вызванные активными формами кислорода, которые образуются во время стрессовых условий.

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.

Не исключается влияние урбогенной среды на метаболизм ферментов-антиоксидантов ассимилирующих органов деревьев *A. hippocastanum*, что требует дальнейших исследований совместного действия неблагоприятных для растений каштана обыкновенного абиотических и биотических факторов среды.

**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.

#### 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 (**Web of Science, Scopus**) (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 молі-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., Алексеєва, А.А., Селютіна, О.В., Горбань, В.А. (2020). Оцінка впливу каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimič, 1986) на процеси фотосинтезу гіркокаштана 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 (*Cameralia 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., Махина, В.О. (2015). Современные тренды угроз биоразнообразию зональным экосистемам Степной зоны Украины: *Матеріали міжнародної ювілейної конференції, посвященної 80-летию основания Ереванского ботанического сада*. (С.26-29). Ереван: Институт ботаніки НАН РА.
12. Селютіна, О.В., Голобородько, К.К. (2016). Фенологічні особливості популяції *Cameralia 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., Nagut, 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.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	15
РОЗДІЛ 1. ДОСВІД ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ <i>CAMERARIA OHRIDELLA</i> DESCHKA ET DIMIĆ, 1986 НА ОНТОГЕНЕЗ КОРМОВИХ РОСЛИН .....	22
1.1. Досвід дослідження біолого-екологічних особливостей <i>C. ohridella</i> у новому ареалі .....	22
1.2. Досвід дослідження впливу <i>C. ohridella</i> на онтогенез <i>A. hippocastanum</i> .....	32
1.3. Досвід дослідження механізмів адаптації та стійкості <i>A. hippocastanum</i> до впливу <i>C. ohridella</i> .....	38
РОЗДІЛ 2. ФІЗИКО-ГЕОГРАФІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТЕПОВОЇ ЗОНИ УКРАЇНИ .....	49
2.1. Географічне положення степової зони України .....	49
2.2. Рельєф та геоморфологічні особливості степової зони України.....	51
2.3. Ґрунти степової зони України.....	54
2.4. Клімат та гідрологія степової зони України .....	58
2.5. Флора степової зони України .....	62
2.6. Фауна степової зони України .....	65
РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	67
3.1. Методика проведення польових досліджень.....	67
3.2. Метод визначення вмісту важких металів .....	73
3.3. Методи дослідження впливу <i>C. ohridella</i> на біохімічні процеси листків <i>A. hippocastanum</i> .....	75
3.4. Статистична обробка даних .....	78
РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ ЗАСЕЛЕННЯ <i>C. OHRIDELLA</i> РІЗНИХ ТИПІВ ПАРКОВИХ УРБОЕКОСИСТЕМ В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОЇ АГЛОМЕРАЦІЇ (НА ПРИКЛАДІ М. ДНІПРО) .....	79

4.1.	Оцінка ступеня пошкодження листкової поверхні <i>A. hippocastanum</i> протягом вегетаційного сезону .....	81
4.2.	Оцінка кількості мін <i>C. ohridella</i> у різних паркових урбоекосистемах .....	92
РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ <i>C. OHRIDELLA</i> НА ВМІСТ РОЗЧИННИХ БІЛКІВ В АСИМІЛЮЮЧИХ ОРГАНАХ <i>A. HIPPOCASTANUM</i> .....		98
РОЗДІЛ 6. ВПЛИВ <i>C. OHRIDELLA</i> НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ АСИМІЛЮЮЧИХ ОРГАНІВ <i>A. HIPPOCASTANUM</i> .....		106
6.1.	Особливості реакції пероксидазної системи <i>A. hippocastanum</i> на живлення гусені <i>C. ohridella</i> .....	107
6.2.	Вплив живлення гусені <i>C. ohridella</i> на ізоферментний склад бензидин-пероксидази .....	114
ВИСНОВКИ.....		127
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....		129
ДОДАТОК А.....		161

## ВСТУП

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-Dragosavac, 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 він є основною кормовою рослиною. Наслідком такого впливу є сильне пошкодження листя і передчасна дефоліація, які негативно позначаються на накопиченні резервів поживних речовин необхідних для підтримки життєдіяльності рослин узимку і відновлення росту навесні (Зерова и др., 2007). Рівень пошкодження гусінню *C. ohridella* листових пластинок гіркокаштана в умовах зелених насаджень міст сягає від 3,0 до 84,5% (Зерова и др., 2007).

Каштановий мінер поширюється територією різними шляхами. Поширенню *C. ohridella* по території сприяють повітряні потоки, що переносять дрібних метеликів від вогнищ масового розмноження (Pscorn-Walcher, 1997; Гниненко и др., 2003). Також мінер поширюється й іншими шляхами: з рослинним посадковим матеріалом, птахами, автомобільним

транспорт (трейлерами з вантажем, контейнерами, тарою, багажем по залізницях), повітряним, морським і річковим транспортом, як свого часу поширювалася американський білий метелик і колорадський жук (Евдошенко и др., 2012; Аникин и др., 2019; Мартинова, 2019).

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 сьогodнішній 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).

Відомі спроби контролю над розповсюдженням мінера (Kuldová et al., 2007; Sukatova et al., 2011), які, на жаль, виявились недостатньо ефективними (Pavan et al., 2003). Експерименти на фізичних та механічних методах захисту гіркокаштана від ураження *C. ohridella* передбачали збори опалого листа і подрібнення його для знищення зимуючих лялечок (Balder et al., 2003) або компостування підстилки з листа *A. hippocastanum* (Kehrli, Bacher, 2004). Хімічний метод передбачав системне використання інсектицидів (Jäckel, Balder, 2003), біологічні методи з використанням грибів, нематод (Hendrich et al., 2004) та паразитів (Kenis et al., 2005), також використовуючи статеві феромони.

Найбільш ефективним виявився хімічний метод (Augustin, 2005), але для цього дуже важливо встановити правильний момент для застосування інсектициду. Визначення стадії гусені має велике значення у виборі



інсектицидів, що застосовуються проти *C. ohridella*, оскільки вони є ефективними лише для гусеней першого та другого віку.

Тому в останні роки розглядається альтернативний підхід до контролю за розмноженням каштанового мінера (Rämert et al., 2005; Steele et al., 2010) із застосуванням грибкових збудників – ентомопатогенних грибів (Schemmer et al., 2016; Barta, 2018) та природних паразитоїдів. В ряді країн Європи, де *C. ohridella* з'явився раніше, виявлено досить значне число паразитоїдів (26 видів) фітофага (Thuróczy et al., 2002). Але всі ці паразитоїди не є специфічними для даного фітофага і пов'язані, здебільшого, з іншими представниками цього ж сімейства.

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 гіркокаштана 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.

Одну з основних причин накопичення пероксиду водню в рослинних тканинах за впливу стресорів розглядають інгібування каталази (Chen et al., 1993). Зниження каталази – не єдина можлива причина підвищення вмісту пероксиду водню в рослинних тканинах. Такий ефект, зокрема, може бути

наслідком підвищеної активності супероксиддисмутази. Даний фермент, який каталізує перетворення супероксидного радикалу в пероксид водню, може сприяти накопиченню останнього, особливо на тлі інгібування каталази (Колупаєв, 2007).

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 важливе для розуміння як особливостей екології живлення комах-фітофагів, так і в плані захисту рослин від їх нападу.

Активність гваякол-пероксидази (Singh et al., 2013) може бути пов'язана з тим, що вона бере участь у процесах лігніфікації, суберинізації, ауксиновому катаболізмі, заживленні поранень і захисті від патогенної інфекції (Taiz, Zeiger, 1991), що асоціюється із системною стійкістю рослин (Hammerschmidt et al., 1982; Golubenko et al., 2007). Вважають, що активація ферментів-антиоксидантів у відповідь на дію інсектів (Sánchez-Sánchez et al., 2017) є одним з ключових процесів у формуванні і розвитку захисних реакцій у рослинних клітинах (Gastaldo, 1994; Dowd et al., 1999).

Системне дослідження механізмів адаптації і стійких форм *A. hippocastanum* проти *C. ohridella* з урахуванням біологічних ознак створить матеріально-інформаційну базу для розроблення способів ранньої діагностики якості посадкового і селекційного матеріалу (Sediva et al., 2013). А виявлення рослин-донорів з метою масового мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* (Чеченєва та ін., 2010) та забезпечення умов щодо інтенсифікації озеленення мегаполісів України (Григорюк та ін., 2017).

**Мета дисертаційної роботи** – встановити екологічні особливості популяцій 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 гіркогокаштана звичайного;
- 4) визначити активність та ізоферментний склад бензидин-пероксидази, активність гваякол-пероксидази і каталази за умов механічного пошкодження листа гусінню *C. ohridella*;
- 5) виявити особливості біохімічної адаптації гіркогокаштана звичайного до живлення гусені *C. ohridella* різних генерацій.

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

*Предмет досліджень* – екологічні особливості впливу каштанового мінера (*C. ohridella*) на онтогенез гіркогокаштана 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 урбоекосистем;

– 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 листя 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 гіркокаштана 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 опору гіркокаштана 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, зібрала 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 агроecosystem» (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.

# РОЗДІЛ 1. ДОСВІД ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ *CAMERARIA OHRIDELLA* DESCHKA ET DIMIĆ, 1986 НА ОНТОГЕНЕЗ КОРМОВИХ РОСЛИН

## 1.1 Досвід дослідження біолого-екологічних особливостей *C. ohridella* у новому ареалі

Каштановий мінер – *Cameraria ohridella* Deschka et Dimić, 1986 (*Lepidoptera, Gracillaridae*) – новий чужорідний інвазійний вид для України, для якого характерна наявність достатньої кормової бази, відсутність природних ворогів й висока швидкість розселення ареалу. Належить до ряду лускокрилих *Lepidoptera*, до підряду *Microlepidoptera*, родини молей-строкаток *Gracellaridae* (Кузнецов, 1981), роду *Cameraria*. Він пошкоджує рослину гіркокаштан звичайний – *Aesculus hippocastanum* (*Sapindales, Sapindaceae*) (Акимов и др., 2003; Бадобич, 2003; Антюхова, 2009). Ушкодження мінером призводять до зменшення фотосинтетичної поверхні листка рослини, до зміни його кольору, висихання та передчасної часткової або повної дефоліації листя гіркокаштаном (Гниненко и др., 2003; Григорюк та ін., 2004; Левон, 2008; Гаманова, 2011).

Каштановий мінер вперше був виявлений у 1984 році в Македонії поблизу околиць озера Охрид (Simova-Tosic, Filev, 1985). Надалі, як новий вид він був описаний Г. Дечко і Н. Діміч в 1986 році (Deschka, Dimić, 1986). Однак чи був *C. ohridella* новим видом для природи, чи він і раніше мешкав в цьому районі, але перебував на низькому кількісному рівні і тому не був помічений, поки не почав давати спалахи чисельності, з'ясувати так і не вдалось (Deschka, Dimić, 1986; Голосова и др., 2008). Не виключають також можливості, що каштановий мінер існував у природі, як рідкісний вид та мешкав у віддалених районах країн з природними лісами кінського каштана і був випадково занесений в район поблизу Охридського озера (Simova-

Tosic, Filev, 1985). У таких країнах, як Іран, Туреччина та Індія, де природні ліси каштана ростуть на значних територіях, *C. ohridella* не згадується (Акимов и др., 2003; Гниненко и др., 2004). Можна припустити, що мінер був завезений в Македонію з Китаю або Північної Америки, де росте близько 15 видів каштана. Експансія *C. ohridella* в даний час отримала загальноєвропейський масштаб.

Протягом декількох років мінер проник на території сусідніх країн: у 1993 році в Угорщину (Szaboky et al., 1997), Словаччину (Milevoj, Masek, 1997) і Чехію (Safrankova, 1996; Skuhravy, 1998), а в 1994 – до Німеччини (Kraus, 1996). У 1998 році *C. ohridella* було виявлено в Нідерландах (Stigter et al., 2000; Nieukerken, 2001) та Греції (Skuhravy, 2003; Nikolaos et al., 2006), а в 1999 році – в Бельгії (Prins, Puplesi'ene, 2001), Боснії (Dautbasic, Dimić, 1999), у 2002 році у Франції (Guichard et al., 2002) та Великобританії (Tilbury et al., 2004; Straw et al., 2006), а 2005 в Італії (Lupi, 2005). Швидкість поширення *C. ohridella* в країнах Європи дуже велика. Експансія територією континенту відбувалася в перші роки зі швидкістю 50-70 км на годину, а в наступні – до 100 км. 1998 рік можна вважати найбільш імовірним періодом проникнення каштанового мінера в Україну, експансія відбулася з Угорщини. (Акимов и др., 2003; Нерольский и др., 2004; Белоусов, 2007) Ідентифіковано *C. ohridella* було в 2002 році. До цього часу мінер вже досить суттєво поширився в західному регіоні країни в таких областях: Закарпатська, Івано-Франківська, Львівська, Житомирська області, де вже сформувалися осередки з високою чисельністю фітофага (Акимов и др., 2003; Гниненко и др., 2004; Зерова и др., 2007; Нікітенко та ін., 2007; Гугля, Зиненко, 2008). *C. ohridella* продовжує швидке розповсюдження на *A. hippocastanum*, він вже зафіксований у 40 країнах Євразії і в даний час почав освоювати азіатську частину Туреччини. У 2016 році його ареал поширився на майже всю Україну. Така ж ситуація має місце й у країн-сусідів Білорусі (Сауткін и др., 2012; Рогинский и др., 2014, 2015), Російській Федерації (Голосова и др., 2003, 2006, 2008; Селиховкин и др.,

2016; Аникин и др., 2019), Литві, Польщі (Dzięgielewska, Kaup, 2007; Jaworski, 2009; Евдошенко и др., 2012; Мартинова, 2019).

Каштановий мінер поширюється територією різними шляхами. Поширенню *C. ohridella* територією сприяють повітряні потоки, що переносять дрібних метеликів від вогнищ масового розмноження (Pscorn-Walcher, 1997; Гниненко и др., 2003). Також мінер поширюється й іншими шляхами: з рослинним посадковим матеріалом, птахами, автомобільним транспортом (трейлерами з вантажем, контейнерами, тарою, багажем по залізницях), повітряним, морським і річковим транспортом, як свого часу поширювалися американський білий метелик і колорадський жук (Евдошенко и др., 2012; Аникин и др., 2019; Мартинова, 2019). Часто можна спостерігати перевезення посадкового матеріалу *A. hippocastanum* у відкритих кузовах машин. Рослини гіркокаштана для об'єктів озеленення закупаються за кордоном, саме в тих країнах, де має місце масове розмноження каштанового мінера (Польща, Німеччина та ін.) (Гугля, Зиненко, 2008). Навіть осінньо-зимове перевезення рослин без листя можуть бути джерелом появи *C. ohridella* в нових місцях, так як імаго мінера зимує в тріщинах кори на стовбурах дерев *A. hippocastanum*. Імаго *C. ohridella* можуть бути перевезені не тільки з каштаном, а й з іншими рослинами, на яких вони можуть випадково оселятися для зимівлі. А в період масового льоту імаго можуть виявитися на будь-яких рослинах і транспортних засобах (Гниненко и др., 2003; Голосова и др., 2008).

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. На основі аналізу 12 ензимів (естераза, амілаза, малатдегідрогеназа, аспартатамінотрансфераза, кисла і основна фосфатази, лейцин амінопептидаза, пероксидаза, ізоцитратдегідрогеназа, алкогольдегідрогеназа, октанолдегідрогеназа) із 7 популяцій *C. ohridella*, зібраних у різних місцях Центральної Європи (Австрія) (Šefrova, Lastuvka,



2001), виявили, що Європейська популяція каштанового мінера гіркокаштана звичайного є генетично гомогенною (Ляшенко та ін., 2005; Рогожин, 2004).

На основі RAPD-PCR аналізу і секвенування mtDNA показано, що Європейські популяції мають загального предка (Valade et al., 2009), а генетичне різноманіття виду найбільше в місцях його початкового виявлення (Lees et al., 2011). Звідти за невідомою причиною почав розповсюджуватися один його гаплотип, який і сформував сьогоденній обширний ареал виду (Weryszko-Chmielewska, Naratym, 2011; Štajner et al., 2014).

Цей фітофаг занесений до числа 100 найгірших 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; Barta, 2018; Kenis et al., 2007; Голобородько та ін, 2009, 2016; Stygar et al., 2010). Відомі спроби контролю над розповсюдженням мінера (Kuldová et al., 2007; Sukatova et al., 2011), які, на жаль, виявились недостатньо ефективними (Pavan et al., 2003). Експерименти на фізичних та механічних методах захисту гіркокаштана від ураження *C. ohridella* передбачали збори опалого листа і подрібнення його для знищення зимуючих лялечок (Balder et al., 2003) або компостування підстилки з листа *A. hippocastanum* (Kehrli, Bacher, 2004).

Хімічний метод передбачав системне використання інсектицидів (Jäckel, Balder, 2003), біологічні методи з використанням грибів, нематод (Hendrich et al., 2004) та паразитів (Kenis et al., 2005), також використовуючи статеві феромони. Найбільш ефективним виявився хімічний метод (Augustin, 2005), але для цього дуже важливо встановити правильний момент для застосування інсектициду. Визначення стадії гусені має велике значення у виборі інсектицидів, що застосовуються проти *C. ohridella*, оскільки вони є ефективними лише для гусеней першого та другого віку.

Тому в останні роки розглядається альтернативний підхід до контролю за розмноженням каштанового мінера (Rämert et al., 2005; Steele et al., 2010) із застосуванням грибкових збудників – ентомопатогенних грибів (Schemmer et al., 2016; Barta, 2018) та природних паразитоїдів. В ряді країн Європи, де *C. ohridella* з'явився раніше, виявлено досить значну кількість паразитоїдів (26 видів) фітофага (Thuroczy et al., 2002). Але всі ці паразитоїди не є специфічними для даного фітофага і пов'язані, здебільшого, з іншими представниками цього ж сімейства.

Проникнення каштанового мінера в нові регіони призводить до того, що в них відсутні паразитичні ентомофаги, здатні його ефективно стримувати (Schemmer et al., 2016). Спеціальні дослідження показали, що I і II покоління *C. ohridella* виявилися зараженими паразитоїдами тільки на 0,2%, III – на 3,2%, IV – на 7,1% (Kuldova, 2007; Steele et al., 2010). Роль кожного з виявлених паразитоїдів в динаміці численості мінера вивчена не достатньо. Також залишається не ясною і можливість їх використання як ефективних агентів для біологічного захисту гіркокаштана від пошкоджень (Голосова и др., 2008), що наносять насадженням дерев гусені *C. ohridella*. Стійкість до низьких температур та низька активність паразитоїдів сприяють швидкому поширенню фітофага.

Біологічні інвазії чужорідних видів на міських об'єктах озеленення можна віднести до екологічних катастроф. Проникнувши на нову територію зі сприятливими умовами, такі види, за відсутності природних ворогів (ентомофагів), швидко збільшують свою чисельність і безперешкодно поширюються міськими насадженнями (Percival et al., 2011). У цілому, для захисту дерев *Aesculus Linnaeus*, 1753 від *C. ohridella* в Європі виділяються значні кошти (Reinhardt et al., 2003; War et al., 2018).

На більшій частині свого інвазійного ареалу каштановий мінер характеризується популяційною щільністю (Рогинский и др., 2014; Журавлёва, 2014; Аникин и др., 2019). Це обумовлює статус не тільки

фонового, а й масового виду, що пов'язане з високим рівнем пошкодження кормових рослин (Szaboky et al., 1997; Augustin et al., 2008; Трибель та ін., 2009). Популяції мінера з Балкан і Центральної Європи, в основному, продукують три генерації протягом одного сезону (Đimić et al., 1986; Augustin et al., 2004). У Центральній Європі імаго першої генерації з'являється в травні, друга – в червні і третя – у вересні (Pschorn-Walcher, 1994; Straw et al., 2004). Імаго першої генерації активний близько одного місяця, що синхронізовано із цвітінням гіркокаштана звичайного (Đimić et al., 1986). В Європі каштановий мінер може розвиватися в III-V генераціях з експоненціальним збільшенням чисельності від генерації до генерації (Skuhrahy et al., 1998; Behmer, 2009).

В умовах міста Дніпро (Голобородько та ін., 2009) щорічно реєструється розвиток 4 генерацій. Вихід імаго першої спостерігається в останній декаді квітня, останньої генерації – наприкінці жовтня – на початку листопада. Термін розвитку окремої генерації в умовах міста Дніпро триває від 65 до 110 діб. Це призводить до неконтрольованої інвазії, що проявляється в ураженні більш ніж 70-80% асимілятивної поверхні листової пластинки гіркокаштана звичайного. Продовження такої інвазії протягом 3-4 років знесилюють дерева *A. hippocastanum* та приводять до його загибелі (Holoborodko et al., 2016).

Перші дослідження біології й екології *C. ohridella* були ініційовані в 1994 році в Австрії (Pschorn-Walcher, 1994). Імаго каштанового мінера – самки, що не відклали яйця, погано літають і тримаються в межах крони одного дерева (Акимов и др., 2006; Гниненко и др., 2011). Самиці каштанового мінера відкладають яйця 0,2–0,4 мм на верхній частині листка вздовж жилки (De Prins et al., 2003; Кузьминская и др., 2016). Продуктивність розвитку каштанового мінера 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 гіркокаштана звичайного

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). Мікrokліматичні відмінності між біотопами, а також всередині біотопу суттєво впливають на тривалість фаз сезонного розвитку генерації каштанового мінера, особливо в межах урбанізованих ландшафтів (Бащенко та ін., 2019; Кузнецов и др., 2020).

Імаго *C. ohridella* невеликого розміру, довжина тіла становить 4,5-7,1 мм, а розмах крил – 6-7,5 мм. Тіло зверху покрите металевоблискучими лусочками, а голова червона. Вусики тонкі, довгі, з короткими сегментами, ниткоподібні (Акимов и др., 2006; Рогинский и др., 2017). Останні сегменти досягають кінця лускатих крил. Губні щупики тонкі, загнуті доверху, щелепні щупики слабозвинені, хоботок тонкий. Грудна частина мінера сіро-земляного кольору. Передні крила ланцетоподібні, строкаті, бурохристі, вершина безладно всипана чорнуватими лусочками, апікальна точка відсутня (Зерова и др., 2007). Поперек крил вигнуті білі базальні лінії, які з зовнішнього боку тонко оточені чорною смужкою, задні крила вохристо-сірі з сріблястим відливом, без малюнка. По периметру крил довга білувато-сіра бахрома. Ноги білуваті, на них розташовані чорні плямки (Гниненко и др., 2011).

Самки комах-фітофагів відкладають яйця на високопродуктивних рослинах, де їхнє потомство має найкращі результати (Valade et al., 2009; Jagiello, 2019). Це має велике значення для гусені, оскільки вони повинні харчуватися листом, відібраним самкою-імаго (Villalva, 2003). Але зв'язок між заселенням *C. ohridella* та продуктивністю дерев *A. hippocastanum* вивчений недостатньо (Skuhravy, 2003; Timus, 2005; Grabenweger et al., 2005). При вивченні пошкодження тканин листя *A. hippocastanum* та оцінці щільності яєць на інших видах каштану було виявлено, що зв'язок заселення *C. ohridella* тільки на високопродуктивних деревах далеко не досконалий. Імаго каштанового мінера відкладають яйця на деревах *A. hippocastanum* та

інших види каштану, де личинки розвиваються погано або не розвиваються зовсім (D'Costa et al., 2013). Продуктивність личинок вимірювалася лише опосередковано ступенем пошкодження листя.

Відмінності в способі життя і в живленні гусениці *C. ohridella* на різних стадіях розвитку відображується на формі, забарвленні і розмірі утворених мін, а також на формі і забарвленні екскрементів (Рогинскийи др., 2017). Ці ознаки широко використовуються для ідентифікації та дозволяють визначати вік гусениць каштанового мінера безпосередньо в польових умовах, що значно полегшує проведення заходів з моніторингу (Timus et al., 2005) цього фітофага.

Головною особливістю розвитку в життєвому циклі каштанового мінера є гіперметаморфоз. У гусениць різний спосіб життя і тип живлення молодших 1-3 та старших 4-5 вікових груп, що відбивається на їх зовнішній морфології (Антюхова, 2007; Мікуліна, 2009).

Гусінь *C. ohridella* I віку має довжину тіла 0,7-0,8 мм, напівпрозора, світло-зеленого кольору. Сплюснуте тіло, сильно звужене до заднього кінця. Перший грудний сегмент широкий, близько 0,15-0,2 мм, інші грудні сегменти менші за розмірами. Головна капсула довжиною 0,1-0,15 мм і шириною 0,1-0,2 мм, майже прозора, золотисто-коричневого кольору (Зерова и др., 2006; Мешкова та ін., 2009; Мищенко, 2014; Рогинский и др., 2016, 2017).

Гусінь *C. ohridella* II віку має довжину тіла 1,8-2 мм, напівпрозора, світло-зеленого кольору, в світлих волосках. Головна капсула довжиною 0,24 мм і шириною 0,25 мм, майже прозора, золотисто-коричневого кольору. Перший грудний сегмент, в середньому, 0,3 мм. Гусінь *C. ohridella* III віку має довжину тіла 3-3,5 мм, жовтувато-зеленого або блідо-жовтого кольору. Тіло в рідких та світлих волосках. Спинні щетинки на 2-3 грудному і 1-8 сегментах черевця коричневого кольору. Головна капсула довжиною 0,3 мм

і шириною 0,4 мм, світло-коричнева, блискуча (Мешкова та ін., 2009; Мищенко, 2014; Рогинский и др., 2016, 2017).

Гусінь *C. ohridella* IV віку має довжину тіла 4-4,5 мм, світло-зеленого або жовтувато-зеленого кольору. Тіло циліндричне, після 5 сегмента черевце звужене до заднього кінця. Перший грудний сегмент шириною 0,78 мм. Головна капсула такого ж кольору, як і тіло, довжиною 0,35-0,4 мм і шириною 0,45-0,5 мм. Гусінь *C. ohridella* V віку має довжину тіла 4,5-6 мм, зеленувато-сірі. Тіло покривають волоски. Спинні щетинки грудей і черевця чорні. Перший сегмент грудей 1,1 мм, найширший – третій, ширина якого 1,26 мм. Головна капсула коричнева. Гусені *C. ohridella* VI віку має довжину тіла 4-5,5 мм. Тіло матове, в світлих волосках, блідо-зеленого або білувато-жовтого кольору. Головна капсула довжиною 0,5 мм і шириною 0,45 мм (Мешкова та ін., 2009; Мищенко, 2014; Рогинский и др., 2016, 2017).

В циклі розвитку *C. ohridella* є додаткова 6 стадія, але вона не живиться, а пряде шовк і плете кокон (Мешкова та ін., 2008; Мищенко и др., 2015). Гусениця досить швидко порушує цілісність покривної тканини асиміляційної поверхні та проникає всередину епідермального шару листків рослин *A. hippocastanum* (Jagiello et al., 2017). На першій-третій стадії розвитку гусень каштанового мінера живиться нетвердими компонентами клітини та клітинним соком (Bede et al., 2006), який у накопичується у вакуолізованих клітинах епідермісу гіркокаштана звичайного (Трибель, 2008; Рогинский и др., 2016).

Спостереження свідчать про те, що видалення гусені *C. ohridella* з міни призводить до її смерті протягом декількох годин. Це свідчить про те, що личинки *C. ohridella* життєздатні лише в паренхімній тканині листя.

Основними поживними речовинами в листках гіркокаштана звичайного для гусені *C. ohridella* є крохмаль і цукроза, що підтверджено високою амілазною активністю, а також активністю мальтази і цукрази (Stygar et al., 2017). Другим важливим класом макромолекул є розчинні

білки, здатні впливати, поряд із вуглеводами, на продуктивність комах, у тому числі – на швидкість росту та розмноження (Behmer, 2009; Behmer, Joern, 2008; Roeder, Behmer 2014), толерантність до рослинних токсинів (Deans et al., 2016; Simpson et al., 2002) та до патогенів (Lee et al., 2006; Povey et al., 2009; Ponton et al. 2011).

З четвертого віку гусінь каштанового мінера живиться тканинами листа. Знаходячись в мезофілі, вона поїдає клітини палисадної паренхіми, зменшуючи найбільш фотосинтетично активну листову тканину, оминаючи частину лопаті листка, яка багата на таніни (Thalman et al., 2003; Weryszko-Chmielewska, Naratym, 2011). На цій стадії гусениця *C. ohridella* утворює більш просторі і глибокі міни. Тіло гусениці 4-5-го віків набуває циліндричної форми, з добре розвиненими ротовими органами. Тривалість розвитку стадії лялечки окремої генерації становить 7-14 діб влітку і до 6 місяців в період зимівлі (Villalva et al., 2003; Timus et al., 2005; Рогинский и др., 2016).

Ступінь ураження *A. hippocastanum* мінами *C. ohridella* окремих дерев залежить від віку та розміру популяції каштанового мінера. При сприятливих для фітофага умовах (високій температурі та достатній вологості) вже в кінці першої генерації чисельність *C. ohridella* може досягти максимуму. В такому випадку вся крона може бути повністю заселена мінером при щільності до декількох сотень мін на лист дерев гіркогокаштана.

При вивченні впливу мікрокліматичних умов оточуючого середовища й опалого листа на інвазію *C. ohridella* було встановлено, що саме мікрокліматичні особливості середовища (Tarwaski et al., 2012) найбільше впливають на стан популяції каштанового мінеру (Girardoz et al., 2007). В більш посушливих і загазованих умовах рослини гіркогокаштана звичайного є більш пошкодженими (Jagillo et al., 2019). Це пов'язано зі скороченням

строків розвитку всіх чотирьох генерацій молі, що призводить до більшої кількості випадків заляльковування (Сараненко, 2018).

## 1.2 Досвід дослідження впливу *C. ohridella* на онтогенез *A. hippocastanum*

Довгий час гіркокаштан звичайний належав до числа високостійких деревних порід (Григорюк та ін., 2004; Левон и др., 2008). Але в останні два десятиліття стан каштанових насаджень суттєво погіршився як внаслідок впливу несприятливих абіотичних факторів середовища: через глобальні зміни клімату та посилення техногенного навантаження (Волощинська, 2008; Огороднійчук та ін., 2009), так й через масове розмноження фітофагів і фітопатогенів (Григорюк та ін., 2004; Голобородько та ін., 2016; Shupranova et al., 2014; Jagiełło et al., 2017). Особливо ця порода потерпає від каштанового мінера, для якого вона є основною кормовою рослиною.

Природний ареал *A. hippocastanum* охоплює невелику частину Балканського півострова, де він виростає в гірських лісах Албанії і частково Болгарії і Греції, де цей вид вперше був виявлений тільки в 1879 році Гельдріхом (Heldreich) (Alexandrov, 1994). В культуру гіркокаштан вперше був введений в 1561 році в Прагу та 1569 році в Італію (Григорюк та ін., 2004). В умовах урбанізованого міста гіркокаштан звичайний є унікальним природним фільтром у доочищенні атмосфери (Бессонова, 2001; Петрова та ін., 2012), води і ґрунту від промислових, побутових та сільськогосподарських забруднень. Вони формують ландшафти, виконують важливу екосферу (Санаєв, 2006) і естетичну функції (Кузнецов, Немерцалов, 2008), мають вагоме лікувальне, архітектурне та народногосподарське значення (Григорюк та ін., 2004; Мельничук та ін., 2006; Машковская и др., 2008).



Також рослини роду *Aesculus* мають велике практичне значення. Екстракти насіння *A. hippocastanum* використовуються для лікування варикозу, запалення вен, геморою, ревматизму, діареї, лихоманки, збільшення передміхурової залози. Активний інгредієнт, добутий з насіння рослини, називається есцином, зменшує симптоми хронічної венозної недостатності, а також має протизапальну активність (Jagiello et al., 2017). Насіння *A. pavia*, *A. flava*, *A. glabra* та *A. californica* часто використовувались для вилову риби шляхом їх транквілізації (Snieškienė et al., 2011).

Ряд важких металів, таких як Pb, Cd, Cu, Zn і Cr, що походять із забруднення, може накопичуватися в токсичних концентраціях у ґрунтах міських районів. Таким чином, останнім часом у всьому світі спостерігається проблема підвищеного забруднення важкими металами атмосфери, ґрунту та води. (Kuleff, 1993). Підраховано, що 1 гектар насаджень гіркокаштанів поглинає, в середньому, 5,9–9,5 тонн вуглекислого газу й виділяє в атмосферу 4,3–6,9 тонн кисню (Гнатів, 2008). Древа з пошкодженою листовою пластинкою або з повністю опалим листям влітку, крім втрати естетичного вигляду, позбавлені можливості виконувати санітарно-гігієнічні функції (Петрова та ін., 2012), необхідні для забрудненої атмосфери урбанізованого міста.

Живлення каштанового мінера мезофілом листя *A. hippocastanum* призводить до загибелі епідермісу по обидва боки пластинки і до висихання частин листя в районі міни. Пошкоджені *C. ohridella* крони не забезпечують дрерам гіркокаштана звичайного достатнього накопичення поживних речовин, і вони можуть взимку вимерзати, всихати (Гевал та ін., 2012). Неодноразово пошкоджені дрера розпускаються навесні із запізненням на 7-8 днів. У них зменшуються приріст, велика кількість і інтенсивність цвітіння, зменшується розмір листя (Snieškienė et al., 2011). Навіть якщо не відбудеться повного вимерзання, дрера, пошкоджені в попередньому сезоні мінером (Поляков та ін., 2012), навесні будуть погано розпускатися,

окремі гілки будуть всихати (Гевал та ін., 2012). Засоленість і сухість ґрунту, загазованість та інші негативні фактори, властиві урбанізованим ландшафтам, багаторазово підсилюють шкоду, яку завдає *C. ohridella* (Григорюк та ін., 2004; Гнатів, 2008; Takos et al., 2008). Формування стійких осередків *C. ohridella* з високою щільністю популяції в урбанізованих ландшафтах, при відсутності рекомендованих в цьому випадку профілактичних заходів, може призводити до щорічної 100% дефоліації каштанів, що, в свою чергу, сильно послаблює дерева і призводить до їх загибелі (Гевал та ін., 2012; Сулова, 2020).

У місцях з високою щільністю каштанового мінера вже в кінці розвитку I генерації листова пластинка нижнього ярусу рослин *A. hippocastanum* пошкоджена на 50-100%, що сигналізує про можливу повну дефоліацію (Salleo et al., 2003; Takos et al., 2008) дерев уже в середині літа (Піхало, 2010). Це призводить до ослаблення, а в подальшому – і загибелі дерев (Percival et al., 2011). При виїданні гусінню *C. ohridella* паренхіми листа значно пошкоджуються хлорофіловмісні органи і порушуються нормальні процеси життєдіяльності дерев *A. hippocastanum*. Пошкоджені крони гіркокаштана втрачають значну частину фотосинтезуючої площі (Шупранова та ін., 2019). Втрата певної частини асиміляційного апарату протягом декількох років призводить до ослаблення дерев і втрати стійкості, порушення вуглеводного обміну і метаболізму, недостатнього накопичення пластичних і енергетичних речовин (Nardini et al., 2004). Якщо у здорових дерев розмір насінневих горіхів має 3-5 см в діаметрі, то у пошкоджених діаметр їх не перевищує 1,8-2,3 см. Такі неповноцінні плоди не можуть бути використані в розсадниках для отримання здорових саджанців (D'Costa, 2014).

На ослаблених деревах поселяються інші фітофаги, які пошкоджують листя, пагони, стовбури, розвиваються грибні інфекції (Лаптев, 2001; Percival et al., 2014). На початку осені на таких деревах починається

розвиток сплячих листових і квіткових бруньок, які в нормі повинні розвиватися наступної весни (Snieškienė et al., 2011). На це *A. hippocastanum* витрачає значну кількість енергії і в зимівлю входить ослабленим (Попов и др., 2007; Поляков та ін., 2013; Сусллова, 2020). Осіннє цвітіння каштанів, про яке вже згадувалося вище, як про реакцію гіркокаштану на втрату листя влітку, вперше було відзначено Пшорн-Вальхерен (Pschorn-Walcher, 1994). Всі ці фактори в комплексі призводять до пригнічення розвитку, втрати декоративності і санітарно-оздоровчих функцій (Зерова и др., 2006).

Якщо в осередках мінера протягом декількох років не відбувається загибель каштанів, естетичний збиток настільки серйозний, що в багатьох європейських містах деякі муніципалітети вже замінюють це надзвичайно красиве декоративне дерево іншими формами каштанів або деревами інших видів. Економічні витрати при цьому досить істотні (Balder, Jackel 2003). Як відмічено, представники роду *Aesculus* характеризуються різною чутливістю до *S. ohridella*. Проводяться дослідження для з'ясування причини цих відмінностей (Oszmianski et al., 2014; Stygar et al., 2010; Štajner et al., 2014).

Серед роду *Aesculus* високим рівнем стійкості (Григорюк та ін., 2017) відзначаються рослини гіркокаштанів гібридного (*A. hybrida* D.C.), м'ясочервоного (*A. carnea* Zeyh., 1822) (Шаванова та ін., 2014), червоного (*A. pavia* Linnaeus, 1753), восьмитичинкового (*A. octandra* March.), *A. flava* Solander, 1778 (Štajner et al., 2014; Oszmianski et al., 2015), *A. indica* (Wall. ex Camb. Hooker, 1859), *A. californica* (Spach) Nuttoll., *A. assamica* Griff. і *A. wilsoni* Rehder, які походять з Азії та Північної Америки (D'Costa et al. 2013). Висока стійкість рослин гіркокаштану червоного (Шаванова та ін., 2014) до *S. ohridella* обумовлена комплексом морфоанатомічних і фізіологічних ознак, зокрема – товстими клітинними стінками верхнього епідермісу (Колесніченко та ін., 2012; Пентелюк та ін.,

2016). Також наявністю в його клітинах поліфенольних сполук, високим вмістом та активністю пероксидази, особливо зв'язаних з клітинними стінками кислих ізоформ (Apers et al., 2007; Шупранова та ін., 2019). Від вмісту і активності ферменту пероксидази залежить ступінь дерев'яніння вторинних клітинних оболонок, що особливо важливо за умов формування механічного бар'єру, який перешкоджає проникненню гусениць каштанового мінера в тканини листка. Зв'язана з клітинними стінками пероксидаза є специфічним маркером стійкості видів і гібридів рослин роду *Aesculus L.* до каштанового мінера (Демчук та ін., 2012).

Чутливим до *C. ohridella* є японський каштан кінський (*A. turbinata Blume*). У поодиноких випадках міни фіксують на листках достатньо стійких проти каштанового мінера видів гіркокаштана (*A. glabra Willd.*, *A. parviflora Walt.*, *A. pavia* x *A. hippocastanum* та ін.). Як зазначають дослідники (Пентелюк та ін., 2016), даний факт свідчить про складність системи взаємодії рослина–фітофаг і принципову неможливість повного знищення цього фітофага в умовах мегаполіса. Крім того, за нестачі кормової бази відбувається перехід гусені на інші види рослин, такі як клен гостролистий (*Acer platanoides* Linnaeus, 1753), клен-явір (*Acer pseudoplatanus* Linnaeus, 1753) (Mierziak et al., 2014;), які також належать до родини *Sapindaceae* Juss, 1789.

Рослини гіркокаштана звичайного і гіркокаштана звичайного форми Баумані не витримують одночасного стресового впливу *C. ohridella*, повітряної й ґрунтової посухи, у результаті чого за певних умов може наступати розхитування спадковості, що обумовлено значним витрачанням пулу енергетичних сполук у сітці метаболізму та нестабільністю геному в умовах глобального потепління клімату (Вилкова, 2000; Лихолат та ін., 2018).

Хоча комахи-фітофаги розвинули механізми детоксикації вторинних метаболітів кормових рослин, вони мають знижену здатність до

детоксикації рослинних вторинних метаболітів інших рослин цього роду (Sorensen et al., 2005). Тому в більшості випадків оселення каштанового мінера на інших видах каштану малопродуктивне. Для *C. ohridella* гіркокаштан звичайний – основна кормова рослина, оскільки на Балканах, звідки він бере початок, заселення та розвиток фітофага відбувалося лише на ньому (Lees et al., 2011). Інші види роду *Aesculus*, які мають інше континентальне походження, є новими для *C. ohridella*, адже не мають великої схожості в профілі вторинних метаболітів. Подібність ознак з початковою кормовою рослиною *A. hippocastanum* призводить до швидкої адаптації каштанового мінера (Oszmianski et al., 2014). Але якщо ознаки, що визначають продуктивність та розвиток гусені *C. ohridella*, не підходять, колонізація нового виду роду *Aesculus* не відбудеться.

На сьогодні вже є повідомлення того, що *C. ohridella* адаптується до живлення іншими рослинами (Kenis et al., 2014). Зокрема, крім гіркокаштана звичайного, в літературі наводяться приклади пошкодження личинками *C. ohridella* інших представників роду *Aesculus*. Також міни було зафіксовано на листових пластинках кленів гостролистого (*Acer platanoides* L., 1753), білого (*Acer pseudoplatanus* L., 1753) і дівочого винограду п'ятилисточкового (*Parthenocissus quinquefolia* Planch.) (Зерова и др., 2007; Péré, 2009). Рід *Acer* L. з *Aesculus* L., в даний час відносять до сімейства *Sapindaceae* (Buerki et al., 2009), що не дозволяє вважати подібні реєстрації випадковими і викликає необхідність з'ясування пошкоджуваності в умовах тих чи інших регіонів Європи.

Як відмічено, представники роду *Aesculus* характеризуються різною чутливістю до *C. ohridella*. Проводяться дослідження для з'ясування причини цих відмінностей (Stygar et al., 2010; Oszmianski et al., 2014; Štajner et al., 2014). На основі аналізу трьох груп речовин у листках, які можуть функціонувати як атрактанти (пігменти хлоропластів, антоціани) (Lev-Yadun et al., 2009), репеленти (флавоноїди, феноли) (Bennet et al., 1994), або

як джерело харчування (вільні амінокислоти і вуглеводи) декількох видів роду *Aesculus* (*A. turbinata*, *Aesculus* × *neglecta* і два екземпляра *A. hippocastanum*), які відрізнялись за чутливістю до каштанового мінера, показано, що високі рівні антоціанів (Лук'яненко та ін., 2014) і вуглеводів можуть сприяти відкладанню яєць для харчування мінером листя чутливого *A. turbinata*.

Відносно чутливий екземпляр *A. hippocastanum* містив дещо вищі рівні вуглеводів і антоціанів (Le Gall, 2014), ніж відносно стійкий, однак тільки в одному сезоні, що не пояснювало причини їх різної чутливості до комахи. Концентрація фенолів (Григорюк та ін. 2016; Ліханов та ін., 2016) у чутливого *A. turbinata* і відносно чутливого *A. hippocastanum* була вищою, ніж у стійкого *A. neglecta* і відносно стійкого екземпляра *A. hippocastanum*, відповідно, що може свідчити про те, що не загальна концентрація фенолів, а їх склад у листках є відповідальним за різну чутливість дерев *Aesculus spp.* до каштанового мінера.

### **1.3 Досвід дослідження механізмів адаптації та стійкості *A. hippocastanum* до впливу *C. ohridella***

Дослідження взаємовідносин рослина-фітофаг на біохімічному рівні має важливе значення для розуміння природи адаптації рослин до дії *C. ohridella* (Андреева и др., 1988; Gillet al, 2010). Під час перебування в організмі хазяїна між паразитом і рослиною відбуваються складні фізіологічні процеси, наслідком яких є виживання чи смерть фітофага (Роговський, 2009; Коваль, Мікуліна, 2012). У випадку виживання фітофаг впливає на організм хазяїна, викликаючи зміни в метаболізмі, внаслідок чого змінюється фізіологічний стан рослини (Mithöfer, Boland, 2012). Одним з ефективних методів моніторингу каштанового мінера є використання феромонних пасток (Kindel et al., 2002).

При дослідженні реакції рослин гіркокаштана звичайного на вплив фітофага підкреслюється важливість хімічної складової захисних систем рослин (Ranieri et al., 2001), яка охоплює вторинні метаболіти (алкалоїди, терпеноїди, ціаногенні глікозиди, флавоноїди, таніни, оксикоричні кислоти), ферменти антиоксидантного захисту. Вторинні метаболіти рослин – продукти метаболізму, які рослина не використовує для росту та розвитку, але вони можуть впливати на виживання рослини. Вони 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; Thalmann et al., 2003).

Рослини захищаються від цих токсичних ефектів шляхом вакуолярної секвестрації, транспортування везикул, позаклітинного біосинтезу або їх виведення (Behmer, Joern, 2008). Успішний хімічний захист рослин зазвичай досягається або завдяки широкому спектру помірно токсичних сполук, або завдяки декільком високотоксичним хімічним речовинам. Багато високотоксичних вторинних сполук зберігається у менш токсичних формах. Потім ці попередники перетворюються на токсичні сполуки за потреби рослини, наприклад, коли рослина пошкоджена (Ranieri et al., 2001).

Вторинні метаболіти відіграють важливу роль у взаємодії з рослиноїдними тваринами, патогенами, конкурентами рослин, мікоризними грибами та азотфіксуючими бактеріями (Bennet, 1994; Augustin, 2004). Стерини важливий компонент клітинних мембран, каротиноїди можуть виступати додатковими пігментами при фотосинтезі та захищати фотосинтетичну тканину від окислення, доліхоли можуть виконувати роль носіїв цукру в клітинній стінці, а синтез глікопротеїну та лігніну забезпечує механічну підтримку (Taiz, Zeiger, 1991).

Розпізнавання кормових рослин у фітофагів часто регулюється вторинними метаболітами. Але вміст води та харчова якість, разом із структурним захистом рослини, також впливають на вибір заселення фітофагом (Stygar et al., 2017). В'язкість листя, вторинні метаболіти або неоптимальні поживні речовини можуть негативно впливати на рослиноїдних комах. Варіації фізіологічних та морфологічних ознак, вмісту води та азоту, фенологічних речовин можуть впливати на сприйнятливість та стійкість рослин до фітофагів (Ishino et al., 2011). Низька продуктивність рослин негативно впливає на швидкість росту і плодючість, що призводить до тривалого розвитку личинок, що збільшує ризик смертності від паразитоїдів і хижаків (Behmer, Joern, 2008).

Флавоноїди відіграють певну роль у транспорті ауксинів (Hartmann, 2007). Серед фенольних груп найбільшу групу становлять флавоноїди. Вони поширені повсюди і зустрічаються в більшості частин рослин, таких як листя, коріння, деревина, кора, пилок, нектар, квіти та насіння. Кожен вид рослин виробляє кілька різних флавоноїдів, а отже, має унікальний флавоноїдний профіль (D'Costa, 2014). Більшість флавоноїдів зберігається у вакуолях (Sorensen et al., 2005), але деякі можуть бути присутніми в епікулярному воску на верхній поверхні листа (Oszmianski et al., 2014; Пентелюк та ін., 2016).

Вторинні метаболіти рослин також можуть забезпечити захист від абіотичного стресу, такого як ультрафіолетове випромінювання, а також можуть виконувати функцію фітогормонів, що регулюють фізичні зміни (Weryszko-Chmielewska, 2011). Утворення вторинних метаболітів є адаптивною стратегією для виживання рослин. Гідрофільні сполуки зазвичай зберігаються у вакуолях або ідіобластах, тоді як ліпофільні сполуки часто зберігаються в смоляних протоках, залозистих волосках, трихомах, на кутикулі або в тилакоїдних мембранах. Однак деякі сполуки можуть зберігатися в самому епідермісі. Фенольні сполуки – вторинні



метаболіти, що беруть участь у захисних механізмах рослин. Вони можуть мати антиоксидантні властивості, хелатувати іони важких металів, виявляти протигрибкову та антибіотичну активність або відлякують, особливо у випадку з дубильними речовинами, фітофагів, змінюючи смак рослинних тканин, зв'язуючи та денатуруючи білки (Karusta et al., 2007).

Також дубильні речовини індукують ураження у комах середньої кишки та пригнічують живлення (Grabenweger et al., 2005). Фенольні сполуки, що потрапляють всередину фітофагу, також можуть зменшити харчову цінність рослинного матеріалу завдяки окислювальним процесам, які відбуваються в середній кишці комахи та створюють активні форми кисню (Simova-Tosic, 1985). Однак навіть подібні сполуки можуть зазнати біотрансформації в травному тракті комахи (Karusta et al., 2007). Фенольні речовини можуть чинити як позитивний вплив на фітофага (прискорення розвитку, розмноження), так і негативний (токсичний, відлякуючий або такий, що зменшує засвоюваність поживних речовин) вплив на рослиноїдних тварин (Broda, 2002).

Високий вміст конденсованих дубильних речовин у листі *A. hippocastanum* може не мати негативного впливу на розвиток *C. ohridella*. Фенольні сполуки присутні в листках рослин гіркокаштана звичайного, уражених кашновим мінером (Dudek-Makuch et al., 2011). У тканинах листків рослин гіркокаштана звичайного виявлено наявність катехінових дубильних речовин (Tomczyk et al., 2008). Погана активність стратегії фізіологічного захисту, захисту пов'язана з наявністю дубильних речовин не у всіх клітинах листя *A. hippocastanum*. А глікозиди, що виробляються у листі гіркокаштана звичайного, не є серйозно небезпечними для каштанового мінера (Baraniak et al., 2017).

Вивчаючи повторний вплив дефоліації *C. ohridella* на репродукцію *A. hippocastanum*, зробив висновок про сильне зниження запасання фотосинтатів насінням у заражених деревах щодо контролю (Mohamed et al.,

2012). Математичні розрахунки моделей заражених *C. ohridella* дерев у Північній Італії показали, що фотосинтетичні чисті втрати первинної продукції заражених дерев становили близько 30% щорічно (Raimondo et al., 2003; Nardini et al., 2004). Подібні процеси можуть серйозно погіршити майбутній ріст і виживання саджанців гіркокаштана звичайного. Вага насіння сильно заражених дерев *C. ohridella* значно зменшується, що може вплинути на ріст і виживання молодих саджанців кінського каштана (Thalman et al., 2003; Nardini et al., 2004; Takos et al., 2008; Percival et al., 2011).

Хімічний захист рослин базується на білках і включає ферменти (Мікуліна, 2011), 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 (Філоник та ін., 2010). Дослідженнями (Stygar et al., 2010) встановлено, що основними поживними речовинами в листках *A. hippocastanum* для гусені фітофагу 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 (Hübner et al., 1999) 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).

Різні морфологічні ознаки листя також відносяться до стійкості та сприйнятливості до *C. ohridella*. Відомо, що різні ознаки рослин впливають на розвиток та продуктивність рослиноїдних тварин (Behmer, Joern, 2008; Roeder, Behmer 2014). Хімічні та фізичні ознаки не тільки впливають на продуктивність личинок, а можуть також виступати в якості ознак

розпізнавання самок імаго (Behmer, 2009; Ishino et al., 2011). Вони контактують з фізичними та хімічними ознаками листя, і деякі з цих ознак можуть вплинути на вибір яйцекладки.

Концентрація вільних амінокислот у деяких стійких видів роду *Aesculus* значно вища, ніж у *A. hippocastanum* та *A. turbinata*. У межах роду існують великі відмінності між амінокислотним складом листків та насіння. *A. turbinata* та *A. hippocastanum* мають майже однаковий профіль, що відрізняє їх від решти видів (Stygar et al., 2017). Це свідчить про те, високий вміст вільних амінокислот уповільнює процес розвитку каштанового мінера, тому це також можна розглядати, як механізми стійкості до *C. ohridella* та наявності різних захисних механізмів у рослин одного роду (Roeder, Behmer 2014).

На ступінь заселення *C. ohridella* також впливає низька в'язкість листків, вміст амінокислот та високий вміст фенольних речовин. В'язкість листків була не тільки важливою для вибору відкладання яєць, але і ознакою, яка відокремлювала двох сприйнятливих до ураження кормових рослин *A. hippocastanum* та *A. turbinata* від решти видів. В'язкість листків є гарним індикатором стійкості саджанців. Також низька в'язкість листя може спричинити значну смертність гусені каштанового мінера (Sorensen et al., 2005; Jagillo et al., 2019). Так як гусені *C. ohridella* потрібно проникнути в тканину листя *A. hippocastanum* через верхній епідерміс, в'язкість листя відіграє важливу роль у стійкості, зменшуючи ймовірність пошкодження тканин листа.

Також одним з елементів конституціональної стійкості рослин гіркокаштана звичайного проти каштанового мінера є показник товщини кутикули поверхні листка (Гаманова, 2011; Пентелюк та ін., 2016, Григорюк та ін., 2017). Так як процес пошкодження листків гіркокаштана звичайного гусінню починається уже на стадії виходу її з яєць. Гусениця швидко порушує цілісність покривної тканини асиміляційної поверхні листка та

проникає всередину епідермального шару листків рослин (Зерова и др., 2007).

Складовою опорної системи стійкості листків гіркокаштана червоного є також базофільні сполуки, поліфенольної природи. Вони були виділені в значній кількості з клітин верхнього епідермісу (Демчук, Григорюк, 2012). Подібні відкладення зафіксовано і у поодиноких клітинах епідермісу гіркокаштана звичайного, що вкритий кутикулою, яка пронизана восковим нальотом (Пентелюк та ін., 2016). Він знижує інтенсивність транспірації листків і проникнення гусениць каштанового мінера в тканини листової пластинки *A. hippocastanum* (Kukuła-Młynarczyk et al., 2006). У листках рослин гіркокаштана червоного також виявлено значний вміст поліфенольних сполук. Все це підтверджує високий ступінь захисних властивостей покривних тканин і мезофілу листків гіркокаштана червоного, які ускладнюють проникнення фітофага в епідермальний шар листка та процес живлення клітинним соком у гусені 1 та 2 віку й тканинами у гусені 3 та 4 віку (Григорюк, Ліханов, 2016).

Фізіологічним бар'єром у системі стійкості рослин роду *Aesculus L.* є ферменти групи оксидаз. Індуковані поїданням листя фітофагами ферменти, такі як пероксидази (Gregory, 1966), можуть сприяти більшій стійкості клітинної стінки в результаті синтезу лігніну, суберину, а також брати участь у нейтралізації активних форм кисню (Колупаєв, 2007; Пентелюк та ін., 2016). Пероксидаза — мультифункціональний глікопротеїд, що бере участь у зшиванні полісахаридів (Campra, 1991; Allison, Schultz, 2004; Рогожин, 2004), каталізує лігніфікацію і прискорює реакції гідроксилювання проліну (Андреева и др., 1988) та ефективно регулює процес формування вторинних клітинних оболонок (Smolinska et al., 2017).

Дія стресових чинників навколишнього середовища, в тому числі – фітопатогенів і фітофагів, супроводжується підвищенням рівня активних форм кисню в різних компартментах клітини листків (Kiss et al., 1992). У

відповідь на ураження рослин фітопатогенами і фітофагами включаються такі захисні реакції як посилення бар'єрних властивостей (Patel et al., 2013), лігніфікація, експресія генів і синтез PR-білків, у тому числі – ферментів антиоксидантного захисту (Bagnoli et al., 1998). При вивченні активності ферментів-антиоксидантів виявлено достатньо високу активність пероксидаз у листках *A. hippocastanum*, що відповідає літературним даним (Štajner et al., 2014). Відомо, що бензединпероксидаза (Kim et al., 2010) і гваякол-пероксидаза є дуже лабільними ферментами, які реагують на порушення клітинного гомеостазу за дії стресорів різного походження (Tognolli et al., 2002; Filho, 2006).

Одну з основних причин накопичення пероксиду водню в рослинних тканинах за впливу стресорів розглядають інгібування каталази (Chen et al., 1993). Зниження каталази – не єдина можлива причина підвищення вмісту пероксиду водню в рослинних тканинах. Такий ефект, зокрема, може бути наслідком підвищеної активності супероксиддисмутази. Даний фермент, який каталізує перетворення супероксидного радикалу в пероксид водню, може сприяти накопиченню останнього, особливо на тлі інгібування каталази (Колупаєв, 2007).

Активність гваякол-пероксидази (Singh et al., 2013) може бути пов'язана з тим, що вона бере участь у процесах лігніфікації, суберинізації, ауксиновому катаболізмі, заживленні поранень і захисті від патогенної інфекції (Taiz, Zeiger, 1991), що асоціюється із системною стійкістю рослин (Hammerschmidt et al., 1982; Golubenko et al., 2007). Вважають, що активація ферментів-антиоксидантів у відповідь на дію інсектів (Sánchez–Sánchez et al., 2017) є одним з ключових процесів у формуванні і розвитку захисних реакцій у рослинних клітинах (Gastaldo, 1994; Dowd et al., 1999). Індукція активності ферментів пероксидази і поліфенолоксидази у відповідь на напад комах не може бути конкретним свідченням участі цих антиоксидантів безпосередньо в захисних механізмах (Filho, 2006). Припускається, що

пероксидаза може брати участь у регуляції рівня і активності ендогенних й екзогенних сигнальних молекул (Dabrowska et al., 2007) у рослині через механізми синтезу і деградації деяких фітогормонів, перекисних сполук і сполук фенольної природи (Low, Merida, 1996). Крім каталізу окиснювальних реакцій, пероксидаза виконує регуляторну роль в процесах диференціації клітин (Dowd et al., 2000) і організації конституціональної стійкості рослин до стресових абіотичних та біотичних чинників (Esteban-Carrasco et al., 2001; Gulsen et al., 2010).

Рослини *A. hippocastanum* синтезують у вегетативних і генеративних органах значну кількість фенолів, необхідних для формування систем стійкості. Антиоксидантну активність його насіння пов'язують з високим вмістом флавоноїдів (Dudek-Makusch et al., 2011; Kapusta et al., 2007). Хоча пошкоджене листя рослин *A. hippocastanum* має високий вміст поліфенольних речовин, але вони з відносно поганою антиоксидантною здатністю. Виробництво великої кількості дубильних речовин – одна із стратегій фізіологічного захисту від комах-фітофагів. Дубильні речовини – похідні фенольних сполук з гірким смаком і токсичними властивостями, це стримує розвиток гусені *C. ohridella* (Broda, 2002).

Перше повідомлення про антиоксидантну активність *A. hippocastanum* у порівнянні з резистентним видом *A. flava* як *in vivo*, листки, зародки насіння (Ćalić-Dragosavac et al., 2010), так і *in vitro* – андрогенні ембріони (Jorgensen, 1989; Štajner et al., 2014). Разом з тим, на інших видах рослин, зокрема, роду *Coffea Linnaeus*, листки яких також сильно пошкоджуються листовим мінером *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842), не виявлено зв'язку активності пероксидази зі ступенем пошкодження їх паразитом (Filho, 2006). Пероксидази існують як ізоензими у різних особин одного виду рослини. Кожний ізоензим має варіабельні послідовності амінокислот та всі вони виявляють різні профілі експресії, що свідчить про їх включеність у різні фізіологічні процеси (Hiraga et al., 2001).

У міських зелених насадженнях виявлено стійкі проти каштанового мінера форми рослин *A. hippocastanum*, що здатні зберігати асиміляційну поверхню непошкодженою упродовж вегетаційного періоду (Blokina et al., 2003). Листки рослин таких форм заповнені в'язкою базифільною субстанцією, що практично не розчинна в органічних розчинниках. Це полімеризовані фенольні речовини, у тому числі – флобафени, перетравлення яких у кишечнику гусениці першого віку є досить складним (Григорюк та ін, 2015). Для стійких проти *C. ohridella* форм гіркокаштана звичайного нагромадження проантоціанідинів та інших поліфенольних сполук у листках не є вирішальним. Саме для стійких проти *C. ohridella* форм рослин характерною рисою є невисока концентрація катехинів і проантоціанідинів (Пентелюк та ін., 2016; Ліханов та ін., 2017).

Не менш важливою гістохімічною ознакою стійкої системи опору проти *C. ohridella* форми гіркокаштана звичайного є накопичення у клітинах верхнього епідермісу листків специфічних базифільних сполук (Grabenweger et al., 2005), які ускладнюють процеси живлення гусениць одразу після відродження. Листки стійкої проти каштанової мінуючої молі форми гіркокаштана звичайного відзначаються стабільно високим умістом хлорофілів (Фурст, 1979), концентрація яких залишається відносно високою після травматичного пошкодження тканин (Nagy et al., 2004). Під впливом каштанового мінера у фазу інтенсивного формування плодів відбувається пригнічення процесів біосинтезу і деструкція нативної рідкокристалічної структури мембранних полярних ліпідів (Григорюк та ін., 2010, 2012).

Гібридизація стійких до ураження *C. ohridella* дерев *A. hippocastanum* може вирішити проблему масового розмноження фітофага. Генетичні зміни в гібридах можуть впливати на фенологію, морфологію та хімічні та фізичні ознаки, що може вплинути на живлення комах-фітофагів (Tilbury, 2006). Раніше повідомлялося, що різні гібриди роду відчують різний ступінь стійкості до *C. ohridella* (Straw, 2006). Тому дослідження спадковості різних

ознак листя гібридів *Aesculus* та їх вплив на до ураження *C. ohridella* дуже актуальні. Так як *C. ohridella* не розвивається на *A. assamica*, *A. californica*, *A. chinensis*, *A. indica*, *A. parviflora* та *A. pavia* (Kenis et al., 2005) доцільно створювати гібриди на їх основі.

Більшість гібридів *Aesculus* отримано шляхом схрещування між собою видів *A. flava*, *A. glabra*, *A. pavia* і *A. sylvatica*. Їх сприйнятливість до пошкоджень *C. ohridella* змінюється від помірно чутливої, як, наприклад, у *A. hippocastanum x bushii* до дуже стійкої у *A. hippocastanum x neglecta*, при цьому ступінь сприйнятливості не залежить від батьківських видів гібридної форми, висоти дерева, забарвлення квіток або походження гібрида (Зерова и др., 2007).

Системне дослідження механізмів адаптації і стійких форм *A. hippocastanum* проти *C. ohridella* з урахуванням біологічних ознак створить матеріально-інформаційну базу для розроблення способів ранньої діагностики якості посадкового і селекційного матеріалу (Sediva et al., 2013). А виявлення рослин-донорів з метою масового мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* (Чеченєва та ін., 2010) та забезпечення умов щодо інтенсифікації озеленення мегаполісів України (Григорюк та ін., 2017).



## РОЗДІЛ 2. ФІЗИКО-ГЕОГРАФІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТЕПОВОЇ ЗОНИ УКРАЇНИ

### 2.1. Географічне положення степової зони України

Степова зона розташована у південній та південно-східній частині України, простягається на південь від лісостепу до Азово-Чорноморського узбережжя і Кримських передгір'їв на відстань від 300 до 500 кілометрів. Із заходу на схід степові ландшафти поширені від західних кордонів до відрогів Середньоруської височини на відстані більше 1000 км (Мильков, 1970; Пашенко 1985) (рис. 2.1.). Ширина степової зони змінюється від 105 км на заході до 310 км на сході. На довготі Перекопського перешийка ширина степу досягає 450 км.

Степова зона України поділяється на три природні підзони: північностепову, середньостепову та південностепову (Маринич, 1990). Загальна площа степової зони України приблизно 240 тис. км<sup>2</sup>, що займає майже 40% території (Маринич, Шищенко, 2006). Це найбільший зональний природний комплекс країни. В її межах знаходяться південні частини Харківської і Кіровоградської областей та Донецька, Луганська, Запорізька, Дніпропетровська, Миколаївська, Херсонська та Одеська області (Лавренко, 1954; Попова 1968).

Характерною особливістю степової зони України, не враховуючи штучних насаджень (лісосмуги, паркові насадження, сільськогосподарські сади, деревні угруповання біля водойм та автомагістралей), є дуже мала кількість дерев або повна їх відсутність.

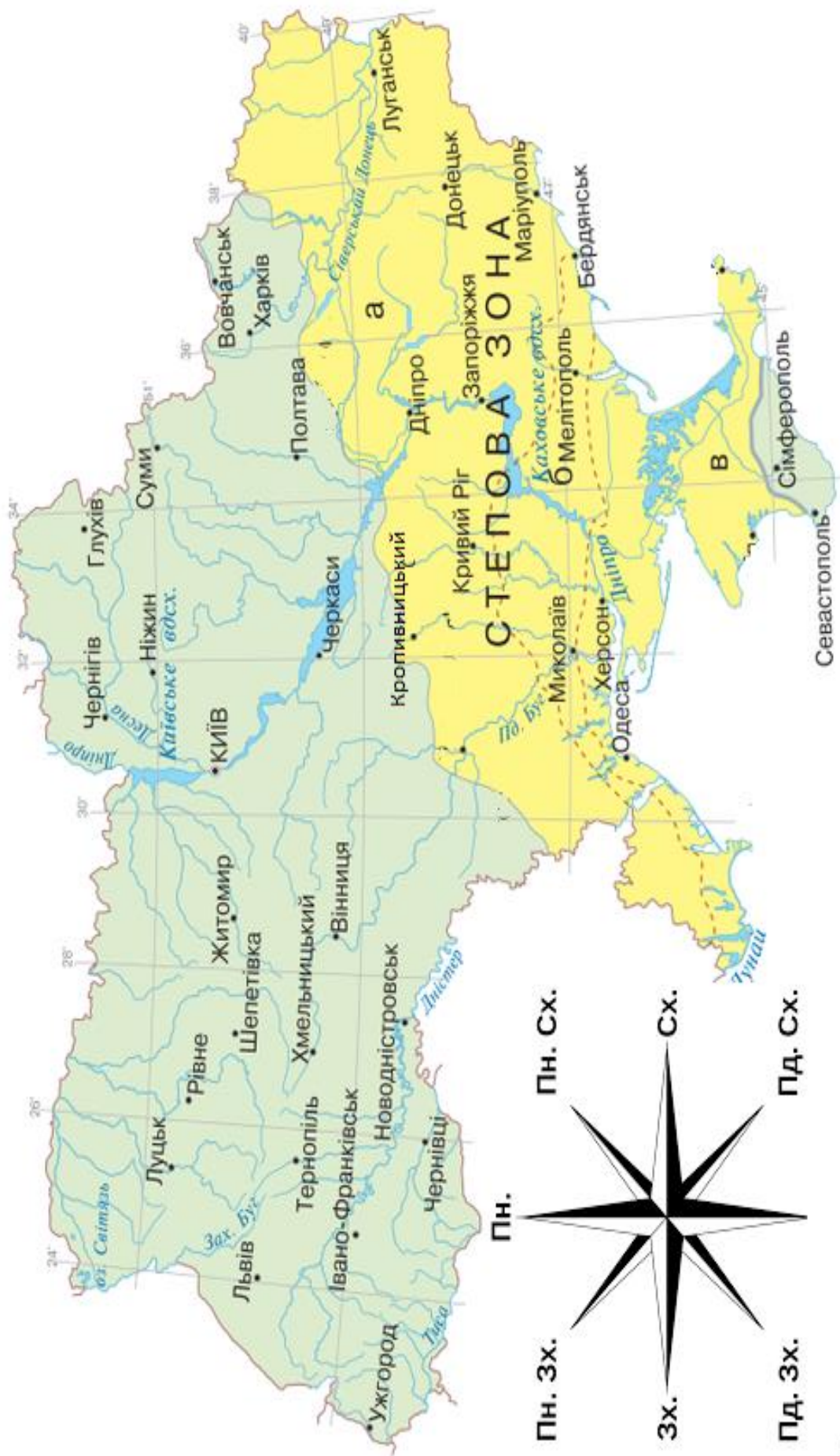


Рис. 2.1. Карта степової зони України

## 2.2. Рельєф степової зони України

Рельєф степової зони України рівнинний, але неоднорідний з багаточисленними ярами, балками, лощинами, подами та горбами, характерним безліссям й відсутністю заболочення. Ці структури неоднаково виражені в сучасному рельєфі, поряд з іншими чинниками вони зумовлюють гіпсометричну і геоморфологічну неоднорідність степової зони та внутрішньозональну диференціацію ландшафтів (Палієнко та ін., 2007). Степова зона розташована на півдні Східно-Європейської рівнини, у межах різних геоструктур. В східному напрямку ареали степових ландшафтів збільшуються, це дуже пов'язано з посиленням сухих континентальних мас та послабленням впливу вологих атлантичних повітряних мас (Маринич, 1990).

Під дією епейрогенічних процесів, утворені яри та балки об'єднуються у спеціалізовану мережу, а височини та западини мають відносні відмітки до 100 м над рівнем моря. Також важливу роль відіграють ерозійні процеси, які є звичайними на Придніпровській височині. Саме вони є рушійною силою при утворенні яружно-балкової системи. У місцях виходу кристалічних порід на поверхню формуються унікальні форми рельєфу, які на півдні України називають могилами. Абсолютні висоти у східній частині степової зони сягають найбільших показників – 367 м (Могила Мечетна) (Булава, 2008).

У нижній частині заплави річки Дніпро, на лівому березі, знаходиться піщаний масив (площа 161 тис. га, Олешківські піски). Окремі пагорби тут досягають 15-20 м. У пониженнях зустрічаються озера, солончаки. Такий рельєф – результат роботи вітру.

Території степової зони розташовані на різних за будовою геоморфологічних рівнях: Донецькому, Наддніпровському, Бузько-Дніпровському і Причорноморському. Будова кожного рівня, їх висоти,

особливості форм поверхні, а також генетична різноманітність (Коротишка та ін., 2000), глибина розчленування визначаються неотектонічними рухами і своєрідним поєднанням екзогенних процесів.

Степові ландшафти частково охоплюють Український щит та його схили, Добруджинський передовий прогин, Дніпровсько-Донецьку западину, Донецьку складчасту споруду, Причорноморську западину, Скіфську платформу, схили Воронізького масиву (Маринич, 2006). На півночі та північному заході знаходяться відроги Центрально-Молдавської, Подільської та Придніпровської височин, а на сході – Середньоросійські височини, пересічені долинами річок та глибокими балками та ярами. На півдні великі території займають Чорноморська, Північно-Кримська та Азовська низовини. Південна частина Дніпровської низовини входить у степову зону. У північній частині степової зони поширені яри або балки, вкриті лісом і чагарником.

На сході степової зони помітно виділяються Донецька та Азовська височини. У формуванні сучасних особливостей поверхні значну роль відіграли неотектонічні рухи, їх успадкованість в межах геологічних структур з різними ознаками рухів (Лавренко, 1954; Маринич, 1990). Український щит, Донецька складчаста споруда, Воронізький масив мають тенденцію до підняття, а Причорноморська западина – до просідання.

Структури нижчого порядку, наприклад, блокові утворення Чорноморської западини, підняття та западини рівнинного Криму, відрізняються за неотектонічними рухами. Неотектонічні рухи впливали на формування рельєфу пагорбів та низин степової зони, а через них – і просторову диференціацію степових ландшафтів.

У вертикальному профілі ландшафтів є гірські породи, які лежать над основою ерозії (Палієнко та ін., 2007). Найдавнішими є докембрійські утворення Українського щита, які оголюються в долинах річок. На схилах Донецької та Середньоросійської височин, у долинах річок спостерігаються

виходи крейди та мергелів. Палеогенові пісковики, глини, вапняки, мергелі широко поширені на північному схилі Причорноморської низовини, долинах річок Наддніпрянщини та Керченського півострова.

У річкових долинах і балках скрізь оголені неогенові піски, глини, пісковики та вапняки. Четвертинні відклади поширені майже повсюди, вони є важливим ландшафтоутворюючим фактором (Коротишка та ін., 2000; Булава, 2008).

У степовій зоні леси впливають на властивості ландшафтів, вони поширені повсюдно, за винятком молодих річкових терас та районів з активними сучасними денудаційними процесами. Самі лесові породи мають різні генетичні властивості завдяки своїм первинним субстратам та процесам ґрунтоутворення. Їх загальними властивостями є пористість, наявність суглинків, просідання, вміст карбонатів. У межиріччі та терасах наявність лесових порід сприяла формуванню зональних степових ландшафтів (Зеленська, 1995).

Північна частина Кримського півострова лежить на молодій скіфській платформі, пізньопалеозойський фундамент якої вкритий потужними мезозойськими та кайнозойськими осадовими покриттями. Рівнинна частина Криму зайнята Північно-Кримською низовиною. На Керченському півострові є особливі форми рельєфу - грязьові вулкани, які під тиском газу метану вивергають глинисті грязі.

Степова зона багата своїми надрами. На схилах Українського щита розробляються родовища залізної руди (Криворізьке, Білозерське), видобуваються нікелеві, графітові, марганцеві руди, будівельні матеріали. Вугілля, нафта і газ (Донбаська, Дніпровсько-Донецька та Причорноморська западини) видобуваються в тектонічних структурах, заповнених густими осадовими шарами (Белова, 1997; Байцар, 2012).

### 2.3. Ґрунти степової зони України

Типовими ґрунтами для степової зони є чорноземи. У північній підзоні переважають чорноземи середньогумусні звичайні. Головну роль в переробці рослинних решток в чорноземах здійснюють не гриби, а ґрунтова фауна (дощові черви, хробаки) та мікрофлора. Причиною є нейтральна, або трохи лужна реакція ґрунтового розчину (Булава, 2008). Найбільший вміст гумусу мають чорноземи Приазовської височини 7,2%. На південь від смуги середньогумусних чорноземів поширені малогумусні, вміст гумусу в них становить 5-5,8% (Мильков, 1970). На плакорах ґрунтовий покрив однорідний, на схилах поширені змиті відміни звичайних чорноземів, на терасових рівнинах розвинуті чорноземи солонцюваті та лучно-чорноземні ґрунти.

На півдні Причорноморської низовини сформувались чорноземи південні (Полупан та ін., 2005). Вони малогумусні, характеризуються глибоким заляганням гіпсового горизонту, лінія закипання на глибині 30-40 см. В староорних районах дуже бажане внесення перегною і мінеральних добрив, в першу чергу – фосфорних, місцями калійних і азотних. Низькою родючістю відрізняються солонці і солонцюваті ґрунти, площі яких стають значними на півдні степової зони.

На півдні степу в умовах різкого дефіциту вологи глибина промивання ґрунтів зменшується (Бацула та ін., 2007). У вбирному комплексі співвідношення кальцію і магнію стає вузьким, тому вздовж межі південних чорноземів формуються солонцюваті їх відміни. На крайньому півдні Причорноморської низовини, у Присивашші, розвинені темно-каштанові й каштанові солонцюваті ґрунти, у комплексі з якими залягають солонпі. Ареал їхнього поширення ґрунтознавці виділяють в окрему сухостепову зону (Палієнко та ін., 2007).

Потужність гумусового горизонту чорноземів південних 40-65 см, кількість гумусу в верхньому шарі 3,5-4,5%; на глибині 100-140 см розташований ущільнений шар гірних порід, на глибині 180-210 см зазвичай спостерігається скупчення гіпсу (Мильков, 1970).

Ґрунтовий покрив степової зони характеризується строкатістю, мінливістю, особливо в середній і південній підзонах. Це пов'язане з чутливістю в умовах степового клімату до впливу ґрунтоутворюючих чинників на формування вертикального профілю ґрунтів та їх ареалів. В умовах степу України формуються деякі азональні типи ґрунтів. На терасах річок виникли лучно-чорноземні ґрунти (Полупан та ін., 2009).

Велика кількість коренів в ґрунті також сприяє його високій структурованості. У степових подах в умовах періодичного промивного режиму сформувались осолоділі глейові ґрунти на півночі, солонці, солончаки і солоді – у середній частині та дерново-глейові солончакуваті ґрунти вздовж морського узбережжя. Ґрунтовий покрив Донецької височини характеризується строкатістю, вертикальною диференційованістю, щебенюватістю (Бацула, 2007; Палієнко та ін., 2007). Степові ґрунти (чорноземи звичайні та південні) мають високу природну родючість.

Також для степової зони характерне утворення деяких азональних типів ґрунтів. В заплавах річок утворилися лучночорноземні ґрунти. Водночас у степовій зоні розвиваються процеси вторинного засолення ґрунтів, коли солонці знову перетворюються в солончаки. Причиною цього є епейрогенічні опускання узбережжя, підйом ґрунтових засолених вод на зрощуваних масивах (Полупан та ін., 2009). Солончаки мають високий вміст солей у верхніх шарах ґрунту, вміст гумусу в них 1-2 %, а на поверхні ґрунту присутня сольова кірка, яка утворюється за рахунок випаровування мінералізованих підземних вод, що знаходяться близько до поверхні.

Формування солодей відбувається у зниженнях рельєфу, у подах, на добре зволжених ґрунтах, в результаті розсолення та вилуговування засолених ґрунтів. Солі при цьому вимиваються на певну глибину, вони лужні та потребують гіпсування. Солончаки, солоді та солонці зовсім не використовують для посадки культурних рослин, вони тільки для випасання худоби. Такі ґрунти потребують меліорації — промивання прісною водою, яку супроводжують заходи, що знижують рівень ґрунтових вод (Палієнко та ін., 2007).

У багатьох районах степової зони активно відбуваються процеси водної та вітрової ерозії ґрунту. Вимиті ґрунти на півдні Середньоруської височини займають до 59% площі, в тому числі частка сильно вимитих ґрунтів становить 8% (Байцар, 2012). У північній частині Донбасу сильно еродовані ґрунти, непридатні для сільськогосподарського використання, становлять 13% загальної площі (Мильков, 1970).

Степова зона належить до найосвоєніших – орні землі займають понад 75% її земельного фонду. Тут вирощують зернові, головним чином озиму пшеницю, овес, кукурудзу, в південних районах – рис. З технічних культур переважають соняшник, соя, рицина, лікарські та ефіроолійні трави (коріандр, шавлія, лаванда). На північному заході зони, в північних степах вирощують цукровий буряк, капусту, дині, кавуни.

На родючість ґрунтів степової зони України дуже впливає кількість рухомого калію, що визначається вмістом мулистої фракції (0,001 мм): Підвищена кількість калію характерна для ґрунтів, що містять 31-55% мулистої фракції. Тому на схилах, де в результаті ерозії вміст мулистої фракції в ґрунті зменшується, відбувається збіднення цих ґрунтів на рухомі форми калію.



Зменшення кількості глинистих і мулистих фракцій в процесі водної ерозії на схилах, збільшення водопроникності та повітропроникності еродованих ґрунтів у поєднанні з оптимальними тепловими та світловими режимами південних схилів створюють сприятливі умови для утворення високоякісних чорноземів (Мильков, 1970).

Піщані ґрунти півдня України розташовані в пониззі Дніпра, Південного Бугу та Дністра. Найбільші їх масиви розташовані на лівому березі Нижнього Дніпра, значно менші – на правому березі Дністровського лиману. Загальна площа нижньодніпровських пісків становить близько 200 тис. га, вони простягаються від Нової Каховки до Чорного моря у вигляді шести більш-менш ізольованих масивів або арен. На південно-західних аренах підземні води залягають на глибині 1,5-2 м (Палієнко та ін., 2007). Через бідність піщаних ґрунтів з поживними речовинами в посушливих степах вони непридатні для польових культур.

Дернові піщані та глинисто-піщані ґрунти степової зони України утворюються у комплексі зі слабогумусними (горбистими) пісками. Низька гігроскопічність цих ґрунтів дозволяє рослинам використовувати майже всю ґрунтову вологу. Усі ці ґрунти бідні поживними речовинами; за вмістом рухомого фосфору їх відносять до групи малогумусних, за вмістом доступного калію – до групи низької продуктивності.

Кліматичні умови для сільського господарства важкі. Зрошення земель необхідне для отримання сталих врожаїв. Уздовж полів створюються захисні лісосмуги для запобігання вітрової ерозії. У зв'язку з нестачею вологи на орних землях основним заходом підвищення родючості земель степової зони є зрошення, яке здійснюється на великих площах. Великими зрошувальними системами є Каховська, Інгулецька, Краснознам'янська, Північна, Кримський канал (Байцар, 2012).

## 2.4. Клімат та гідрологія степової зони України

Клімат зони степу – помірний континентальний. Південно-західне розташування степової зони відносно її євразійського простягання зумовлює кліматичні характеристики, зокрема величини сонячної радіації, теплових ресурсів, характер зволоженості, тривалість безморозного і вегетаційного періодів (Сажин и др., 2012). За низької вологості повітря досить часто бувають суховії, посухи, пилові та чорні бурі. Мала хмарність, абсолютна вологість невисока.

Степова зона України відрізняється від інших найбільшими різницями температур між взимку та влітку. Літо степової зони сонячне посушливе, спекотне та довге. Осінь доволі тепла, а у другій половині йдуть затяжні дощі. Зима коротка, морозна, малосніжна, у першій половині часто йдуть дощі. Весна настає рано, дощова у першій половині, у третій декаді через різке підвищення температури повітря волога з ґрунту швидко випаровується. Теплий сезон у степовій зоні України близько 7 місяців (Мильков, 1970). Ще одна особливість степової зони – різкий перепад денної і нічної температури, так як вночі температура може падати на 15-18°C.

Середні температури січня зменшуються на схід від  $-1^{\circ}\text{C}$  до  $-9^{\circ}\text{C}$ , а липня – збільшуються в тому самому напрямку від  $+20^{\circ}\text{C}$  до  $+23^{\circ}\text{C}$ . Безморозний період триває 160–220 днів, а період активної вегетації 160-295 днів. Середні річні температури повітря підвищуються від  $+7,5^{\circ}\text{C}$  на північному сході до  $+11^{\circ}\text{C}$  на південному сході зони. На півночі надходження тепла становить близько  $4100 \text{ МДж/м}^2$ , а на півдні приблизно  $5320 \text{ МДж/м}^2$ . Тепловий баланс земної поверхні за рік коливається від 1900 до  $2210 \text{ МДж/м}^2$ . Степова зона знаходиться на південь від осі підвищеного атмосферного тиску (осі Воейкова). Це впливає на характер атмосферної циркуляції (Бабіченко та ін., 2007).

Тут при загальному переважанні західного перенесення вологих повітряних мас у формуванні степового клімату велику роль відіграють східні й північно-східні континентальні, а також середземноморські тропічні повітряні маси. Часто атлантичні циклони не досягають степової зони, що є причиною менших, порівняно з лісостеповою зоною, річних сум опадів. Річна кількість опадів зменшується від 450 мм до 300 мм з північного заходу на південний схід (Сажин и др., 2012). Найсухіше місце в Україні – Тендрівська коса, де середньорічна кількість опадів становить 291 мм, а абсолютний мінімум – 100 мм.

Найбільша кількість з них випадає влітку, в середньому 35-40 мм на місяць. Однак літні опади недостатньо ефективні: високі температури повітря та сильні вітри, які спостерігаються в останні місяці, викликають сильне випаровування (до 80-95% річних опадів). Сніговий покрив нестійкий, утворюється з грудня до кінця лютого. У Присивашші, на узбережжі Каркінітської затоки, сума їх найменша – 300 мм на рік. До 60-70 % річних опадів випадає в теплий період року (Пашков, 2009).

Характерною особливістю степів є висока випаровуваність: 700-880 мм на півночі й 900-1000 мм на рік на півдні зони. Коефіцієнт зволоження змінюється від 1,2 до 0,8. Дефіцит вологи в степовій зоні впливає на сучасні фізико-географічні процеси та формування гідрографічної мережі (Мильков, 1970). Остання в степу є мало розвиненою: середня її густота становить 0,08-0,005 км/км<sup>2</sup>. А в Причорноморській низовині є райони, де поверхневі води стікають до подів. Невеликі також модулі стоку: 0,5-1 л/с-км<sup>2</sup>. Стік формується переважно за рахунок талих снігових вод, які дають 70-80% річного стоку. Атмосферні опади влітку витрачаються передусім на випаровування (Полупан та ін., 2009).

У режимі степових річок спостерігаються короткочасна та висока весняна повінь і низька літня межень. Підвищення рівнів можливе влітку під час злив. Зазначені кліматичні умови степової зони є причиною бідності річкової мережі. Через відсутність атмосферних опадів щільність річкової

мережі мала. Найбільші річки – транзитні: Дніпро, Дністер, Південний Буг, Сіверський Донець, Дунай з притоками. Притока Дніпра - Орел, Інгулець, Самара, а також Берда, Інгул, Кальміус, Молочна повністю формують їх течію в межах степової зони. Середня щільність річкової мережі становить 0,2-0,1 км/км<sup>2</sup>. Ріки неглибокі, у верхів'ях часто пересихають. Місцевий стік утворений талим снігом. Річкові та підземні води сильно мінералізовані. Великою проблемою є загибель малих річок (Вишневецький та ін., 2003). Причини пересихання: уповільнення течії, замулення та цвітіння води, штучні дамби та водосховища. У межах степів великі річки приймають мало приток. Малі річки є найважливішим компонентом степового ландшафту, виконують важливу екологічну роль. Вони виконують функцію накопичення і перерозподілу вологи в природних комплексах.

Живлення річок забезпечується переважно за рахунок талих снігових вод. Їхньому режиму властиві короткочасна та висока весняна повінь і низька літня межень. Виняток становлять річки, які дренують Середньоруську, Донецьку і Приазовську височини та живляться підземними водами. Короткі річки маловодні, влітку можуть у верхів'ях пересихати. Деякі несуть воду до полів. Унаслідок затоплення гирла річок морем утворилися відкриті й закриті лимани: Дніпровсько-Бузький, Дністровський, Молочний, Хаджибейський, Тилігульський, Куяльницький (Сажин и др., 2012).

У степовій зоні є багато прісних і солоних озер. Солоність води озер, розташованих на півночі Криму, дуже висока і становить 212‰. Влітку солоність вища, ніж взимку. Тут розміщені Червоне, Кияцьке, Кирлеуцьке, Старий, Айгульцьке озера. Самосадна сіль, яку інтенсивно добувають ще з княжих часів, – є цінним мінерально-сировинних ресурсом (Мильков, 1970).

У зоні степу розташовані найбільші за площею озера в Україні. Численні озера лиманного походження зосереджені, переважно, на півдні Одещини Кундук та західному узбережжі Кримського півострова – Сиваш,

Сакське, Донузлав. У долині Дунаю є великі заплавні озера: Ялпуг, Кугурлуй, Кагул (Полупан та ін., 2009). Атмосферні опади не відіграють значної ролі у формуванні ґрунтових вод. Підземні води в залежності від рельєфу, геологічної будови і складу порід залягають на глибині 7-10 м і мають різні хімічні властивості (Полупан та ін., 2009).

Кращі умови для цього є в північній підзоні на малодренованих рівнинах, де ґрунтові води залягають на глибині від 5 до 20 м (Пащенко, 1985). У степу річкові й ґрунтові води мають високу мінералізацію (Мильков, 1970). Вона змінюється в широких межах: від 1-5 до 10-50 г/л, осолення переважно сульфатне, хлоридно-сульфатне, а на півдні Причорноморської низовини – хлоридне. В Україні є сім підземних басейнів, два з яких знаходяться в степовій зоні, Дніпровсько-Донецький (має 50% запасів підземних прісних вод, експлуатуються) та Причорноморський. Глибина залягання їх водоносних горизонтів становить 175-500 м. У степовій зоні мало боліт. Найбільшими з них є Кардашинське серед Олешківських пісків, болота в пониззях Дніпра, Дністра, Дунаю (Вишневецький та ін., 2003).

Для перерозподілу річкового стоку в райони з дефіцитом води прокладено канали та зрошувальні системи, що наповнюються водами Дніпра та Сіверського Дінця. Великими зрошувальними системами є Каховська, Інгулецька, Північнокримська (Сажин и др., 2012). Для водопостачання промислових міст Донбасу і Придніпров'я прокладені канали Дніпро – Донбас, Сіверський Донець – Донбас, Дніпро – Кривий Ріг. На Дніпрі створено водосховища: Дніпродзержинське, Дніпровське, Каховське.

## 2.5. Флора степової зони України

В межах степу виділяють три підзони: різноманітні рівно-типчаково-ковилові степи, типчаково-ковилові степи, пустельні полинно-злакові степи (Барсов, 1998). У північному степу в минулому панували різнотравно-типчаково-ковилові степи, у центральній частині зони – типчаково-ковилові, у приморській смузі та Присивашші – розріджені типчаково-ковилові та полиново-типчакові степи (Кошелев та ін., 1997). Лише північна частина степової зони буває вкрита лісом і чагарниками, там бувають лише байраки, де переважає дуб черешчатий (*Quercus robur* L.), липа звичайна (*Tilia cordata* Mill.), клен польовий (*Acer campestre* L.), клен звичайний (*Acer platanoides* L.), ясен звичайний (*Fraxinus excelsior* L.), берест (*Ulmus minor* Mill.), глід колючий (*Crataegus oxyacantha* L.), шипшина звичайна (*Rosa canina* L.), мигдаль (*Prunus dulcis* Mill.), степова вишня (*Prunus fruticosa* Pall.), ліщина звичайна (*Corylus avellana* L.). Лісистість степової зони становить лише 3 % (Бельгард, 1950). Середня лісистість становить лише 3%, причому з усієї лісопокритої площі близько 39% займають насадження з дуба, 33% – соснові, 6% – ясеневі та інші.

Північностепову підзону також населяють: тюльпан лісовий (*Tulipa sylvestris* L.), шафран весняний (*Crocus vernus* L.), мишачий гіацинт (*Muscari botryoides* L.), горицвіт весняний (*Adonis vernalis* L.), степові півники (*Iris pontica* Zapał.), копитняк європейський (*Asarum europaeum* L.), фіалка запашна (*Viola odorata* L.), зірочник ланцетоподібний (*Stellaria holostea* L.), півонії вузьколистої (*Paeonia tenuifolia* L.), шавлія лікарська (*Salvia officinalis* L.), волошка синя (*Centaurea cyanus* L.), конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.), конюшина повзуча (*Trifolium repens* L.), конюшина сумнівна (*Trifolium dubium* Sibth.), медуниця темна (*Pulmonaria obscura* Dumort.).

Геоботаніки відносять українські степи до великої Євразійської степової області. У природних ландшафтах їх до розорювання на плакорах домінували дернинні злаки: ковила Лессінга (*Stipa lessingiana* Trin. et Rupr.), ковила українська (*Stipa ucrainica* P.A.Smirn.), ковила Залеського (*Stipa zalesskii* Wilensky), костриця борозниста (*Festuca rupicola* Heuff.), стоколос (*Bromus inermis* Leyss.), кипець короткий (*Koeleria brevis* Steven.), типчак Беккера (*Festuca beckeri* Hack.), житняк гребінчастий (*Agropyron cristatum* L.), тонконіг звичайний (*Poa trivialis* L.) та інші. У степовому різнотрав'ї представлені півонія вузьколиста, катран татарський, шавлія поникла та австрійська, полини, кермек (Бельгард, 1950; Кучеревський, 2001).

Солончаки, солонці та солоді населені галофітами та галофітоїдами: солонець європейський (*Salicornia europaea* L.), полин сантонінський (*Artemisia santonica* L.), айстра солончакова (*Tripolium vulgare* Nees.), кермек південнобузький (*Limonium hupanicum* Klok.), тамарикс стрункий (*Tamarix gracilis* Willd.), содник солончаковий (*Suaeda salsa* L.), подорожник солончаковий (*Plantago salsa* Pall.), покісниця розставлена (*Puccinellia distans* Parl.), галіміона бородавчаста (*Halimione verrucifera* M.) (Бельгард, 1950; Кошелєв та ін., 1997; Кучеревський, 2004).

Природна степова рослинність збереглася в заповідниках: Українському степовому, Луганському, Асканія-Нова, Чорноморському, Дунайських плавнях. У степовій зоні наявні також лучні й болотні рослинні угруповання (Антонец, Барсов, 1998, 2000). Степова флора відрізняється від різнотравно-лучних угруповань лісостепу. В степу домінують багаторічні ксерофільні злаки, а різнотрав'я має підпорядковане значення.

У степових фітоценозах більше ефемерів та ефемероїдів (Дідух та ін., 2007): гостриця лежача (*Asperugo procumbens* L.), тонконіг однорічний (*Poa annua* L.), зірочник середній (*Stellaria media* (L.) Vill.), вероніка весняна (*Veronica verna* L.), анемона жовтецева (*Anemone ranunculoides* L.), белевалія сарматська (*Bellevalia sarmatica* Pall. ex Mischz.), рясст щільний

(*Corydalis solida* L.), гіацинтик блідий (*Hyacinthella leucophaea* L.), проліска дволиста (*Scilla bifolia* L.). У розподілі рослинного покриву простежуються підзональні відмінності. У річкових заплавах є ліси з осокорів, верб: осика звичайна (*Populus tremula* L.), верба попільняста (*Salix cinerea* L.).

Поширені чагарники з терену колючого (*Prunus spinosa* L.), бруслини європейської (*Euonymus europaea* L.), повію звичайного (*Lycium barbarum* L.), бузини чорної (*Sambucus nigra* L.), жовтої акації (*Caragana arborescens* Lam.), та ін. (Бельгард, 1950, 1971). Між окремими Олешківськими піщаними аренами ростуть дубово-березові гаї (Дідух та ін., 2007). На Азово-Чорноморських прибережних злаково-полинних степах поширені: тимофіївка степова (*Phleum phleoides* L.), житняк гребінчастий (*Agropyron cristatum* L.), типчак Беккера (*Festuca beckeri* Hack.), полин Бошняка (*Artemisia boschniaksatta* Besser.), полин кримський (*Artemisia taurica* Willd.), Кермек звичайний (*Limonium vulgare* L.), камфоросма однорічна (*Camphorosma annua* Pall.), сарсазан хвойний (*Halocnemum strobilaceum* Pall.), льон австрійський (*Linum austriacum* L.), вероніка лікарська (*Veronica officinalis* L.), синяк звичайний (*Echium vulgare* L.), ковила волосиста (*Stipa capillata* L.), маруна дівоча (*Tanacetum parthenium* L.), кринітарія волохата (*Crinitaria villosa* L.) (Лавренко, 1954).

Штучні лісові насадження степової зони представлені лісосмугами, лісовими рекультиваційними насадженнями, що складаються з: дубазвичайного (*Quercus robur* L.), клена гостролистого (*Acer platanoides* L.), жовтої акації (*Caragana arborescens* Lam.), в'яза граболистого (*Ulmus carpinifolia* Rupp. ex G. Suckow), ясена звичайного (*Fraxinus exelsior* L.), осики звичайної (*Populus tremula* L.), гледичії колючої (*Gleditsia triacanthos* L.), сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) клена польового (*Acer campestre* L.), клена ясенелистого (*Acer negundo* L.), робінії звичайної (*Robinia pseudoacacia* L.); в'яза гладкого (*Ulmus laevis* Pall.), береста (*Ulmus minor* Mill.) тощо (Кучеревський 2001, 2004).



## 2.6. Фауна степової зони України

Фауна степової зони дуже різноманітна. Із ссавців характерними є: ховрах сірий (*Spermophilus rugtaeus* Pallas.), ховрах крапчастий (*Spermophilus suslicus* L.), бабак степовий (*Marmota bobak* Muller.), миша польова (*Apodemus agrarius* Pall.), мишак степовий (*Sylvaemus witherbyi* Thomas.), хом'як звичайний (*Cricetus cricetus* L.), сліпак звичайний (*Spalax microphthalmus* Guld.), сліпачок степовий (*Ellobius talpinus* Pall.), заєць сірий (*Lepus europaeus* Pall.), тхір степовий (*Mustela eversmanni* Less.), куна кам'яна (*Martes foina* Erx.), ласка звичайна (*Mustela nivalis* L.), горностаї (*Mustela erminea* L.), вовк (*Canis lupus* L.), лис звичайний (*Vulpes vulpes* L.), кріт європейський (*Talpa europaea* L.), борсук європейський (*Meles meles* L.), їжак звичайний (*Erinaceus europaeus* L.), козуля європейська (*Capreolus capreolus* L.) (Барсов, 1975).

Серед птахів степової зони домінуючими є: жайворонок степовий (*Melanocorypha calandra* L.), польовий жайворонок (*Alauda arvensis* L.), перепілка (*Coturnix coturnix* L.), сорокопуд чорнолобий (*Lanius minor* Gmelin.), фазан (*Phasianus colchicus* L.), сіра куріпка (*Perdix perdix* L.), синиця велика (*Parus major* L.), шпак звичайний (*Sturnus vulgaris* L.), горобець хатній (*Passer domesticus* L.), одуд (*Upupa epops* L.), сорокопуд-жулан (*Lanius collurio* L.), сорока звичайна (*Pica pica* L.), боривітер звичайний (*Falco tinnunculus* L.), канюк звичайний (*Buteo buteo* L.), шуліка чорний (*Milvus migrans* B.), кібчик (*Falco vespertinus* L.), малий яструб (*Accipiter nisus* L.). Та рідкісні тепер: стрепет (*Tetrax tetrax* L.), дрохва (*Otis tarda* L.), журавель степовий (*Anthropoides virgo* L.). На берегах лиманів та на узбережжі морів зустрічаються гуска сіра (*Anser anser* L.), чапля сіра (*Ardea cinerea* L.), чапля руда (*Ardea purpurea* L.) (Акимов, 1948).

З плазунів зустрічаються: прудка ящірка (*Lacerta agilis* L.), ящурка піщана (*Eremias arguta* Pall.), ящірка живородна (*Zootoca vivipara* Jac.), полоз жовточеревий (*Coluber jugularis* L.), вуж водяний (*Natrix tessellata* L.), гадюка степова (*Vipera renardi* Bon.), вуж звичайний (*Natrix natrix* L.), черепаха болотна (*Emys orbicularis* L.).

Земноводні степової зони представлені: жабою ставковою (*Pelophylax esculenta* L.), ропухою сірою (*Bufo Bufo* L.), кумкою червоночервою (*Bombina bombina* L.), землянкою звичайною (*Pelobates fuscus* Laur.), жабою гостромордою (*Rana arvalis* N.) та іншими (Акимов, 1948).

У річках і озерах зони степу водяться: карась срібний (*Carassius auratus* L.), сом європейський (*Silurus glanis* L.), щука звичайна (*Esox lucius* L.), окунь річковий (*Perca fluviatilis* L.), короп звичайний (*Cyprinus carpio* L.), судак (*Stizostedion lucioperca* L.) тощо.

Серед молюсків степової зони домінуючими є: великий ставковик (*Lymnaea stagnalis* L.), равлик великий звичайний (*Helix albescens* Rossmässler), перловиця звичайна (*Unio pictorum* L), ставковик малий (*Galba truncatula* Müll.), слизняк великий звичайний (*Limax maximus* L.), равлик виноградний (*Helix pomatia* L.).

Велике значення у зоомасі мають безхребетні ґрунтові мешканці, від 0,5 т/га в 30 см шарі ґрунту на півночі, до 0,05 т/га на крайньому півдні степової зони. Найчисленішу групу займають комахи.

## РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1. Методи проведення польових досліджень

У зелених насадженнях міста Дніпро, як об'єкт досліджень, були виділені вісім груп модельних дерев гіркокаштана звичайного 20-30-річного віку із близькими морфолого-таксаційними ознаками, але з різним ступенем ураженості листків мінером *C. ohridella* (рис. 3.1).

Дослідна ділянка 1 локалізована в сквері Металургів (48°28'26"N, 34°59'31"E), який відноситься до західної Правобережної частини міста і характеризується найбільшим нагромадженням промислових підприємств. Найближчим серед них є Коксохімічний завод «Дніпрококс» «Дніпровський металургійний завод». Висота над рівнем моря – 94 м.

Дослідна ділянка 2 знаходиться в парку Мануйлівський (48°29'13.3"N, 35°03'40.6"E), який розташовано на відстані 1,75 км у південному напрямку від трубопрокатного заводу імені Карла Лібкнехта. Висота над рівнем моря – 56 м.

Дослідна ділянка 3 локалізована в Центральному парку імені Тараса Григоровича Шевченка (48°27'48"N, 35°4'23"E). Деревя гіркокаштана звичайного знаходяться в центральній частині парку на відстані 100 м від автошляху. Висота над рівнем моря – 82,5-100 м.

Дослідна ділянка 4 розташована в лісопарку Дружба (48°32'2"N, 35°5'42"E). Знаходиться у лівобережній частині міста. Основним стаціонарним джерелом викидів шкідливих речовин в атмосферу є трубопрокатний завод імені Карла Лібкнехта. Висота над рівнем моря – 65-68 м.



Рис. 3.1. Локалізація насаджень гіркокаштану звичайного на території міста Дніпро, на яких проводили збір матеріалу та підрахунок мін *S.ohridella*, 1986, що були утворені на *A. hippocastanum* : 1 – сквер Металургів; 2 – парк Мануйлівський; 3 – парк ім. Т.Г. Шевченка; 4 - парк Дружби народів; 5 - парк ім. Л. Глоби; 6 - парк Молодіжний; 7 - Ботанічний сад ДНУ ім. Олесья Гончара; 8 - парк Придніпровський.

Дослідна ділянка 5 локалізована в парку імені Лазаря Глоби ( $48^{\circ}28'11''\text{N}$ ,  $35^{\circ}1'48''\text{E}$ ). Розташований у центральній частині міста, яка характеризується інтенсивним рухом автотранспорту. Відноситься до найстаріших та найбільших за площею у місті. Висота над рівнем моря – 56-68 м.

Дослідна ділянка 6 розташована на території парку Молодіжний на відстані 50 метрів від автомагістралі ( $48^{\circ}29'8''\text{N}$ ,  $34^{\circ}56'42''\text{E}$ ). Відноситься до західної правобережної частини міста і характеризується найбільшою кількістю промислових підприємств, а також інтенсивним рухом транспорту. Висота над рівнем моря – 57-82 м.

Дослідна ділянка 7 локалізована в центрі Ботанічного саду ДНУ імені Олеся Гончара ( $48^{\circ}26'14''\text{N}$ ,  $35^{\circ}02'35''\text{E}$ ). Цій території притаманні найменші концентрації важких металів. Висота над рівнем моря – 127-149 м.

Дослідна ділянка 8 розташована на території парку Придніпровський ( $48^{\circ}23'59''\text{N}$ ,  $35^{\circ}7'59''\text{E}$ ). Найбільшим джерелом викидів у цій східній частині міста є Придніпровська ТЕС, яка не виявляє суттєвого впливу на забруднення повітряного басейну, оскільки викиди здійснюються через високі труби, що призводить до віддалення зони максимального забруднення (Станкевич, 2013). Значна частина викидів відноситься до слаботоксичних речовин 3 та 4 класів небезпеки, концентрації важких металів нижчі, ніж в інших частинах міста (Пасічний та ін., 2002). Висота над рівнем моря 69-75 м.

Також дослідження проводилися на території Національного природного парку «Великий Луг» та на території Регіонального ландшафтного парку «Тилігульський».

Національний природний парк «Великий луг», село Скельки, Василівського району Запорізької області (47.43°25'72"N, 35.06°78'45"E). Національний парк має площу 16756 га. Територія розташована в Запорізькій області за 15–18 км на південь від міста Запоріжжя, в межах заплавної тераси Дніпра, що сягає понад 20 км за профілем «Біленьке – Василівка» (північно-східна частина Каховського водосховища). Завдяки своєму розташуванню на території НПП знаходяться майже всі варіанти екосистем, притаманні степовій зоні України: степові, лучні, лісові та болотяні. На території НПП «Великий Луг» досліджено посадку гіркогокаштанів в межах села Скельки. Висота над рівнем моря 74 м.

Регіональний ландшафтний парк «Тилігульський», село Ташине, Березанського району Миколаївської області (46.91°46'98"N, 31.11°30'80"E). Загальна площа 8195,4 га, включає узбережжя і прилеглі акваторії Тилігульського лиману (вважається одним з найчистіших лиманів Північно-Західного Причорномор'я) в межах Березанського району Миколаївської області. Ландшафтний парк – одне з небагатьох водно-болотних угідь, де збереглися природні морські ландшафти. На території РЛП «Тилігульський» досліджено посадку гіркогокаштанів в межах села Ташине. Висота над рівнем моря 15 м.

Оскільки в місті Дніпро не було знайдено абсолютно непошкодженого фітофагом *C. ohridella* дерев гіркогокаштана звичайного, за контроль взяті насадження з низьким (8,67%) ураженням рослин листовим мінером. Найменшими (8,67%) рівні пошкодження листових пластинок дерев гіркогокаштана виявились в умовах територій парків Мануйлівський, Придніпровський і Молодіжний.

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

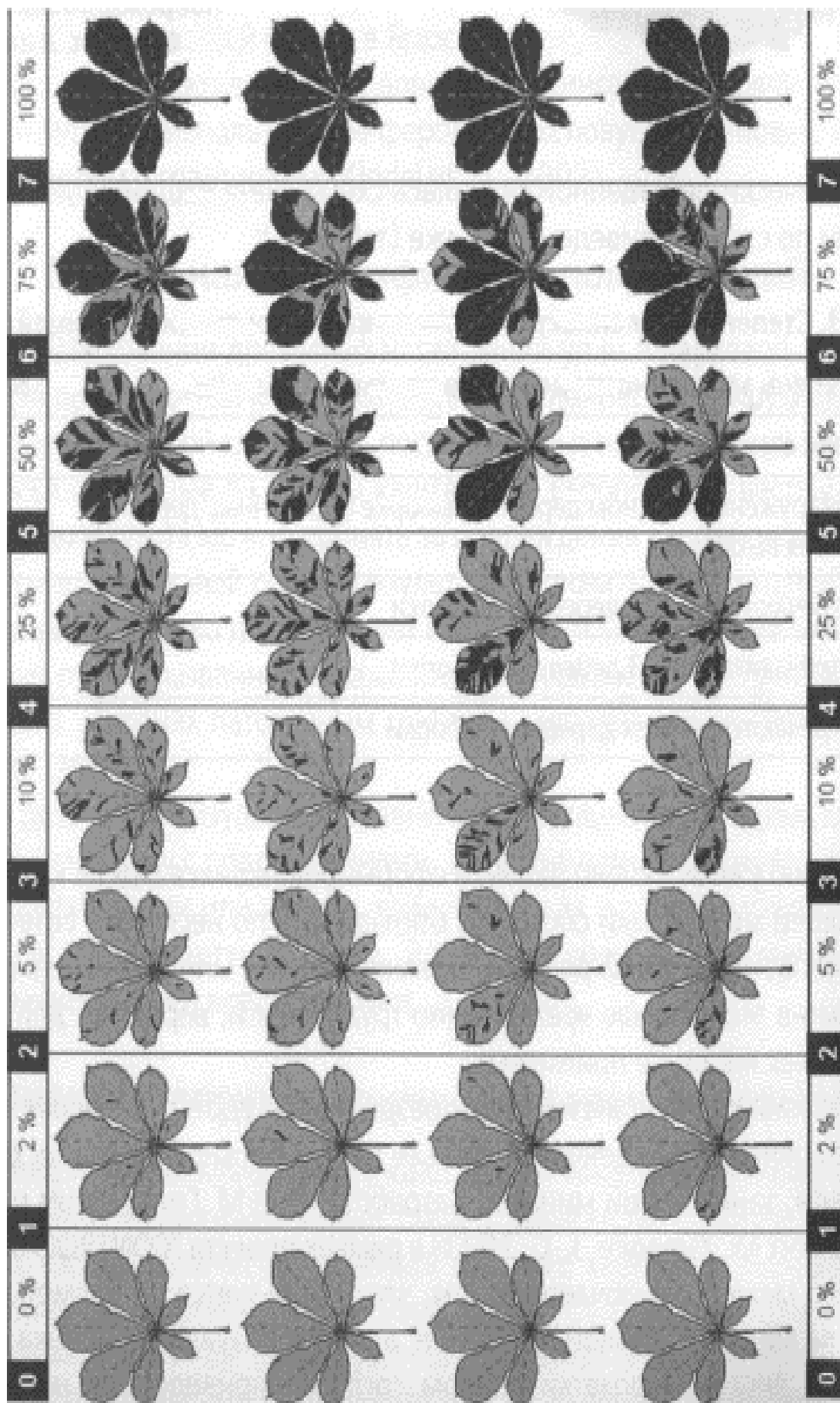


Рис. 3.2. Визначення ступеню ураження *S. ohridella* пошкодженого листя *A. hippocastanum* в залежності від загальної площі мін (за Зеровою, 2007)

Для озеленення урбанізованого міста використовують три основних типи насаджень: лінійні (алейні), групові та одиночні. Лінійні посадки використовують для оформлення скверів, алей, бульварів, площ. Висадку рослин при цьому проводять в один або два ряди в шахматному розташуванні однієї або декількох порід. Групові посадки декоративних рослин складають з одних дерев або чагарників або і тих, і інших разом. Залежно від величини в групах, дерева розміщують на відстані 1-1,5 до 3-4 і більше метрів, а чагарники 0,7 до 1-3 м. Більші чагарники висаджують на відстані 1-3 м, середні – 0,8-1,5 м, дрібні – 0,7 м. Деревя і чагарники в групах розміщують вільно, без дотримання шахового, рядового або іншого порядку. Однорідні посадки рослин – декоративні ордінари, висаджені серед газонів, полів, галявин. Для одиночних посадок йдуть чагарники з ефектними формами або деревні породи.

Моніторинг популяції *C. ohridella* також здійснювався за рахунок нічного відлову імаго на світло. Збір проводили протягом 5-7 ночей з 21.00 години вечора до 03.00 години ночі. Для нічного лову використовували: лампу ДРЛ-250, екран з білої бязевої тканини, морилки та хлороформ. Морилки застосовували зі скла з широкою шийкою, на одну чверть висоти заповнену спресованою ватою, просоченою хлороформом. Після кожного збору проводили сортування спійманих імаго за допомогою ентомологічного пінцету. Кожен екземляр імаго викладали на ентомологічний конверт (матрасик), попередньо зробивши на ньому відмітки дати та місця збору імаго.

Нами проводилися дослідження лінійних та групових посадок *A. hippocastanum*. Листя середньої формації по 5-7 штук відбирали на річному вегетативному прирості з нижньої третини крони південної експозиції в суху ясну погоду в період масового заселення (липень-серпень) 2018 – 2020 років від п'яти дерев гіркокаштана звичайного одночасно з кожної дослідної ділянки. Всього досліджено 40 дерев.



### 3.2. Метод визначення вмісту важких металів.

Для дослідження вмісту важких металів у листових пластинках *A. hippocastanum* методом атомно-абсорбційного аналізу було використано і підготовлено близько 96 проб. Дослідний матеріал було відібрано у восьми паркових зонах міста Дніпро: сквер Металургів, парк Мануйлівський, парк імені Тараса Григоровича Шевченка, парк Дружби народів, парк імені Лазаря Глоби, парк Молодіжний, Ботанічний сад ДНУ імені Олеса Гончара, парк Придніпровський.

На цих дослідних ділянках були виділені вісім груп модельних дерев *A. hippocastanum* приблизно 20-30-річного віку з різним ступенем ураженості листових пластинок мінером *C. ohridella*, але схожими морфолого-таксаційними ознаками.

Листя середньої формації по 5 штук відбирали на річному вегетативному прирості з нижньої третини крони південної експозиції в суху ясну погоду в середині липня 2018 року від п'яти дерев гіркокаштана звичайного одночасно з кожної дослідної ділянки (всього досліджено 40 дерев).

Листкові пластинки *A. hippocastanum* дегідратували у фарфорових тиглях за допомогою сушильної шафи при  $t^{\circ} = 100^{\circ}\text{C}$ . Електронними вагами AXIS AD500 сухий залишок листків гіркокаштана звичайного зважували з точністю до 0,001 г (необхідна маса для аналізу становила 0,5–1,0 г).

Потім у муфельній печі при  $t^{\circ} = 450^{\circ}\text{C}$  проводили зоління. Золу насипали до конічної колби та додавали 0,5 мл концентрованої азотної кислоти та 0,5 мл бідистильованою води. Отриманий розчин доводили 10 мл дистилляту та фільтрували за допомогою беззольних фільтрів.

Далі промивали тигель 10 мл бідистильованої води та доводили об'єм розчину до 25 мл. У пробах аналізувалася вміст таких елементів, як цинк (Zn), мідь (Cu), свинець (Pb) та кадмій (Cd).

Вміст важких металів у листових пластинках *A. hippocastanum* визначали з використанням методу атомно-абсорбційної спектрофотометрії на спектрофотометрі ААС-30 за стандартною методикою И.П. Хавезова, 1983. Результати розраховували за формулою:

$$C_0 = \frac{C_1 \times V}{P}$$

Де  $C_0$  – показник вмісту важких металів в листових пластинках *A. hippocastanum*, мг/кг сухої маси;

$C_1$  – концентрація металу в 1 мл розчину (мкг/мл);

$V$  – об'єм розчину, мл;

$P$  – маса наважки листових пластинок гіркокаштана (суха маса), г.

Ряд важких металів, таких як Pb, Cd, Cu, Zn, можуть накопичуватися в токсичних концентраціях у ґрунтах та атмосфері міських районів. Таким чином, останнім часом у всьому світі спостерігається проблема підвищеного забрудненням важкими металами атмосфери, ґрунту та води. (Kuleff, 1993).

### 3.3. Методи дослідження впливу *C. ohridella* на біохімічні процеси листків *A. hippocastanum*

Після візуальної оцінки листки використовували для біохімічних досліджень. Для аналізів брали тільки зелені частини листка гіркокаштана звичайного без мін.

Виділення ферментного препарату. Гомогенізований рослинний матеріал гіркокаштана (0,3 г) екстрагували 6 мл 0.1 М трис-НСІ буфером (рН 7,4) при + 4<sup>0</sup>С протягом однієї години. Екстракти центрифугували на центрифугі К-24 (Німеччина) при 14000 g 15 хвилин, які використовували для визначення вмісту легкорозчинних білків (ЛРБ) й активності та складу бензидин-пероксидази (BPOD), гваякол-залежної пероксидази (GPOD) та каталази (CAT).

Вміст легкорозчинних білків визначали колориметрично (прилад КФК-3) для загального грубого екстракту білкового препарату за методом Bradford (1976) з барвником Coomassie brilliant blue G 250 (Serva, USA), використовуючи альбумін сироватки бика (Serva, USA) як стандарт і виражали в мг/г.

Визначення активності пероксидази. Активність бензидин-пероксидази (BPOD, ЕС 1.11.1.7.) визначали за Gregory (1966). Зміни оптичної густини реєстрували за 1 хвилину при 490 нм після додавання 1 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> до реакційної суміші (оцтовий буфер, рН 6,0, 0,02 мМ бензидин і 0,2 мл зразка).

Вимірювання проводили у циклічному режимі: 6 циклів по 10 секунд протягом 1 хвилини. Контролем слугував розчин, який складався з 1 мл буферу +1 мл бензидину +1 мл 1% перекису водню.

Загальну активність пероксидази розраховували за формулою:

$$A = D \cdot a \cdot b \cdot c / V_{\text{зразка}} \cdot l \cdot t$$

де  $D$  – величина оптичної густини, знайдена експериментальним шляхом у циклі;

$a$  – відношення кількості рідини, яку взяли для приготування витяжки в мл до ваги наважки в г;

$b$  – ступінь додаткового розведення витяжки в реакційній суміші;

$c$  – ступінь постійного розведення витяжки в реакційній суміші;

$V_{\text{зразка}}$  – кількість супернатанту для аналізу;

$l$  – товщина шару рідини в кюветі;

$t$  – час за хв.

Результат виражали в опт. од. / г сирої речовини · хв.

Ізоелектричне фокусування (ІЕФ) пероксидази в поліакриламідному гелі (ПААГ). Ізоферментний склад бензидин-пероксидази визначали методом ізоелектричного фокусування (ІЕФ) в 5% горизонтальному поліакриламідному гелі (ПААГ) на приладі Ultrophor (LKB, Bromma, Sweden), діапазон рН 3.5-6.5. Електродними розчинами слугували 0,04 М L-глутамінова кислота (аноліт) і 1 М розчин NaOH (католіт).

Виміри рН проводили безпосередньо на гелі з 1-см інтервалом за допомогою мікроелектрода (LKB 2117-111 Multiphor Surface Electrodes) при +10°C. Значення ізоелектричних точок (pI) ізоформ визначали за калібрувальною кривою. Забарвлені гелі сканували та аналізували за комп'ютерною програмою 1D Phoretix.

Визначення активності гваякол-пероксидази. Активність гваякол-залежної пероксидази (GPOD, EC 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Результати розраховували з урахуванням молярного коефіцієнту екстинкції (26.6 мМ<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>) і виражали в мМ тетрагваяколу / г · сирії речовини × хв.

Визначення активності каталази. 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> і 4% молібдатом амонію.

Результати розраховували з урахуванням коефіцієнту екстинкції (22.2 М<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>) і виражали у мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / мг білку хв.

Подальші дослідження окиснювального метаболізму дуже важливі для розуміння формування стійкості представників роду *Aesculus* до каштанового мінера з використанням більш широкого набору окиснювально-відновних ферментів.

### 3.4. Статистична обробка даних

Статистична обробка отриманих даних здійснена шляхом розрахунку середнього значення ( $\bar{x}$ ), медіани (M) і середньоквадратичного відхилення (SD), коефіцієнта варіації (CV, %), мінімального та максимального значень (Min–Max).

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 гіркокаштана звичайного за контроль взяті насадження з низьким (8.67%) ураженням рослин мінером.

Особливості заселення каштановим мінером різних урбоекосистем аналізували за допомогою побудови загальної лінійної моделі впливу вмісту важких металів, висоти рельєфу та місяця на пошкодження листових пластин ( $R^2_{adj} = 0.69$ ,  $F = 23.4$ ,  $p < 0.001$ ) та загальної лінійної моделі впливу вмісту важких металів, типу біогеоценозу та року на кількість мін ( $R^2_{adj} = 0.97$ ,  $F = 364.3$ ,  $p < 0.001$ )

Залежність параметрів заселення від висоти рельєфу відобразили лінією апроксимації за методом зваженої дистанції.

#### РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ ЗАСЕЛЕННЯ *C. OHRIDELLA* РІЗНИХ ТИПІВ ПАРКОВИХ УРБООКОСИСТЕМ В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОЇ АГЛОМЕРАЦІЇ (НА ПРИКЛАДІ М. ДНІПРО)

Вивчення біології та екології *C. ohridella*, а особливо екологічної ніші, може призвести до знаходження методів обмеження негативного впливу на *A. hippocastanum* та близько споріднений і дуже чутливий *Aesculus turbinata* Blume (Baraniak, 2019). Підвищена вологість або велика кількість азоту у ґрунті побічно покращують продуктивність *C. ohridella*, але інформації про вплив важких металів та орографічних особливостей місцевості не має. Абіотичні чинники належать до числа модифікуючих і впливають на динаміку популяції незалежно від її чисельності. У деяких окремих випадках вони можуть спровокувати спалах масового розмноження або різкий спад чисельності фітофага.

Дослідження впливу загазованості повітря на стан насаджень *A. hippocastanum* й швидкість ураження й розповсюдження *C. ohridella* показало, що вулиці з різною інтенсивністю руху мають статистично різний значущий вплив на морфологічні параметри гіркокаштана. Результати кореляційного аналізу показали, що існують зв'язки між ураженням листя *C. ohridella* та дехромацією листя й загальною дефоліацією крони. Чим вища ступінь загазованості, тим більший ступінь пошкодження насаджень *A. hippocastanum*, але погіршення стану гіркокаштана залежить не тільки від забруднення повітря, а й від ураження каштановим мінером (Salleo, 2003).

Рівень ураження гіркокаштана звичайного *C. ohridella* варіює (рис.4.1.) та залежить від температури. Вивчення просторового розподілу насаджень дасть можливість дізнатися, чи є висота над рівнем моря важливим фактором, що впливає на потенційне поширення *C. ohridella*.



Рис. 4.1. Ступінь ураженості листкових пластинок гіркокаштана звичайного *C. ohridella*; А – низький рівень 2-5%, Б – середній рівень 10%, В – середній рівень 25%, Г – високий рівень 75%.



#### 4.1. Оцінка ступеня пошкодження листкової поверхні *A. hippocastanum* протягом вегетаційного сезону

В умовах міста Дніпро було встановлено 4 стійкі генерації *C. ohridella* (Голобородько та ін., 2009). Термін розвитку однієї окремої генерації каштанового мінера триває від 65 до 110 діб. Початок льоту імаго I генерації припадає на кінець квітня – початок травня. На спалахи чисельності *C. ohridella* значною мірою впливає висока температура повітря, що пояснюється прискоренням розвитку генерації. Тривалість I і II генерацій каштанового мінера збільшилась, а III і IV лишилися незмінними (Додаток А).

Середня тривалість генерації збільшується протягом 2017-2019 років. Наприклад, тривалість II вегетації *C. ohridella* змінюється від 80 діб до 83 діб, а тривалість IV генерації – від 96 діб до 109. Тривалість розвитку II і III генерації мінера значно більша за тривалість I і IV генерацій, за рахунок сприятливіших умов існування, а саме за високих температур. IV генерація перед відходом на зимівлю завжди найкоротша та спалахів чисельності мінера не має.

Погодні умови різних років суттєво впливають на динаміку та тривалість розвитку певної генерації. Наприклад, основною причиною загибелі гусені *C. ohridella* другого та п'ятого віку IV генерації є пониження температури повітря та пов'язаний з ним розвиток незворотних змін у паренхімі листа *A. hippocastanum*, коли гусінь ще має здібність до активного живлення. Мікрокліматичні відмінності між біотопами, а також мікрокліматичні відмінності всередині біотопу мають значний вплив на тривалість фаз сезонного розвитку окремих дерев гіркокаштана звичайного, особливо в межах урбанізованих ландшафтів (Грігорюкта ін., 2004).

Гусені усіх віків каштанового мінера витримують температуру до  $-5^{\circ}\text{C}$ , мінімум протягом доби, та температуру  $-10^{\circ}\text{C}$  до трьох годин, при якій повністю руйнується паренхіма листкової пластинки гіркокаштана (Зерова и др., 2007).

У кількісному відношенні виходу на зимівлю у популяції домінують гусені, більша частина яких гине, не встигнувши залялькуватись. Для успішного виживання *C. ohridella* в період зимівлі необхідні певні мікрокліматичні умови: температура та вологість. При оптимальних мікрокліматичних умовах мінімальний термін розвитку повного циклу окремої генерації (від яйця до імаго наступної генерації) – близько 45 діб (Зерова и др., 2007). Виліт нових імаго злялечки відбувається переважно в першій половині дня с 10 до 13 години.

Каштановий мінер зимує лише на стадії лялечки. Приморозки призводять до загибелі значної кількості самок та відкладених яєць, це знижує чисельність популяцій каштанового мінера та збільшує тривалість розвитку кожної генерації.

Такі дані про фенологію *C. ohridella* дають можливість прогнозувати час виходу імаго, терміни розвитку окремих поколінь, періоди яйцекладки в наступні сезони, що дасть можливість підібрати ефективні методи бородьби проти спалахів чисельності та ураження мінером насаджень гіркокаштана звичайного.

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 гірко каштану (рис. 4.2.).

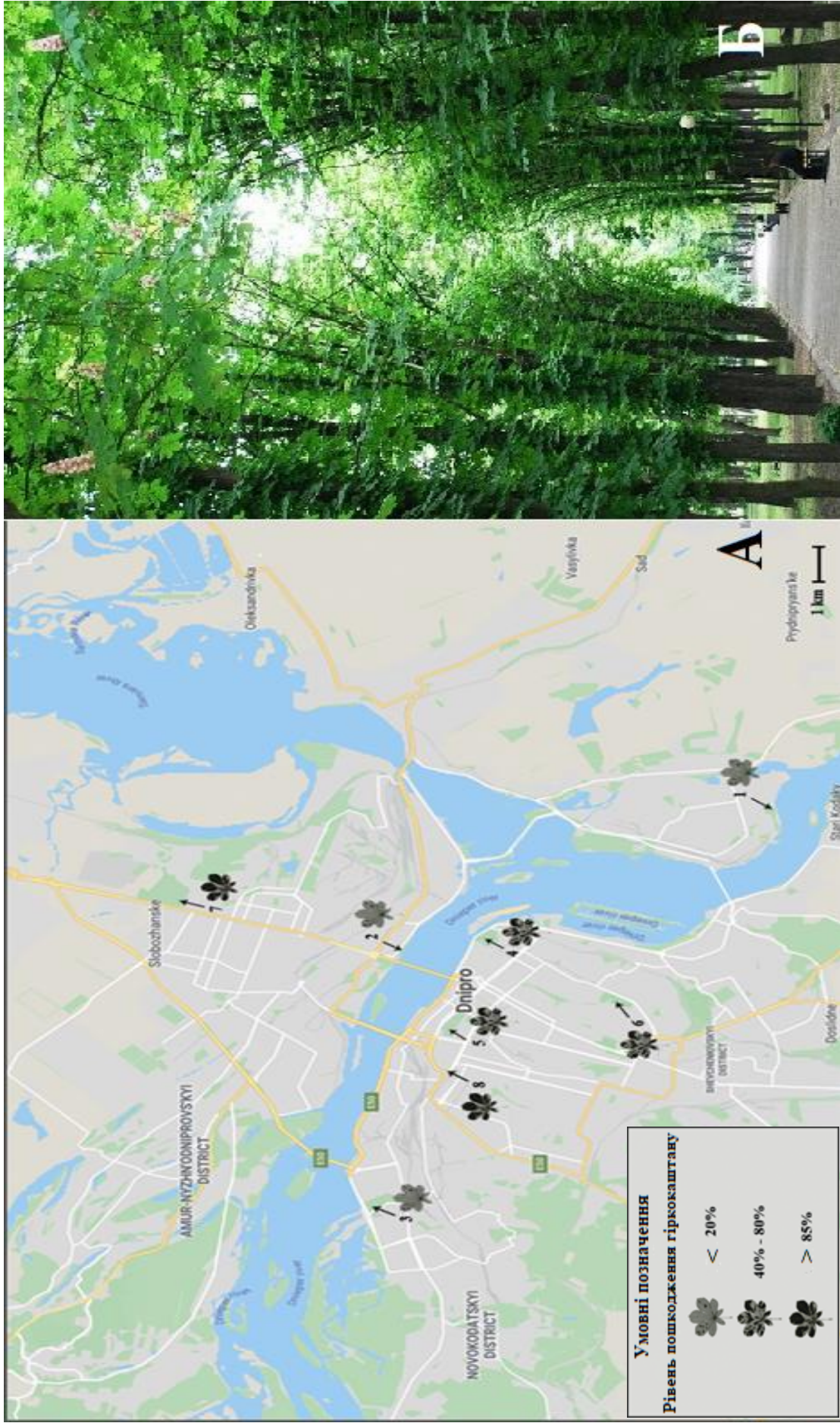


Рис. 4.2.— Оцінка ураження *S. obriidella* листових пластинок *A. hippocastanum* на території м. Дніпро: А – карта спостережень (1 – парк Придніпровський; 2 – парк Мануйлівський; 3 – парк Молодіжний; 4 – парк ім. Т.Г. Шевченка; 5 – парк ім. Л. Глоби; 6 – Ботанічний сад ДНУ; 7 – парк Дружби народів; 8 – сквер Металургів); Б – типове насадження *A. hippocastanum* алейного типу.

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 (табл. 4.1.).

За час другої генерації мінера *C. ohridella* в місті Дніпро найменші рівні пошкодження листових пластинок дерев гіркокаштану звичайного виявили у липні на дослідних ділянках парків Мануйлівський та Придніпровський 9,67% і Молодіжний 12,17%.

У серпні рівень пошкодження листових пластинок дерев *A. hippocastanum* на даних дослідних ділянках збільшився незначно Мануйлівський 14%, Молодіжний 12,17%, у зв'язку з розвитком третьої генерації гусені каштанового мінера. Декоративність дерев при цьому практично втрачена не була. Крім парку Придніпровський, де рівень пошкодження становив 92%.

Пошкодження листкової пластинки від 50 до 80% у липні за час другої генерації мінера було притаманне деревам гіркокаштана звичайного на дослідних ділянках в умовах територій парків Тараса Григоровича Шевченка, Лазаря Глоби і Ботанічного саду Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара. На дослідних ділянках в умовах насаджень лісопарку Дружба народів і скверу Металургів ступінь ураженості листків *A. hippocastanum* сягав у 79,17% та 80,5% відповідно, що співвідноситься з істотною втратою декоративності рослинами.

Загалом у серпні рівень пошкодження листя *A. hippocastanum* посилюється. На всіх дослідних ділянках, крім насаджень парків Мануйлівський та Молодіжний, було відмічено сильне пошкодження листових пластинок.

Таблиця 4.1.

Описові статистики пошкодження листової поверхні *C. ohridella*  
(у %, середнє±ст. помилка, N = 9) початок

Біогеоценоз	Місяць	Пошкодження±ст.помилка, %
сквер Металургів	Червень	63,33±3,28
	Липень	80,50±4,37
	Серпень	94,50±1,61
парк Мануйлівський	Червень	6,67±0,88
	Липень	9,67±1,33
	Серпень	14,00±1,32
парк ім. Т.Г. Шевченка	Червень	32,67±2,60
	Липень	52,33±2,40
	Серпень	76,67±0,88
парк Дружби народів	Червень	60,00±1,73
	Липень	79,17±1,36
	Серпень	95,67±0,67
парк ім. Л. Глоби	Червень	39,50±1,26
	Липень	50,67±1,20
	Серпень	79,00±1,53
парк Молодіжний	Червень	7,17±0,73
	Липень	12,17±2,95
	Серпень	14,83±1,59
Ботсад ДНУ	Червень	39,50±1,04
	Липень	51,50±1,32
	Серпень	78,17±0,60
парк Придніпровський	Червень	6,00±0,29
	Липень	9,67±0,88
	Серпень	92,00±0,58
В цілому		47,72±3,73

Таким чином, за дослідженнями візуальної оцінки ступеня ураженості листкових пластинок гіркокаштана звичайного каштановим мінером за другої та третьої генерації фітофагу у насадженнях *A. hippocastanum*, спостерігаються відмінності в індивідуальній стійкості рослин, що сприяє вивченню внутрішньовидових відмін в їх метаболізмі за впливу *C. ohridella*.

Умови навколишнього середовища у період спостережень були сприятливими для розвитку каштанового мінера, внаслідок чого пошкодження листя фітофагом в насадженнях у червні складало від 6% до 63,33%, у липні складало від 9,67% до 80,5%, а в серпні від 14% до 94,5%.

За усередненими даними, за період спостережень 2017-2020 рр., для зелених зон міста Дніпро нами був установлений постійний ріст уражень листкових пластинок для всіх ділянок спостережень (рис. 4.3.) протягом вегетаційного сезону.

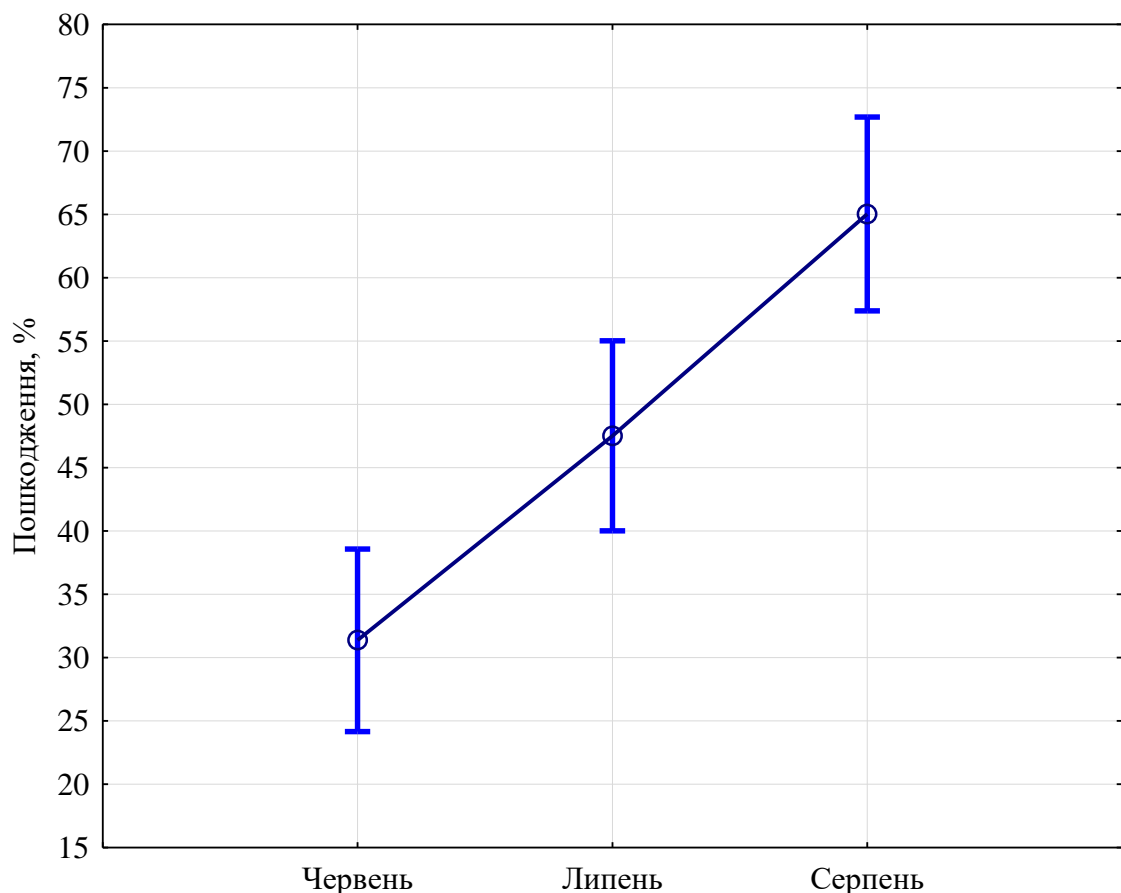


Рис. 4.3. Залежність рівня пошкодження листової поверхні від місяця. Вісь ординат – пошкодження листової пластинки, % від площі поверхні.

Нами також встановлене постійне достовірне збільшення відсотка ураження листкової 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 місту Дніпро цей узагальнений показник становив від 32 % у червні до 65 % у серпні.

Оскільки насадження гіркокаштана звичайного знаходяться, переважно, у міському середовищі, нами були здійснені дослідження з перевірки гіпотези про вплив важких металів на життєдіяльність *C. ohridella*. Імовірно, вміст важких металів впливає й на ступінь ураження листкової пластинки. Для цього ми провели дослідження вмісту важких металів у тканинах листків *A. hippocastanum* (табл. 4.2.).

Таблиця 4.2.

Описові статистики вмісту важких металів у тканинах листків

*A. hippocastanum* (у мкг/г, середнє±ст. помилка, N = 9)

Біогеоценоз	Zn	Cu	Pb	Cd
сквер Металургів	26,56±0,59	6,10±0,19	11,16±0,32	0,44±0,014
парк Мануйлівський	22,52±0,73	3,65±0,12	8,28±0,26	0,33±0,010
парк ім. Т.Г. Шевченка	28,33±0,69	5,87±0,15	10,19±0,26	0,43±0,006
парк Дружби народів	29,91±0,70	8,07±0,23	9,36±0,33	0,32±0,009
парк ім. Л. Глоби	23,68±0,53	3,78±0,11	9,66±0,29	0,42±0,014
парк Молодіжний	21,55±0,84	5,80±0,20	9,58±0,27	0,40±0,012
Ботсад ДНУ	34,57±0,97	7,36±0,21	12,09±0,19	0,51±0,013
парк Придніпровський	23,58±0,64	4,46±0,29	10,36±0,32	0,41±0,009
В цілому	26,34±0,55	5,64±0,19	10,08±0,16	0,41±0,008

Виявилось, що накопичення у тканинах листків гіркогокаштана звичайного чотирьох основних важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd), що перебувають у всіх урбосередовищах, залежить від орографічних особливостей місцевості, де ростуть дерева *A. hippocastanum*. На рисунку 4.4. бачимо, що чим вище за рельєфом знаходиться насадження гіркогокаштана звичайного, тим вище вміст цинку, міді, свинцю та кадмію в тканинах його листків.

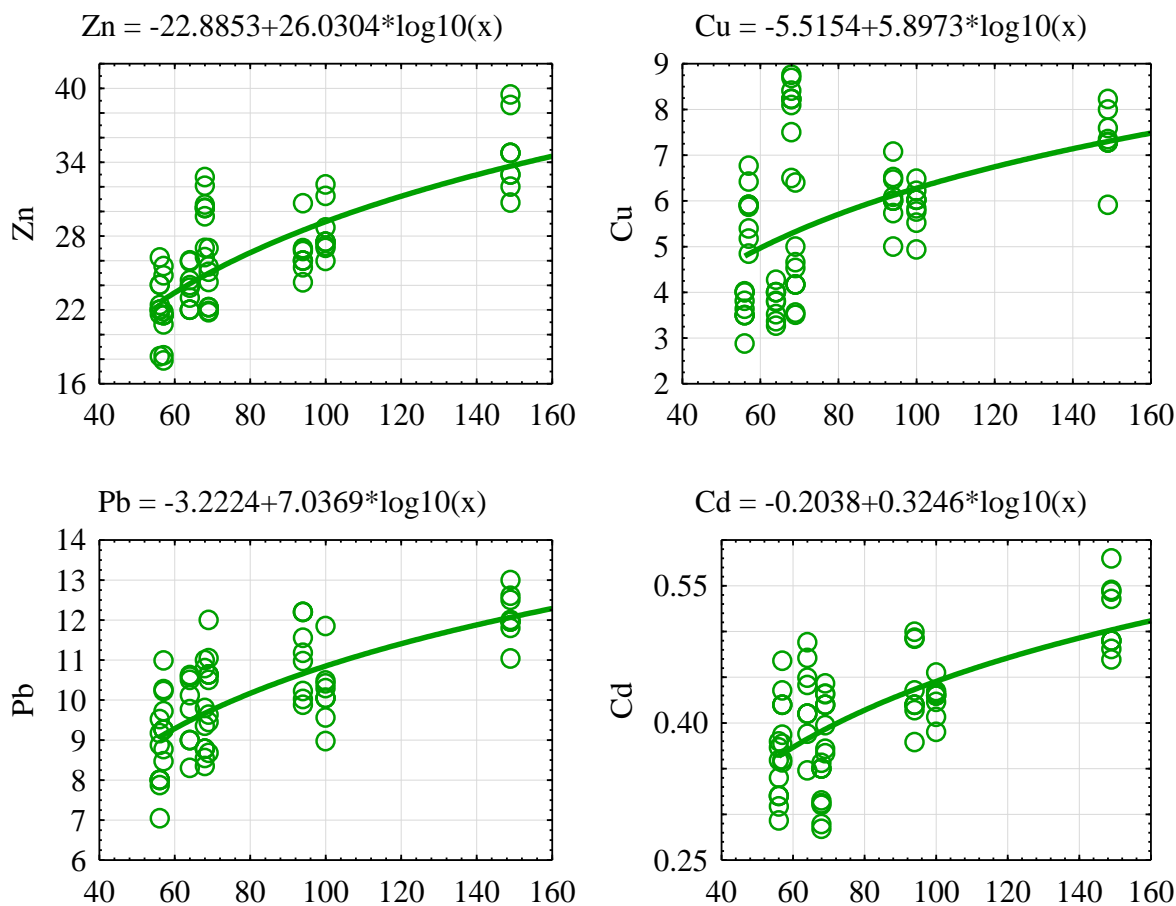


Рис. 4.4. Залежність концентрації важких металів в листках гіркогокаштана звичайного (в мкг/г) від висоти рельєфу

За таких особливостей накопичення важких металів у тканинах гіркогокаштана звичайного, були проведені дослідження з виявлення впливу вмісту важких металів на ступінь ушкодження листових поверхонь каштановим мінером (рис. 4.5.).



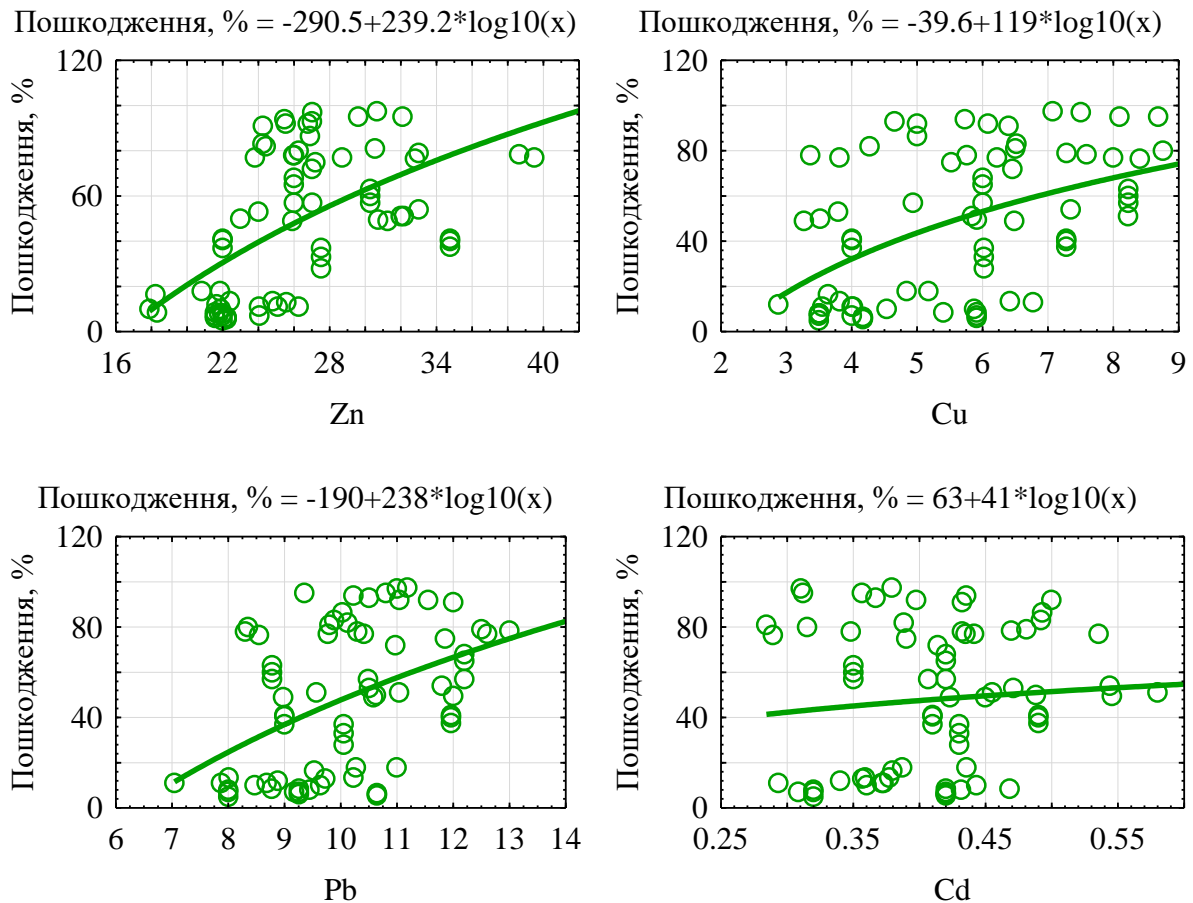


Рис. 4.5. Залежність пошкодження листкової поверхні *A. hippocastanum* (вісь ординат, %) від концентрації важких металів (вісь абсцис, мкг/г)

Наші дослідження показують 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* (табл. 4.3).

З'ясувалось, що чим вище за рельєфом розташовані насадження гіркокаштана звичайного, тим більший відсоток їх заселення, причому така тенденція спостерігалась всі три літні місяці. Наприклад, в парку Мануйлівському насадження гіркокаштана 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%.

Таблиця 4.3.

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	–	–

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

З'ясовано 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*. Чим вище за рельєфом розташовані насадження гіркокаштана звичайного, тим більший відсоток заселення *C. ohridella* листових пластинок дерев, причому така тенденція спостерігалась всі три літні місяці.

Найнижчий показник в парку Мануйлівському, де насадження гіркокаштана 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%.

Достовірне збільшення відсотка ураження *C. ohridella* листкової поверхні дерев *A. hippocastanum* було виявлено в усіх досліджених паркових урбоекосистемах з червня, початку живлення гусені каштанового мінера останніх віків I генерації, по серпень, кінець живлення гусені мінера останніх віків III генерації.

Протягом трьох років моніторингу, по місту Дніпро цей узагальнений показник становив у червні від 32 % до 65 % у серпні.

## 4.2. Оцінка кількості мін *C. ohridella* у різних паркових урбоєкосистемах

Дослідження тотального заселення листків гіркокаштана звичайного було здійснено у вересні протягом трьох років (2017-2020 рр.) у восьми паркових зонах міста 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 видно із таблиці 4.4., територія міста за цим показником заселена також неоднорідно. Аналіз впливу особливостей рельєфу на кількість мін у листку гіркокаштанів показав (рис. 4.6.), що чим вище над рівнем моря знаходились посадки *A. hippocastanum*, тим більша кількість мін спостерігалась на одному листку. Найбільші показники заселення виявились у паркових урбоєкосистемах, 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.

Нашими дослідженнями підтверджено результати багатьох дослідників, які прийшли до висновку, що самиці каштанового мінера для відкладки яєць обирають добре освітлені, південні експозиції крони гіркокаштана, із більш високими температурними характеристиками мікрокліматичних умов. Тобто, насадження *A. hippocastanum* більше заселяються у випадку їх більшого ксеротермного положення. Така тенденція спостерігається протягом розвитку всіх чотирьох генерацій.

Таблиця 4.4.

Описові статистики кількості мін *C. ohridella* (N = 9)

Біогеоценоз	Рік	Кількість мін±ст.помилка
сквер Металургів	2017	416,00±12,60
	2018	412,00±8,32
	2019	411,40±7,33
парк Мануйлівський	2017	25,20±2,15
	2018	22,40±2,64
	2019	25,00±2,77
парк ім. Т.Г. Шевченка	2017	332,80±16,41
	2018	309,20±8,71
	2019	304,20±16,82
парк Дружби народів	2017	410,60±9,97
	2018	408,80±6,76
	2019	433,00±11,30
парк ім. Л. Глоби	2017	340,60±13,21
	2018	334,60±12,86
	2019	395,80±7,79
парк Молодіжний	2017	38,00±3,70
	2018	31,20±3,38
	2019	27,80±9,71
Ботсад ДНУ	2017	326,60±20,96
	2018	297,40±11,59
	2019	339,00±16,54
парк Придніпровський	2017	107,00±8,61
	2018	114,60±8,76
	2019	113,60±7,12
В цілому		249,03±14,42

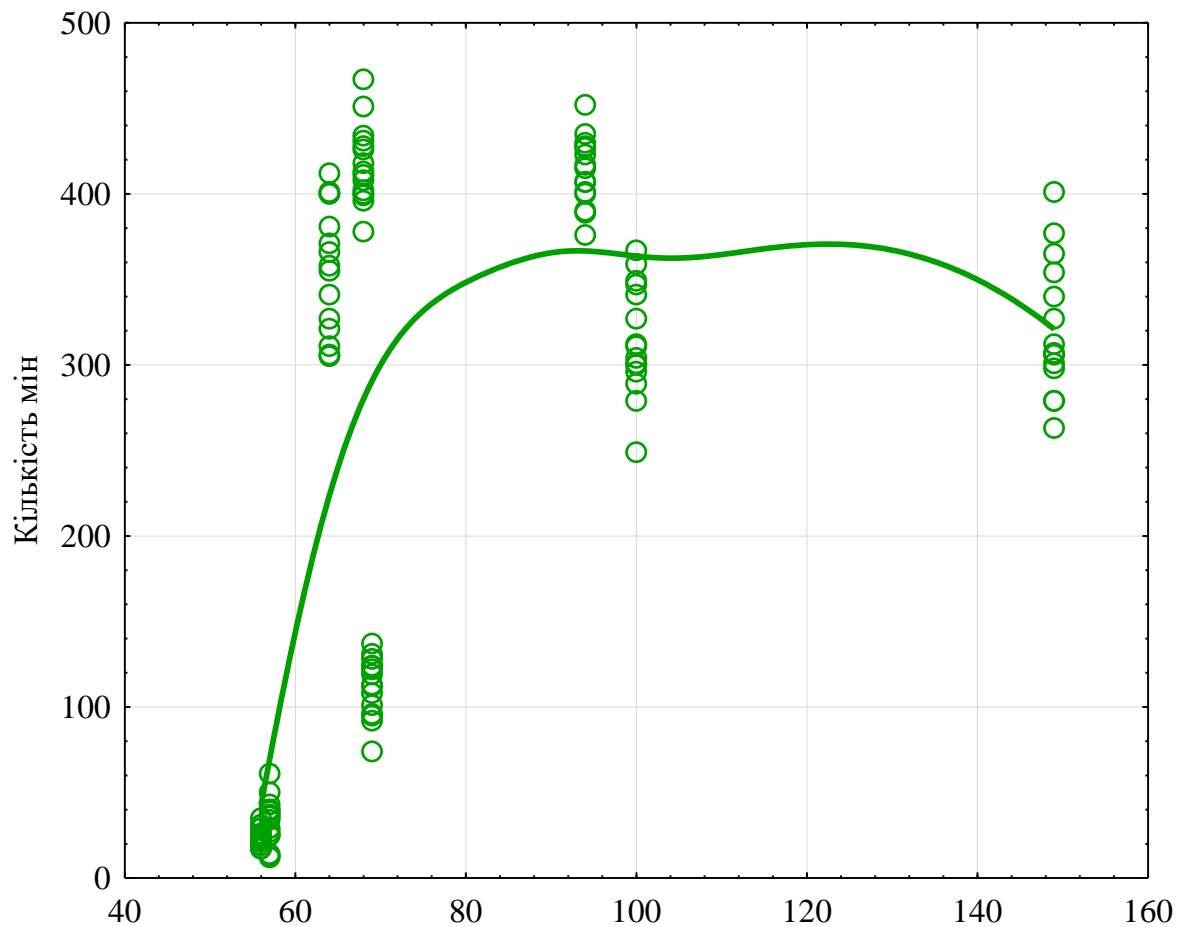


Рис. 4.6. Залежність кількості мін (вісь ординат) від висоти рельєфу.

Лінія – апроксимація за методом зваженої дистанції

Результати наших досліджень показали залежність ступеня ушкодження каштановим мінером листової поверхні гіркокаштана звичайного від вмісту важких металів. У цьому контексті нами було вирішено з'ясувати чи залежать особливості заселення *S. ohridella*, (приймаючи за заселення власне кількість мін на листку) від вмісту важких металів у тканинах кормової рослини.

Як бачимо, на рисунку 4.6. установлена залежність між кількістю мін та концентрацією важких металів (цинк, мідь, свинець, кадмій) у різних паркових урбоекосистемах.

У паркових зонах із найбільшою концентрацією важких металів у тканинах гіркокаштана звичайного виявилась і найбільша кількість мін на листку (така властивість встановлена для всіх обраних елементів).

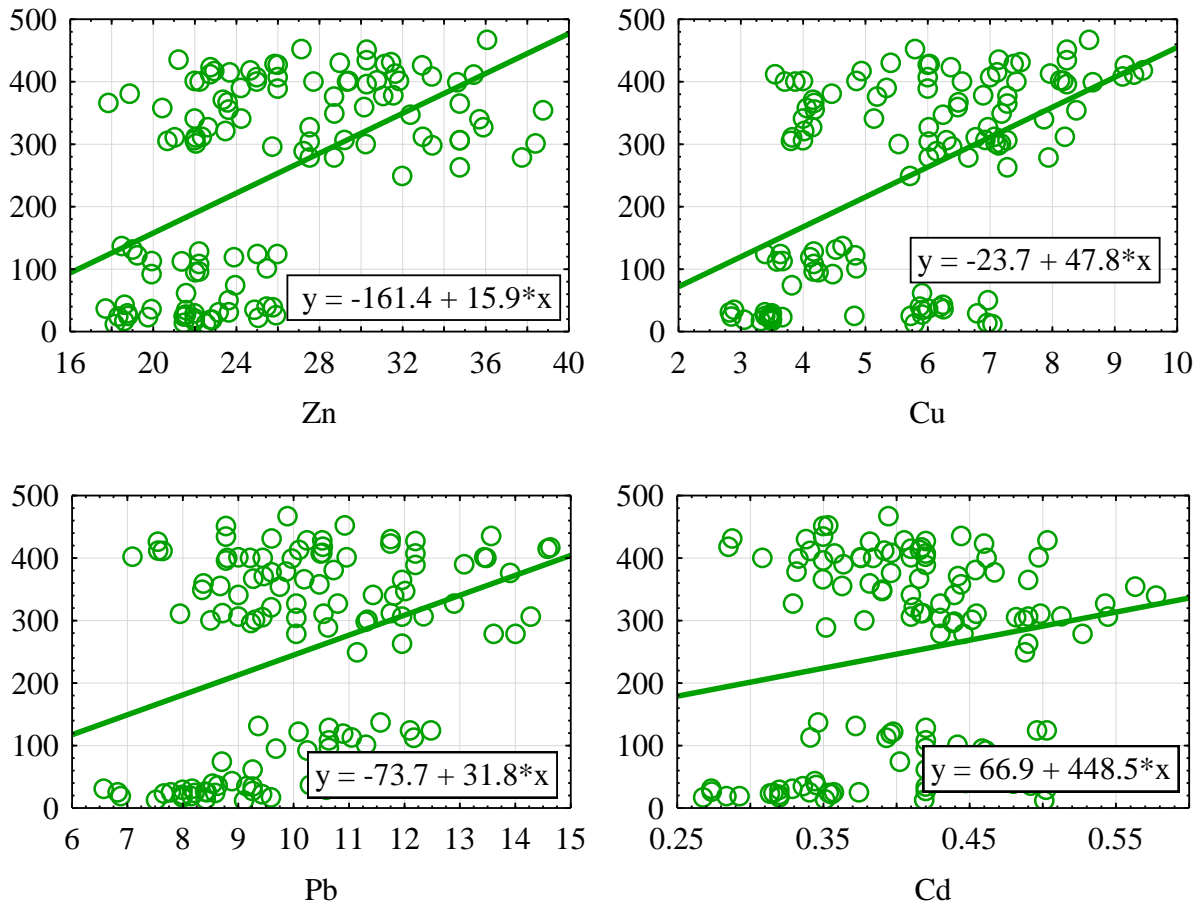


Рис. 4.6. Залежність кількості мін (вісь ординат) від концентрації важких металів в тканинах листка кормової рослини (вісь абсцис, мкг/г)

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. 4.5.). За період спостережень, для урбоєкосистем м. Дніпро, мінімальну кількість мін встановлено у діапазоні 15-25 шт. на одному листку. Максимальні значення кількості мін на окремих листках *A. hippocastanum* сягали 450-465 шт.

Таблиця 4.5.

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	—	—



За вмістом важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd), найбільша їх кількість була визначена в парках Тараса Григоровича Шевченка, сквері Металургів, сквері Дружби народів й Ботанічному саду ДНУ імені Олеся Гончара, що дорівнює в середньому (в абсолютних показниках) приблизно 400 мінам на листку *A. hippocastanum*.

Найнижчу кількість важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd) було визначено в парках Мануйлівський та Молодіжний, що в абсолютних показниках близько 20-30 мін *C. ohridella* на листку *A. hippocastanum*.

Отже, встановлена залежність між кількістю мін *C. ohridella* на листку гіркокаштана звичайного та концентрацією важких металів (цинк, мідь, свинець, кадмій) у тканинах листа кормової рослини гусені. У паркових урбоекосистемах із найбільшою концентрацією важких металів у тканинах листків *A. hippocastanum* виявилась найбільша кількість мін на листку.

## РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ *C. OHRIDELLA* НА ВМІСТ РОЗЧИННИХ БІЛКІВ В АСИМІЛЮЮЧИХ ОРГАНАХ *A. HIPPOCASTANUM*

Легкорозчинні білки є одними з факторів, які активно реагують на пошкодження клітин комахами (Esteban-Carrasco et al., 2001; Deans et al., 2016). Вміст легкорозчинних білків значно знижується в листках, що заражені комахами, оскільки рослина знижує швидкість синтезу білка в умовах біотичного стресу, а весь механізм трансляції зміщений на вироблення білків, пов'язаних із захистом (Le Gall, 2014).

Всі фітофаги потребують широкого набору поживних речовин. Також достовірно відомо, що абсолютні кількості та співвідношення білка та вуглеводів в кормових рослинах сильно впливають на комах-фітофагів, а саме – на їх продуктивність, включаючи темпи зростання та розмноження (Behmer et al., 2009), а також їх толерантність до рослинних токсинів та імунологічного опору. Вміст ліпідів, вітамінів та мінералів не вважаються обмежувачами для комах, тому їх концентрація для них маловажлива. Чим нижче рівень білків у паренхімі листя рослини, тим негативніше це впливає на онтогенез фітофага (Behmer et al., 2003).

Для рослин характерна мінливість вмісту легкорозчинних білків та вуглеводів, це також може бути адаптацією рослини до дії фітофага та окиснювального стресу, а також проміжним етапом у швидкій еволюції генетично обумовленої стійкості (Mithöfer, Voland, 2012).

Це дослідження виявило суттєві відмінності у вмісті розчинних білків залежно від ступеня ураження *C. ohridella* листя гіркокаштана звичайного. Зміни фізіологічних процесів листя рослин за несприятливих умов, особливо фотосинтезу, корелюють з вмістом легкорозчинних білків.

Умови навколишнього середовища в 2018 році були сприятливими для розвитку каштанового мінера, внаслідок чого пошкодження листя в насадженнях гіркокаштана звичайного у липні складало від 8,7 до 86,5%, а в серпні – від 13,3 до 97,5% (табл. 5.1.; рис. 5.1.).

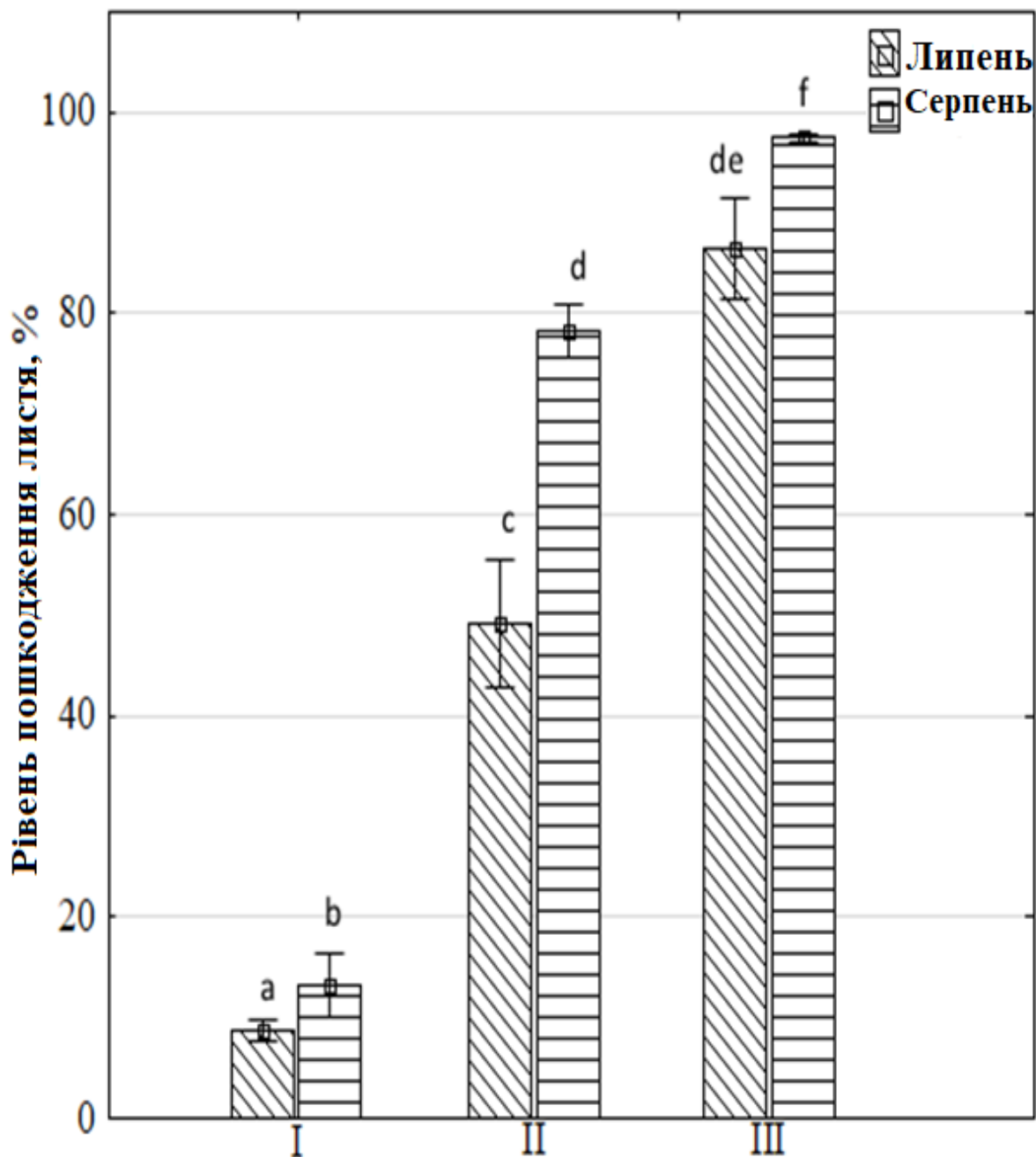









Рис. 5.1. Зміни рівня пошкодження листя *A. hippocastanum* ураженого *C. ohridella*; група I – 8,67 і 13,3%; група II – 49,3 і 78,3%; група III – 86,5 та 97,5% відповідно у липні та серпні; n = 9;  $\bar{x} \pm SD$

За час другої генерації мінера *C. ohridella* в місті Дніпро найменшими рівні пошкодження листових пластинок дерев гіркокаштана звичайного виявились у липні (табл. 5.1.) на дослідних ділянках 2, 6 і 8 в умовах територій парків Мануйлівський, Придніпровський та Молодіжний 8,67%.

Таблиця 5.1.

Рівень пошкодження листя гіркокаштана звичайного каштановим мінером  
*C. ohridella* в зелених насадженнях м. Дніпро

Показники	Район відбору листя.			
	Парк Мануйлівський, ж/м Червоний Камінь парк Молодіжний, зона рекреації ж/м Придніпровськ	Парк ім. Т.Г. Шевченка	Парк ім. Л Глоби, Ботанічний сад ДНУ імені Олеся Гончара	Лісопарк Дружба, сквер Металургів
<b>липень</b>				
Візуалізація				
Ступінь пошкодження листя	8,67%	40,03%	52,51%	86,53 %
<b>серпень</b>				
Візуалізація				
Ступінь пошкодження листя	13,35%	78,33%	97,51 %	

У серпні рівень пошкодження листових пластинок дерев *A. hippocastanum* на даних дослідних ділянках збільшився до 13,35%, у зв'язку з розвитком третьої генерації гусені каштанового мінера. Декоративність дерев при цьому практично втрачена не була.

Пошкодження листкової пластинки від 40 до 55% у липні за час другої генерації мінера було притаманне деревам гіркокаштана звичайного на дослідних ділянках 3, 5 і 7 в умовах територій парків Тараса Григоровича Шевченка, Лазаря Глоби і Ботанічного саду Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара. На дослідних ділянках 1 та 4 в умовах насаджень лісопарку Дружба народів і скверу Металургів ступінь ураженості листків *A. hippocastanum* сягав, у середньому, 86,5%, що співвідноситься з істотною втратою декоративності рослинами.

У серпні рівень пошкодження листя *A. hippocastanum* посилювався. На дослідних ділянках в насадженнях умовного контролю цей показник підвищився на 54%, а у дерев гіркокаштана із середнім рівнем пошкодження в липні – на 69,3%, а з сильним пошкодженням – на 12,7%.

Таким чином, за дослідженнями візуальної оцінки ступеню ураженості листових пластинок гіркокаштана звичайного каштановим мінером за другої та третьої генерації *C. ohridella* у насадженнях *A. hippocastanum*, спостерігаються відмінності в індивідуальній стійкості рослин, що сприяє вивченню внутрішньовидових відмін в їх метаболізмі за впливу *C. ohridella*.

Так як умови навколишнього середовища були сприятливими для розвитку *C. ohridella*, пошкодження листя мінером в насадженнях *A. hippocastanum* зростає від липня до серпня.

Аналіз вмісту легкорозчинних білків у листі рослин гіркокаштана звичайного виявив їх невеликий діапазон серед більшості досліджених ділянок насаджень міста Дніпро, що становило 2,61-2,84 мг/г (рис. 5.2.).

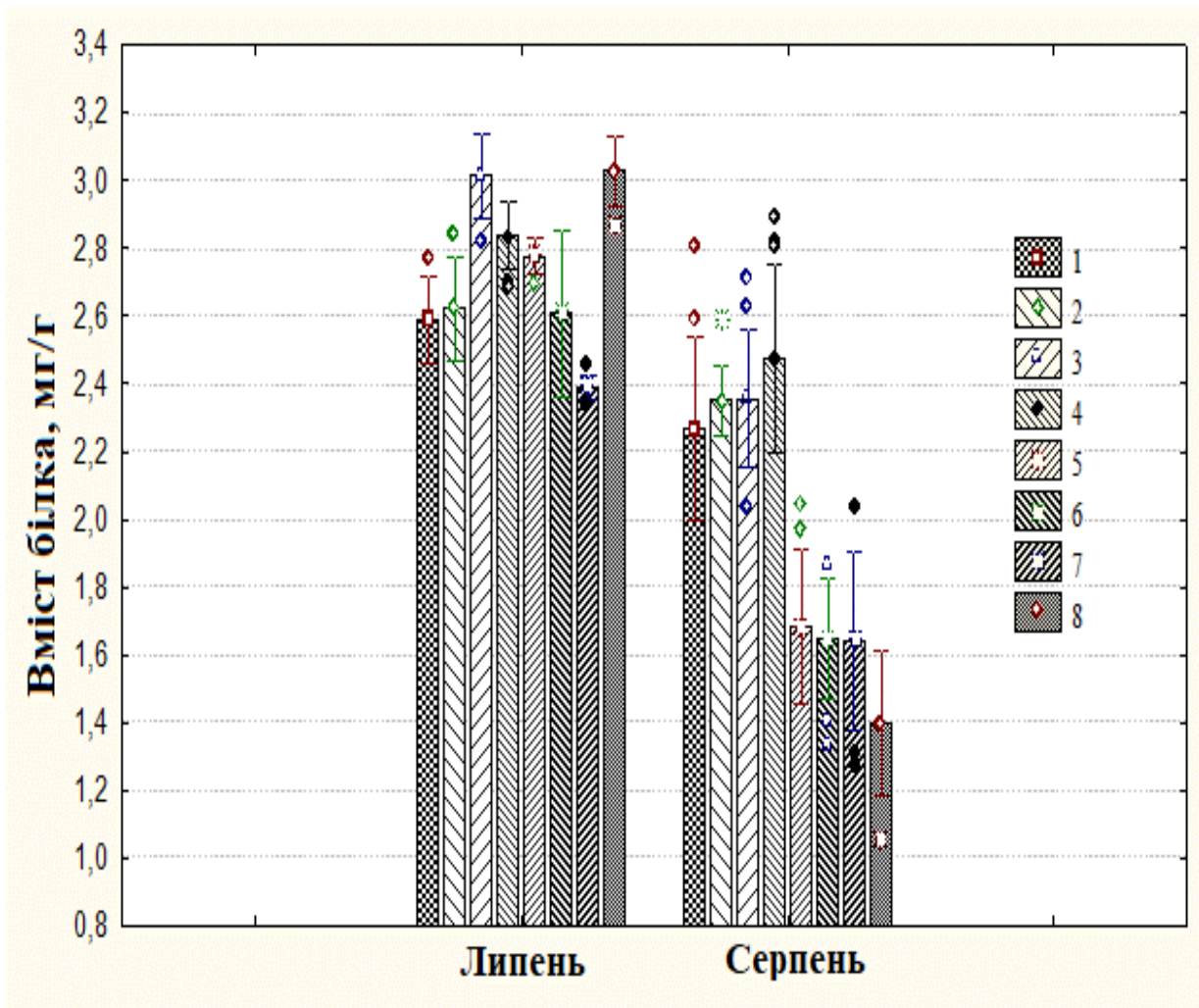


Рис. 5.2. Зміни вмісту легкорозчинних білків у листі рослин гіркокаштана звичайного уражених *C. ohridella* ( $m \pm SD$ )

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.

У подальшому в серпні відмічено зниження вмісту легкорозчинних білків, що корелювало з підвищенням рівня руйнування мінером *C. ohridella*. Зниження вмісту легкорозчинних білків в групі умовно стійких дерев гіркокаштана (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 *C. ohridella* 78,3% картина виявилась дещо іншою: дерева з дослідної ділянки 3 в парку Тараса Григоровича 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 каштанів, які у липні показали високий рівень ураження листя каштановим мінером *C. ohridella* з території дослідної ділянки 1 скверу Металургів, а саме – на 53,8%.

У листі рослин гіркокаштана 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.

За результатами досліджень, рівень розчинних білків листя в липні виявився практично однаковим по всім дослідженим групам насаджень і складав 2,74 мг/г (I і II група насаджень) і 2,71 мг/г (III група насаджень). У подальшому в серпні спостерігалось зниження вмісту білків, що корелювало з підвищенням рівня руйнування листків каштановим мінером (рис. 5.3.).

У насадженнях умовного контролю (I група насаджень) порівняно з липнем це зниження становило 15,0 % ( $F = 56.67$ ;  $P = 2.9 \cdot 10^{-10}$ ), у II групі насаджень достовірно зменшення вже складало 28,8 % ( $F = 73.1$ ;  $P = 6.5 \cdot 10^{-12}$ ) і в III групі – 43,9% ( $F = 156.2$ ;  $P = 5.0 \cdot 10^{-15}$ ).

У серпні зниження рівня білка у II групі насаджень порівняно з умовним контролем складало 16,3 % ( $F = 29.4$ ;  $P = 2.6 \cdot 10^{-5}$ ), а в III групі – 34,8 % ( $F = 170.2$ ;  $P = 1.3 \cdot 10^{-18}$ ). Також знайдено відмінність у вмісті білка в листях дерев гіркокаштана між II і III групами насаджень, а саме: зменшення на 22,1 % ( $F = 16.2$ ;  $P = 1.8 \cdot 10^{-4}$ ).

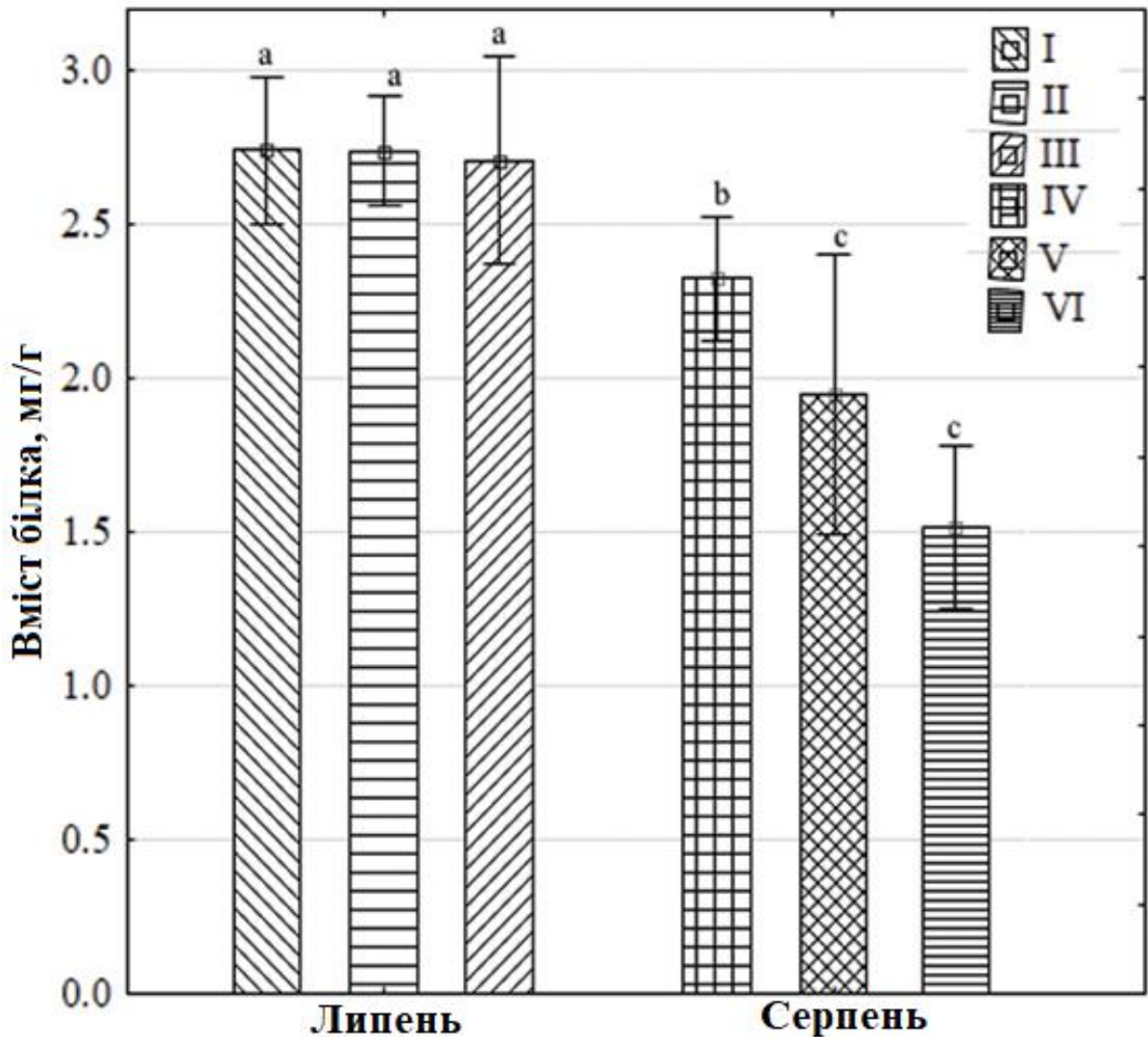


Рис. 5.3. Відмінності у рівні розчинного білка листя *A. hippocastanum*, ураженого *C. ohridella*: природні білки екстрагували з 0,3 г листяної тканини в 6 мл буфера Tris-HCl, рН 7,4, що містить 0,5% PVP; вміст білка є представником аналізу зразків з  $n = 5$  дерев на кожну точку моніторингу.

Липень – доріжка I демонструє низький рівень пошкодження 8,7%, а смуга II показує середній рівень пошкодження 49,3%. Смуга III демонструє високий рівень пошкодження 86,5%. Серпень – смуга IV – це зразки з низьким ступенем пошкодження листя 13,3%, смуги V та VI демонструють високий рівень пошкодження 78,3 та 97,5% відповідно. Різні літери (a, b, c) суттєво відрізнялись згідно з тестом Т'юкі  $P < 0,05$ , значення представляють середні значення  $n = 27$  (смуги I, II, IV та V) та  $n = 18$  (смуги III та VI).



Каштановий мінер впливає на функціональний стан гіркокаштана звичайного, що підтверджується змінами у вмісті розчинних білків. Дослідження показали зменшення вмісту легкорозчинних білків листя *A. hippocastanum* у серпні, порівняно з липнем.

Можна припустити, що вміст білка значно знижується в листках, заражених *C. ohridella*, оскільки рослина знижує швидкість синтезу легкорозчинного 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 *C. ohridella*, цей процес може бути прискорений, порівняно з контролем.

*C. ohridella* впливає на функціональний стан гіркокаштана звичайного, що підтверджується змінами у вмісті розчинних білків. Дослідження показали зменшення вмісту легкорозчинних білків листя *A. hippocastanum*. 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.

## **РОЗДІЛ 6. ВПЛИВ *C. OHRIDELLA* НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ АСИМІЛЮЮЧИХ ОРГАНІВ *A. HIPPOCASTANUM*.**

Індукції антиоксидантних ферментів у рослинах через атаку рослиноїдних комах в останні роки приділяється значна увага (Gulsen et al., 2010; Gill et al., 2010). Пероксидази індуються у багатьох рослинах у відповідь на атаку комах і є важливим компонентом прямої реакції на пошкодження рослин, оскільки вони регулюють ряд процесів, прямо чи опосередковано пов'язаних зі стійкістю рослин до комах-фітофагів (War et al., 2018).

Підвищення активності цитоплазматичної пероксидази, спричинене механічними пошкодженнями, знаходилось в межах збільшення активності пероксидази, виявленої в інших рослинах (Singh et al., 2013; Sánchez-Sánchez, Morquecho-Contreras, 2017). Зміни, що спостерігаються в активності ферменту у фазі активного відтоку асимілятів, свідчать про його активну участь у метаболічних процесах листя після пошкодження фітофагами. Відомо, що широкий спектр реакцій пероксидази на різні продуценти відповіді пов'язаний з великою кількістю ізоформ пероксидази та їх численними функціями в клітині (Campra, 1991; Nagy et al., 2004). Кислі та основні ізооксидази беруть участь у стресовому стані рослинного організму. У науковій роботі (Андреева, 1988) показано, що основні пероксидази активуються на початку зараження, а зміни, пов'язані з метаболізмом ауксину та етилену, індуюють посилений синтез кислих ізоферментів як подальшої стадії відповіді або захисту.

Зміни фізіологічних процесів листя рослин за несприятливих умов, особливо фотосинтезу, корелюють з активністю та особливостями реакції пероксидази (Kim et al., 2010). Цей фермент руйнує АФК і захищає хлоропласти від пошкодження.

**6.1. Особливості реакції пероксидазної системи *A. hippocastanum* на живлення гусені *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 гіркокаштана звичайного в липні і серпні за присутності каштанового мінера з метою з'ясування наслідків впливу на функціональний стан дерев (табл. 6.1.).

Таблиця 6.1.

Активність антиоксидантних ферментів (BPOD, GPOD, CAT) та значення коефіцієнта варіації (CV) у листках *A. hippocastanum*, уражених *C. ohridella* ( $x \pm SD$ )

Рівень пошкодження листя, %	n	BPOD, U/g FW хв	CV, %	n	GPOD, мМ guaiacol/g FW хв	CV, %	n	CAT, μM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /mg protein хв	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

Примітки: значення у стовпці, позначені різними літерами (a, b, c), суттєво відрізнялись згідно з test-тестом Т'юкі  $P < 0,05$ . ВРОD: бензидин пероксидаза; GPOD: пероксидаза гваяколю; КАТ: каталаза; FW: свіжа вага.

Результати дисперсійного аналізу залежності активності ВРОD, GPOD і САТ листя гіркокаштана звичайного від ступеня ураження дерев *C. ohridella* виявили значимі відмінності за  $P < 0,05$ .

При пошкодженні листків із середнім рівнем ураження листя (49,3%) активність ВРОD 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 ВРОD між середнім і високим ступенем пошкодження не виявлено ( $F = 0.292$ ;  $p = 0.592$ ;  $F_{0.05} = 4.07$ ).

У листках каштану також підвищувалась активність гваякол-пероксидази порівняно з контролем, але більшою мірою, ніж ВРОD, 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 каштану. 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, ВРОD. Найбільшу мінливість значень активності бензидин-пероксидази виявлено у зразках листків каштану за середнього ураження фітофагом. Найменші показники коефіцієнту варіації зареєстровані для активності GPOD за високого, а для САТ – за низького рівня пошкодження листків фітофагом.

При вивченні активності гваякол-пероксидази в гомогенатах листків *A. hippocastanum* було знайдено поступове зниження варіабельності параметрів активності від 16,9 до 8,4 % (коефіцієнту варіації) від найменшого до високого ураження листків *C. ohridella*. А у каталази навпаки – зростання варіабельності від найменшого до більшого ступеня пошкодження листків гіркокаштана звичайного *C. ohridella* 9,5→18,0%.

Суттєве підвищення (на 87,1%) активності гваякол-пероксидази може бути пов'язане з тим, що вона бере участь у процесах заживленні поранень, лігніфікації, ауксиновому катаболізмі і захисті від патогенної інфекції, що асоціюється із системною стійкістю рослин *A. hippocastanum*. Активація ферментів-антиоксидантів у відповідь на дію інсектів є одним з ключових процесів у формуванні і розвитку захисних реакцій у тканинах рослинних клітин.

Активність пероксидази корелює з широким спектром фізіологічних процесів рослин, що включає лігніфікацію, метаболізм ауксину, поранення, стійкість до хвороб та ін. (Ye et al., 1990; Zimmerlin et al., 1994). У зв'язку з цим нами проведено вивчення реакції пероксидазної системи листя рослин гіркокаштана в липні і серпні на присутність *C. ohridella*.

Результати дисперсійного аналізу залежності активності ВРОD від ступеня ураження листя гіркокаштана звичайного *C. ohridella* у серпні виявили значимі відмінності за  $P < 0,05$  (табл. 6.2.).

Активність пероксидази та значення коефіцієнта варіації в листках  
*A. hippocastanum*, уражених *C. ohridella* ( $\bar{x} \pm SD$ )

Рівень пошкодження листя, % (серпень)	n	BPOD, U/g FW хв	CV, %
13,3	27	194,1 $\pm$ 32,17 <sup>a</sup>	16,6
78,3	27	423,4 $\pm$ 68,84 <sup>b</sup>	16,3
97,5	18	414,4 $\pm$ 67,10 <sup>b</sup>	16,2

Примітки: значення у стовпці, позначені різними буквами (a, b), суттєво відрізнялись згідно з тестом Т'юкі  $P < 0,05$ ; BPOD – бензидин-пероксидаза; FW – свіжа вага.

Результати дисперсійного аналізу залежності активності BPOD листя гіркокаштана звичайного від ступеня ураження дерев *C. ohridella* виявили значимі відмінності за  $P < 0,05$ . Порівняно з липнем, активність ферменту в листках гіркокаштана звичайного в серпні значно підсилилась.

При пошкодженні листків у липні на 40-55% активність BPOD була достовірно вищою, порівняно з умовним контролем на 41,5% ( $F = 10.22$ ;  $p = 2.4 \cdot 10^{-3}$ ;  $F_{0.05} = 4.03$ ), а при рівні ураження 85,0% активність підвищувалась на 50% ( $F = 44.94$ ;  $p = 3.5 \cdot 10^{-8}$ ;  $F_{0.05} = 4.07$ ). Достовірної відмінності в активності BPOD між середнім і високим ступенем пошкодження не виявлено ( $F = 0.292$ ;  $p = 0.592$ ;  $F_{0.05} = 4.07$ ). Аналіз даних виявив широку амплітуду мінливості активності ферменту за ступенем ураження листків *A. hippocastanum* мінером у липні.

Варіабельність значень активності ВРОД у контрольних зразках листків каштану становила від 17,9 до 44,8% (табл. 6.3.). У той час як у серпні цей показник по всіх насадженнях виявився стабільним і склав 16,2-16,6%.

Таблиця 6.3.

Вплив *S. ohridella* на пероксидазну активність листя гіркокаштана звичайного у місті Дніпро в липні та серпні 2018 року

Рівень пошкодження листя, %	Місяць	df	Mean $\pm$ SD	F	F <sub>0.05</sub>	p
8,7	липень	35	*120,12 $\pm$ 27,478 <sup>a</sup>			
13,3	серпень		194,1 $\pm$ 32,17 <sup>b</sup>	48,605	4,13	4,85·10 <sup>-8</sup>
45,1	липень	35	*169,86 $\pm$ 76,035 <sup>a</sup>			
78,3	серпень		423,4 $\pm$ 68,84 <sup>b</sup>	82,692	4,13	1,25·10 <sup>-10</sup>
86,1	липень	23	*180,13 $\pm$ 32,157 <sup>a</sup>			
97,5	серпень		414,4 $\pm$ 67,10 <sup>b</sup>	174,698	4,30	6,08·10 <sup>-2</sup>

Значення в колонках, позначені різними літерами (a, b, c), означають значущу різницю згідно Т'юкі *t*-test  $P < 0,05$ .

У серпні зберігалась подібна закономірність, а саме: підвищення активності пероксидази залежно від ступеня пошкодження листя *A. hippocastanum* мінером порівняно з умовним контролем: у 2,2 рази ( $F = 109.71$ ;  $p = 1.4 \cdot 10^{-8}$ ;  $F_{0.05} = 4.49$ ) у II групі насаджень (78,3% пошкоджень) і в 2,1 рази ( $F = 115.14$ ;  $p = 7.9 \cdot 10^{-8}$ ;  $F_{0.05} = 4.67$ ) у III групі насаджень гіркокаштана звичайного (97,5% пошкоджень листя). Між II і III групами насаджень достовірної різниці в активності ферменту не знайдено ( $F = 0.10$ ;  $p = 0.762$ ;  $F_{0.05} = 4.67$ ).

Порівняно з липнем, активність пероксидази в листках гіркокаштана звичайного в серпні значно підсилилась. Підвищення активності пероксидази було найбільшим, а саме – в 2,5 рази ( $F = 48.61$ ;  $p = 4.9 \cdot 10^{-8}$ ;  $F_{0.05} = 4.13$ ) у листі дерев із рівнем ураження *C. ohridella* 78,3%.

При пошкодженні листків 97,5% активність пероксидази була достовірно вищою в 2,3 рази ( $F = 82.69$ ;  $p = 1.3 \cdot 10^{-10}$ ;  $F_{0.05} = 4.13$ ) порівняно з липнем. Найменше підвищення активності ферменту відбувалось серед дерев з низьким рівнем руйнування листя фітофагом: на 62% ( $F = 174.70$ ;  $p = 6.1 \cdot 10^{-2}$ ;  $F_{0.05} = 4.30$ ).

Дослідження показали, що в листках дерев гіркокаштана звичайного активізується пероксидазна система детоксикації наслідків окиснювального стресу, викликаного впливом *C. ohridella*. Показано, що кожна група насаджень каштану у середньому характеризується певним типом реакції-відповіді на інвазію каштанового мінера. Листя каштану кінського відрізнялось підвищеною активністю цитоплазматичної пероксидази більш ніж у два рази за високого рівня ураження листя фітофагом.

Отримані результати дозволяють припустити, що активування пероксидаз компенсує падіння активності каталази. Так, як одна з основних причин накопичення пероксиду водню в рослинних тканинах за впливу стресорів – інгібування каталази.



Зниження каталази – не єдина можлива причина підвищення вмісту пероксиду водню в рослинних тканинах. Такий ефект, зокрема, може бути наслідком підвищеної активності супероксиддисмутази (SOD). Даний фермент, який каталізує перетворення супероксидного радикалу в пероксид водню, може сприяти накопиченню останнього, особливо на тлі інгібування каталази.

Слід відзначити, що неоднакова активність пероксидази була притаманна групам дерев з однаковим рівнем ураженості листя *A. hippocastanum* фітофагом. Відмічена нами висока загальна активність пероксидази, очевидно, сприяє підтриманню функціональної цілісності фотосинтетичної системи листя *A. hippocastanum* за впливу листкового каштанового мінера *C. ohridella* шляхом нейтралізації активних форм кисню.

Показано, що кожна група насаджень *A. hippocastanum* у середньому характеризується певним типом реакції-відповіді на інвазію *C. ohridella*. Так, у насадженнях із середнім і високим рівнем пошкодження листків гіркокаштана встановлено підвищення активності ВРОД і, особливо, активності гваякол-пероксидази та зниження активності каталази, але різною мірою.

Не виключається вплив урбогенного середовища (викиди автомобільного транспорту, промислових підприємств) на метаболізм ферментів-антиоксидантів асимілюючих органів дерев *A. hippocastanum*, що потребує подальших досліджень сумісної дії несприятливих для рослин гіркокаштана звичайного абіотичних і біотичних факторів середовища.

## 6.2. Вплив живлення гусені *C. ohridella* на ізоферментний склад бензидин-пероксидази

Ізоферментний склад ВРОД характеризується невеликою гетерогенністю (5–6 ізоформ), але в різних групах дерев спостерігається висока варіабельність щодо відносного вмісту окремих ізоформ (рис. 6.1.).

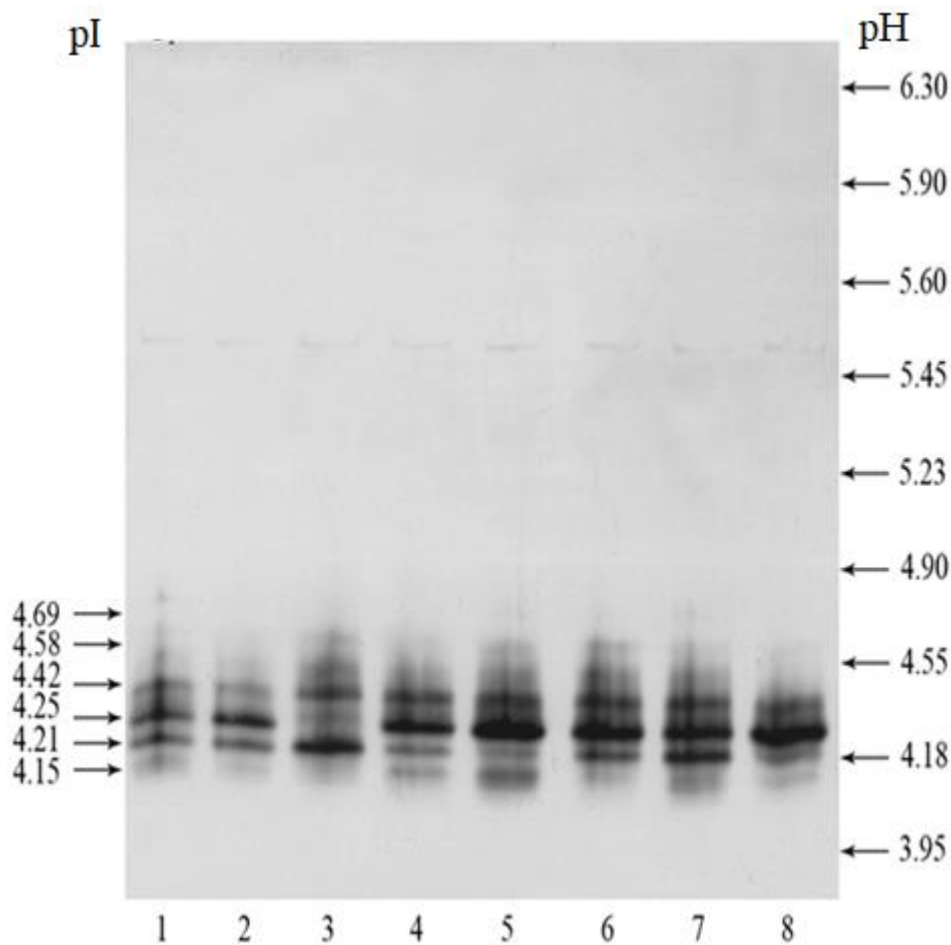


Рис. 6.1. Зміни в профілях ізоелектричного фокусування (ІЕФ) поліакриламідного гелю бензидин-пероксидази з листя гіркокаштана, ураженого *C. ohridella*: ізоферментний спектр бензидин-пероксидази у листках *A. hippocastanum L.*; нативні білки екстрагували в трис-НСІ буфері, рН 7,4, що містить 0,5% PVP; сирі білкові екстракти з 0,3 г тканини листя відокремлювали на 5% гелі ІЕФ (рН 3,5–6,5); в кожену смугу завантажували рівні кількості загального білка (~ 3,0 мкг); гель ІЕФ є представником аналізу зразків з  $n = 5$  дерев на кожену точку моніторингу; ізоелектричні точки ізопероксидаз вказані ліворуч, а градієнт рН поліакриламідного гелю (ПААГ) – праворуч.

Смути 2, 6 та 8 – парк Сагайдак, ж/м Червоний камінь, зона відпочинку Придніпровська – демонструють низький рівень пошкодження (К-контроль). Доріжка 3 – парк Тараса Григоровича Шевченка – показує 40% пошкодження листя, смуги 5 і 7 – парк Лазаря Глоби, і, відповідно, – Ботанічний сад показують середній рівень пошкодження, а смуги 1 і 4 – сквер Металургів, лісопарк Дружба відповідно – зразки з високим ступенем пошкодження листя (в середньому - 86,5%).

Пероксидази існують як ізоензими у різних особин одного виду рослини. Кожний ізоензим має варіабельні послідовності амінокислот, що виявляють різні профілі експресії, що свідчить про їх включеність у різні фізіологічні процеси (Hiraga et al., 2001). Таким чином, шляхом зміни експресивності відносного вмісту ізоферментної пероксидазної системи рослини *A. hippocastanum* намагаються забезпечити стійкість організму до дії фітофагів і регулювати гомеостаз рослин.

За нашими даними, висока активність бензидин-пероксидази в листках *A. hippocastanum* обумовлена наявністю декількох молекулярних форм, які проявляють максимальну активність у вузькому діапазоні рН (4,15–4,69). У цілому, незважаючи на сильний вплив *C. ohridella* на листя гіркокаштана, структура ІЕФ спектра ВРОД у всіх досліджених зразках листків *A. hippocastanum* виявилась стабільною, але суттєво відрізнялась за профілями експресії/питомої ваги ізоензимів пероксидази (рис. 6.2.). Останнє свідчить про неоднакову роль окремих ізоформ пероксидази в процесі адаптації рослин гіркокаштана до дії *C. ohridella*.

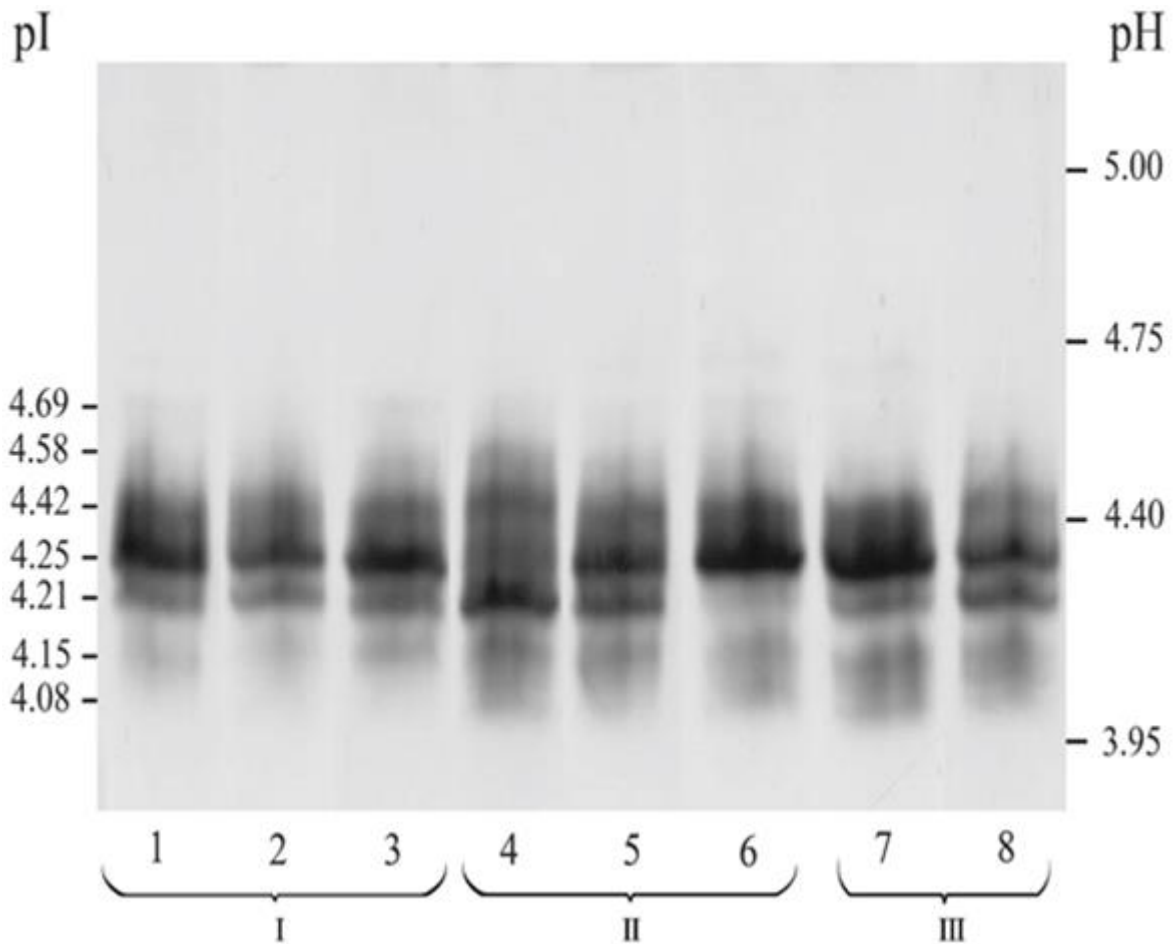


Рис. 6.2. Зміни в профілях ізоелектричного фокусування (IEF) поліакриламідного гелю бензидин-пероксидази з листя гіркокаштана звичайного, ураженого *C. ohridella* у серпні: А - спектр ізоферментів бензидин-пероксидази в листках *A. hippocastanum*; нативні білки екстрагували в трис-НСІ буфері, рН 7,4, що містить 0,5% РVP; сирі білкові екстракти з 0,3 г тканини листя відокремлювали на 5% гелі IEF (рН 3,5-6,5); в кожену смугу завантажували рівні кількості загального білка (~3,0 мкг); гель IEF є представником аналізу зразків з  $n = 5$  дерев на кожену точку моніторингу; смуги 1, 2 та 3 демонструють низький рівень пошкодження (13,3%); доріжки 4, 5 та 6 із 78,3% листя пошкодження; смуги 7 і 8 - це зразки з високим ступенем (97,5%) пошкодження листя.

У спектрі цитоплазматичної пероксидази листя гіркокаштана звичайного в серпні виявлено 5 ізоензимів в діапазоні рН 4,08 – 4,69 (рис. 6.3.). У листі всіх досліджених дерев гіркокаштана, окрім насадження дослідної ділянки 2, домінантною є ізопероксидаза з рІ 4,25.

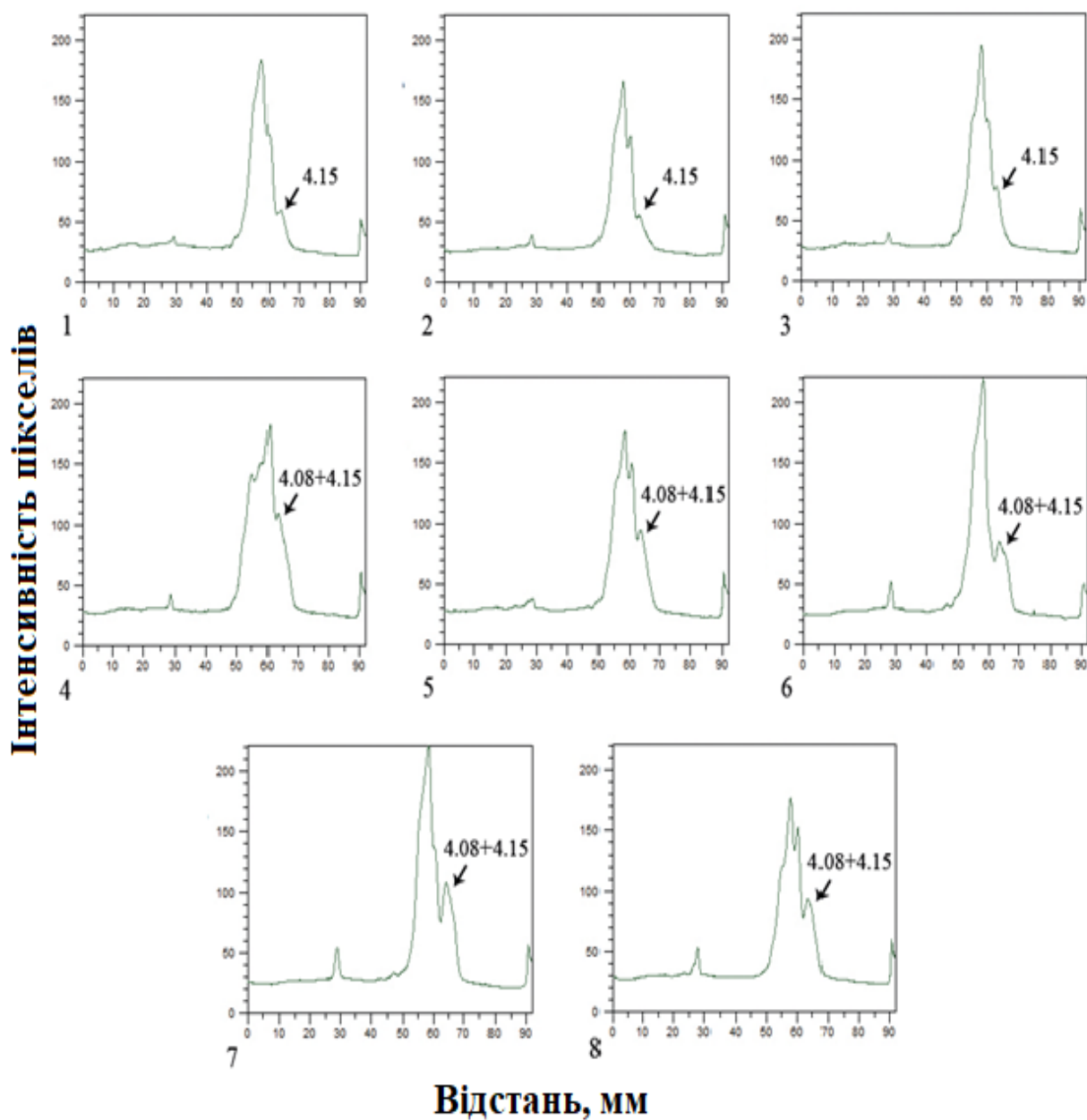


Рис. 6.3. Денситограми профілів пероксидази ІЕФ з листя гіркокаштана звичайного ураженого *C. ohridella* (позначення 1-8); стрілки вказують на помітні відмінності в рівнях інтенсивності пероксидази ізоформи з рІ 4,08 - 4,15.

Аналіз ІЕФ спектру пероксидази у розчинній фракції білка показав відмінності в їх відносному вмісті в листі *A. hippocastanum* різного ступеня ураження каштановим мінером (табл. 6.4.).

Таблиця 6.4.

Відносний вміст ізоформ ВРОD в листках *A. hippocastanum* L., уражених  
*C. ohridella* (n = 3; ± SD)

Рівень пошкодження листя, %	рІ 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>

Примітки: значення у стовпці, позначені різними буквами (a, b), суттєво відрізнялись згідно з тестом Т'юкі Р < 0,05.

Зі збільшенням рівня пошкодження листя *C. ohridella* відбувається чітко виражене підвищення активності ізоформ в діапазоні рН 4,08 – 4,15 (рис. 6.4.) порівняно з умовним контролем (І група насаджень) на 67,0% для ІІ групи насаджень (відмінність статистично незначима) і на 19,5% для ІІІ групи насаджень (F = 58.43; P = 1.6 · 10<sup>-3</sup>).

Достовірне зменшення (на 48,9%) питомої ваги, порівняно з умовним контролем, зареєстровано для ізоформи з рІ 4,58 у ІІІ групі насаджень гіркокаштана (F = 15.5; P = 0.017). Експресивність ізоформи пероксидази з рІ 4,21 була практично однаковою в І і ІІ групах і знижувалась в ІІІ групі насаджень *A. hippocastanum* на 16%. Основна ізоформа з рІ 4,25 проявила тенденцію до зниження у дерев з високим пошкодженням листя фітофагом

(II і III групи) порівняно з низьким (I група), а саме на 21,5 і 18,7% відповідно. Таку ж тенденцію виявила й ізоформа з  $rI$  4,42: зменшення порівняно з умовним контролем на 13,4 і 8,1% відповідно до II і III групи насаджень *A. hippocastanum*.

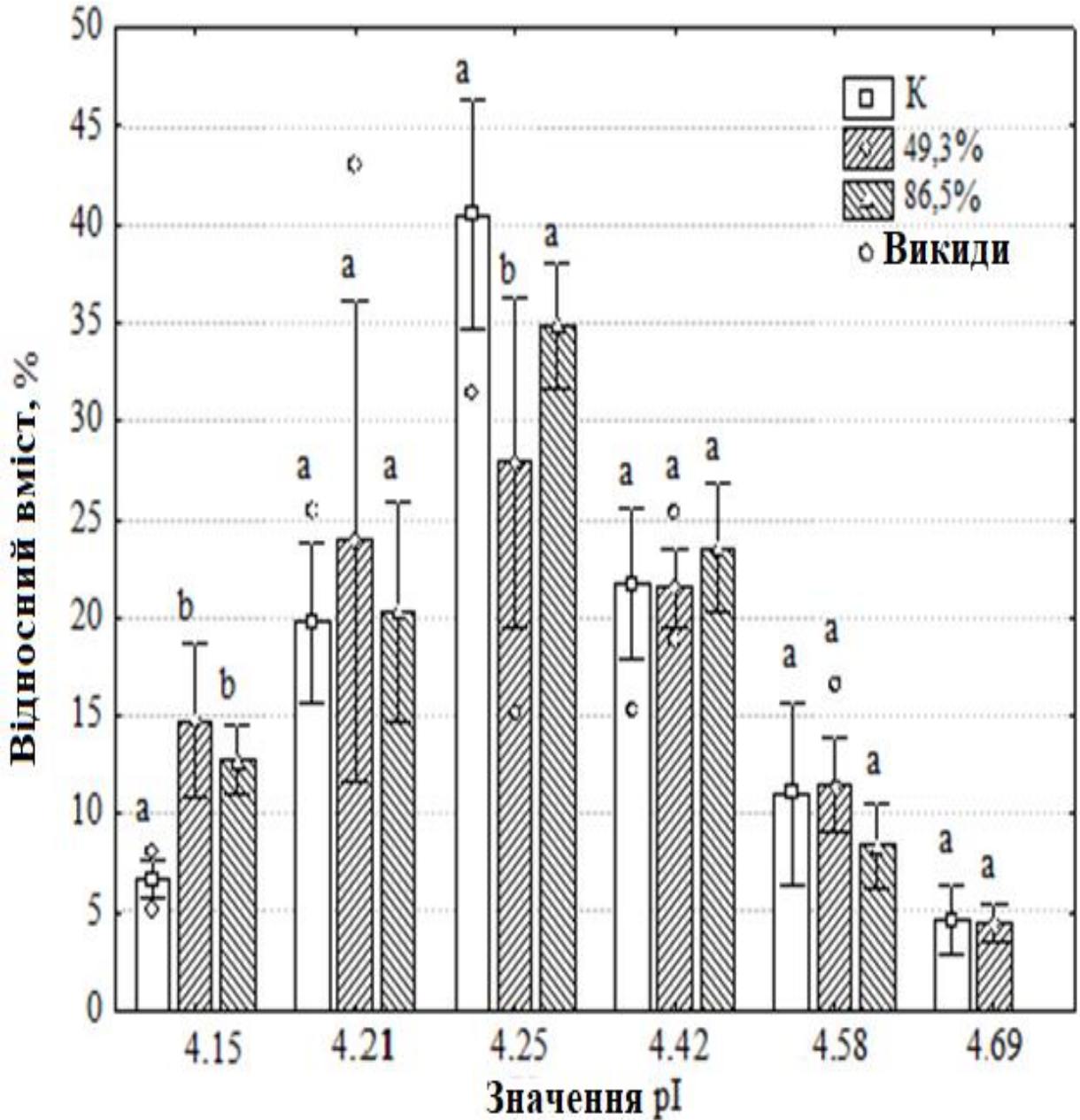


Рис. 6.4. Відносний вміст ізоформ VPOD (% від загальної кількості ізоформ спектру IEF) залежно від рівня пошкодження листя гіркокаштану звичайного ураженого *S. ohridella*; різні літери (a, b) суттєво відрізнялись згідно з test-тестом Т'юкі  $P < 0,05$ ; значення представляють середні значення  $n = 3$  спектру IEF.

У всіх групах насаджень гіркокаштана звичайного (окрім дослідної ділянки 3 парку Т. Г. Шевченка) домінантною ізоформою є ізопероксидаза з рІ 4,25 (рис. 6.4.), найбільша питома вага якої представлена у групи дерев *A. hippocastanum* з низьким рівнем пошкодження листків мінером і складає, в середньому,  $40,5 \pm 5,78$  %. У насадженнях із середнім і високим рівнем ураженості листків гіркокаштана звичайного 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 становило 17,1-24,5%, для середнього – 20,3-23,3% і для високого рівня пошкодження листків *A. hippocastanum* каштановим мінером – 21,0-26,1%.

У листках дерев з дослідної ділянки 3 парку Т.Г. Шевченка домінантною виявилась ізоформа з рІ 4,21 (38,0%) У всіх інших зразках значення питомої ваги цього компоненту коливались у межах від 10,4% парк Лазаря Глоби до 25,4% лісопарк Дружба. Листки *A. hippocastanum*, пошкоджені на 86,5%, характеризувались відсутністю компонента з рІ 4,69, який у всіх інших зразках мав невелику питому вагу (3,4–6,6%).

При аналізі всіх груп насаджень для реакції-відповіді рослин *A. hippocastanum* на пошкодження мінером характерним виявилось достовірне підвищення питомої ваги ізоформи пероксидази з рІ 4,15 як із середнім, так і з високим рівнем ураження листків порівняно з контролем на 121,0 і 190,4% відповідно ( $F = 36.77$ ;  $p = 4.0 \cdot 10^{-5}$ ;  $F_{0.05} = 4.67$ ;  $F = 75.73$ ;  $p = 8.8 \cdot 10^{-7}$ ;  $F_{0.05} = 4.67$  відповідно). Достовірної різниці між середнім і високим ступенем пошкодження *C. ohridella* листя цієї ізопероксидази не знайдено.

В умовах механічного пошкодження листя гіркокаштана достовірно знижувалась на 31,0% питома вага домінантною ізоформи пероксидази з рІ 4,25 за середнього ступеня ураження листків каштановою міллю ( $F = 13.65$ ;  $p = 2.0 \cdot 10^{-3}$ ;  $F_{0.05} = 4.49$ ). Тенденція до зниження питомої ваги (на 14.9%)



цього компоненту відмічається для високого пошкодження листків фітофагом порівняно з контролем ( $F = 4.61$ ;  $p = 0.0513$ ;  $F_{0.05} = 4.67$ ).

Порівняно з липнем, у серпні основна структура спектрів ферменту, в основному, збереглась. Зареєстровано деякі зміни значень рІ у листі дерев з дослідної ділянки 3 парку Тараса Григоровича 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 з дослідних ділянок на території парків Тараса Григоровича Шевченка, Лазаря Глоби, Ботанічного саду ДНУ імені Олеся Гончара, Дружби народів і скверу Металургів. Оскільки на денситограмі їх важко було чітко розрізнити для розрахунку питомої ваги, їх вважали за одну (рис. 6.5., 6.6.). Відміни полягали, головним чином, як і в липні, в зміні експресії всіх компонентів спектру.

Слід відзначити, що неоднакова активність пероксидази була притаманна групам дерев з однаковим рівнем ураженості листя фітофагом. Так, у групі рослин з низьким пошкодженням листя мали найвищі показники відносного вмісту ізопероксидази з рІ 4,25 (41,6 і 46,3% відповідно), а у дерев з моніторингової ділянки в парку Молодіжний – 33,7%. Високим рівнем експресивності ізоформи 4,25 відзначались дерева з ділянок парків Глоби, Ботанічного саду (середній рівень ураження листя) і ділянки з лісопарку Дружба (високий рівень пошкодження листків).

Спостерігалось суттєве підсилення активності ізопероксидази з рІ 4.15, відносний вміст якої в листках *A. hippocastanum* із середнім і високим рівнем пошкодження був вищим в 2,2 і 1,9 рази, порівняно з низьким рівнем ураження листя. Можна припустити, що дана ізоформа пероксидази може бути залучена в процеси взаємодії рослинної клітини з фітофагом. За літературними даними виявлено вплив комах і патогенної інфекції на кількісний і якісний склад ізоензимів антиоксидантних ферментів (Allison, Schultz, 2004).

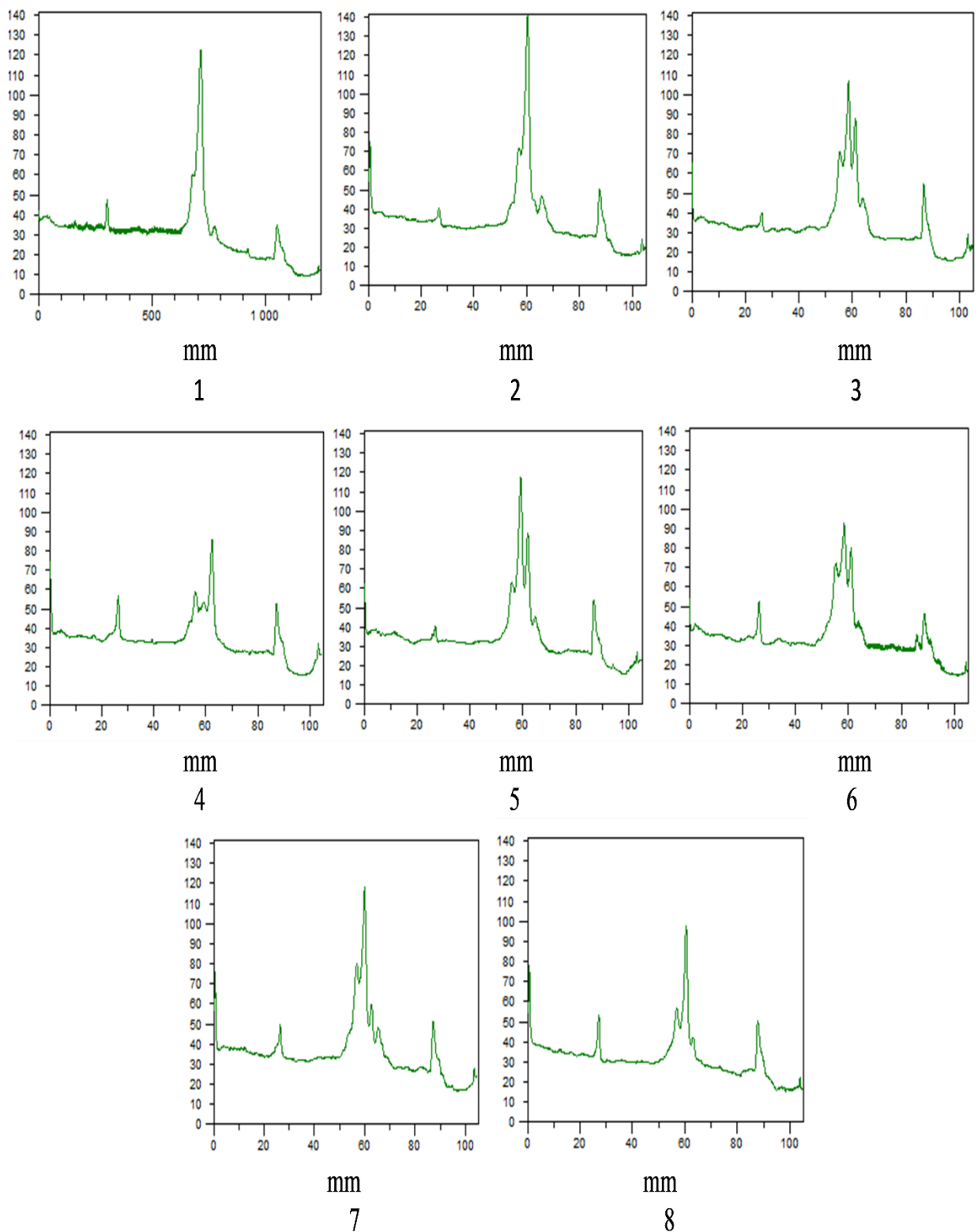


Рис. 6.5. Денситограми профілів пероксидази ІЕФ з листя гіркокаштану звичайного ураженого *C. ohridella* (позначення 1-8) у липні.

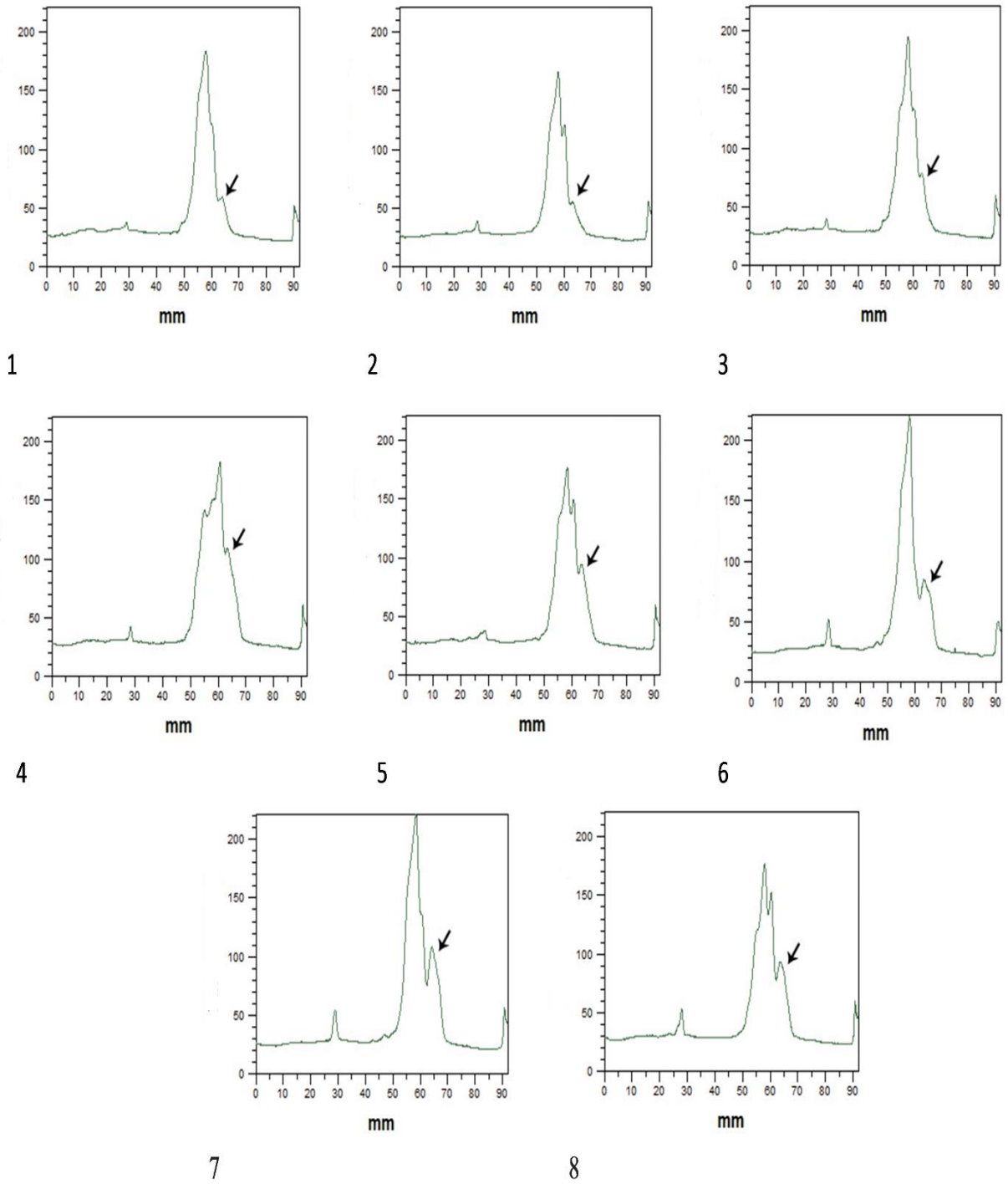


Рис. 6.6. Денситограми профілів пероксидази ІЕФ з листя гіркокаштана звичайного ураженого *C. ohridella* (позначення 1-8) у серпні.

Відмінності експресивності/питомої ваги ізоформ пероксидази дерев каштану кінського, ураженість яких каштановим мінером однакова, можна пояснити різними умовами їх існування у великому промисловому місті, до яких належать вплив викидів як автомобільного транспорту (п. Л. Глоби, лісопарк Дружби), так і промислових підприємств (сквер Металургів, п. Т.Г. Шевченка).

Наприклад, поряд із сквером Металургів проходять автомагістралі з інтенсивним рухом транспорту. В цьому районі відмічені найбільш високі концентрації важких металів у ґрунтах і забруднення повітряного середовища газопиловими викидами. Парк Тараса Григоровича Шевченка знаходиться в зоні інтенсивної седиментації шкідливих домішок заводів південно-східної частини Лівобережжя, а парк Лазаря Глоби відноситься до центральної частини міста, яка характеризується інтенсивним рухом автотранспорту, розташований на пониженій ділянці з прогресивним накопиченням забруднюючих речовин.

Разом з тим, ферментативна антиоксидантна система захисту виявилась неефективною в більшості насаджень, незважаючи на підвищення активності BPOD і GPOD, можливо, за надлишкового накопичення активних форм кисню, а також пероксиду водню, про що свідчить суттєве зниження активності каталази. Відмінності в експресивності питомої ваги ізоформ пероксидази дерев гіркокаштана звичайного, ураженість яких каштановим мінером однакова, можна пояснити різними умовами їх існування у великому промисловому місті.

Каштановий мінер впливає на функціональний стан гіркокаштана звичайного, що підтверджується змінами у вмісті розчинних білків, активності та ізоферментному складі бензидинової пероксидази протягом вегетації. Статистично значимі відмінності встановлено для бензидин-

пероксидази, активність якої підвищувалась, в середньому, в 2,4 рази за ураження фітофагом листя дерев гіркокаштана звичайного.

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

Високий рівень ураження листків *A. hippocastanum* фітофагом знайшов своє відображення в зміні ізозимного профілю бензидин-пероксидази. У листках гіркокаштана, пошкоджених мінером на 78,3 і 97,5% активується експресія ізоформ ВРОД з рІ 4,21 і з рІ 4,15 (на 67,7 і 120%) та інгібується активність домінантної ізопероксидази з рІ 4,25. Зафіксовано зміну значень рІ в групі дерев з дослідної ділянки парку Шевченка.

Отримані результати демонструють активізацію ферментативної антиоксидантної системи захисту *A. hippocastanum* на пошкоджуючу дію каштанового мінера, що дозволяє рослині вижити і завершити програму онтогенезу в цих несприятливих умовах.

## ВИСНОВКИ

1. З'ясовано 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*. Чим вище за рельєфом розташовані насадження гіркокаштана звичайного, тим більший відсоток їх заселення, причому така тенденція спостерігалась всі три літні місяці. Найнижчий показник в парку Мануйлівському, де насадження гіркокаштана 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 гіркокаштана 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 гіркокаштана за середнього ураження мінером. Найменші показники коефіцієнту варіації зареєстровані для активності гваякол-пероксидази за високого, а для каталази – за низького рівня пошкодження

листіків фітофагом. При вивченні активності гваякол-пероксидази в гомогенатах листків гіркокаштана 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 фітофагом (9.5→18.0%).

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

6. У більшості груп насаджень домінантною ізоформою є ізопероксидаза з  $pI$  4.25, найбільша питома вага якої представлена у групи дерев гіркокаштана звичайного з низьким рівнем пошкодження листків *C. ohridella* і складає, в середньому,  $40.5 \pm 5.78\%$ . У насадженнях із середнім і високим рівнем ураженості листків каштановим мінером значення цього параметру коливається 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 гіркокаштана 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 ЛІТЕРАТУРИ

1. Акимов М. П. (1948). Основные закономерности распространения животного населения. Растительный и животный мир юго-востока УССР, Ч. 2. Животный мир. Вып. 4. Днепропетровск, ДГУ. 3-8.
2. Акімов І. А., Зерова М. Д., Гершензон З. С. (2003). Перше повідомлення про появу в Україні каштанової мінуючої моли *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae) на кінському каштані звичайному *Aesculus hippocastanum* (Hippocastanaceae). Вісник зоології, (37) 1, 3-12.
3. Акимов И. А., Зерова М. Д., Нарольский Н. Б. (2003). Фенология каштановой минирующей молинебезпечного вредителя конского каштана в Украине. Экобезопасность, (6), 44-46.
4. Акимов И. А., Зерова М. Д., Нарольский Н. Б., Никитенко Г. Н., Свиридов С.В., Коханец А.М., Бабидорич М.М. (2006). Биология каштановой минирующей моли, *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae), в Украине. Рус. Зоологии, (40), 4, 321-332.
5. Андреева В. А. (1988). Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. М.: Наука, 8-40.
6. Аникин В. В., Золотухин В. В., Кириченко Н. И. (2016). Минирующие моли-пестрянки *Lepidoptera: Gracillariidae* среднего и нижнего Поволжья. Ульяновск. Корпорация технологий продвижения, 152 с.
7. Аникин В. В., Золотухин В. В., Полумордвинов О. А. (2019). Массовое повреждение листьев конского каштана (*Aesculus hippocastanum*) охридским минером (*Cameraria ohridella*) на территории Пензы в 2019 году. Бюл. Бот. сада Сарат. гос. Университета, (17) 4, 235-241.



8. Антоненц Н. В., Барсов В. А. (1998). Лесопатологическое обследование насаждений Днепроовско-Орельского заповедника. Заповідна справа в Україні, (4), 2.1, 56-64.
9. Антоненц Н. В., Барсов В. А. (2000). Краснокнижные виды насекомых Днепроовско-Орельского заповедника. Вестн. Зоологии, (34) 1-2, 84 с.
10. Антюхова О. В. (2007). Огляд мінерів паркової зони в Придніпровському регіоні. Вісник університету, (2), 62-67.
11. Антюхова О. В. (2008). Сезонний розвиток каштанової мінуючої молі. Вісник захисту рослин, (4), 57-61.
12. Антюхова О. В. (2009). Новий шкідник кінського каштана в Придніпров'ї. Захист і карантин рослин, (2), 48 с.
13. Бабидорич М. М. (2003). Каштанова мінуюча міль вражає кінський каштан на Україні. Стан та розвиток агропромислового виробництва в межах Єврорегіону. Верхній Прут; Матеріали 1-ї міжнар. Науково практичної конференції, Чернівці, 40-41.
14. Бабіченко В. М. (2007). Зміни температури повітря на території України наприкінці ХХ та початку ХХІ століття. Український географічний журнал, (4), 3-12.
15. Байцар А. Л. (2012). Фізична географія України. Навчально-методичний посібник. Львів: ЛНУ імені І. Франка, 354 с.
16. Барсов В. А. (1975). К фауне чешуекрылых степей юго-восточной Украины. Вопр. степного лесоведения и охраны природы. Тр. комплекс, экспед. ДГУ, (5), 205-210.
17. Бацула О. О., Канаш О. П., Лактіонова Т. М., Медведєв В. В. (2007). Ґрунти. Карта. Національний атлас України. ДНВП Картографія. Київ, 188-189.

18. Бащенко М. М. (2019). Плодючість та строки ембріонального розвитку каштанової молі *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986 (*Lepidoptera: Gracillariidae*) в лабораторних умовах за різних температур. Карантин і захист рослин, (5), (6), 27-29.
19. Белова Я. А. (1997). Экология, микроморфология, антропогенез лесных почв степной Украины. Днепропетровск, ДНУ.
20. Белоусов Ю.В. (2007). Сапожникова М.Н. Новые вредители конского каштана в Одессе. Проблемы озеленения крупных городов. Альманах. Прима, (12), 172-173.
21. Бельгард А. Л. (1950). Лесная растительность юго-востока УССР. Киев, КГУ, 1257 с.
22. Бессонова В. П. (2001). Методи фітоіндикації в оцінці екологічного стану довкілля: Навчальний посібник. Запоріжжя, ЗДУ, 196 с.
23. Булава Л. М. (2008). Географічне положення, рельєф і геологічна будова України. Елек. Навчальний посібник. Полтава, ПДПУ, 40 с.
24. Вилкова Н. И. (2000). Иммунитет растений к вредным организмам и его биоценотическое значение в стабилизации агроэкосистем и повышении устойчивости растениеводства. Вестник защиты растений. (2), 3-15.
25. Вишневський В. І., Косоцький О. О. (2003). Гідрологічні характеристики річок України. К.: Ніка-Центр, 324 с.
26. Волощинська С. С. (2008). Рослини як біоіндикатори техногенного пресу на екосистеми м. Ковеля. Науковий вісник Чернівецького університету. Чернівці: Рута, (417), 168-173.
27. Гаманова О. М. (2011). Каштанова мінуюча міль та захист гіркокаштана звичайного в міських насадженнях: Автореферат дисертації кандидата сільсько-господарських наук. Київ, 20 с.

28. Гевал В. Ф., Гузь Н. М. (2012). Сучасний стан насінного потенціалу гіркокаштана восьмиличинкового у західному регіоні України. Матеріали наукової конференції «Стан і біорізноманіття екосистем Швацького національного природного парку». Львів: Сполом, 7-10.
29. Голобородько К. К., Рябка К. О., Зайцева І. А, Кондратьєва К. В. (2019). Поширення та сучасний стан каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimič, 1986) у м. Дніпропетровськ. Питання біоіндикації та екології. Запоріжжя: ЗНУ, (14) 2, 163-168.
30. Голосова М. А., Гниненко І. Ю. (2003). Возможность появления Охридского минера в России. Мониторинг лесных урбосистем. Международная конференция. М.: МГУЛ, 43-44.
31. Голосова М. А., Гниненко Ю. И. (2006). Появление охридского минера на конском каштане в Москве. Лесной вестник, (2), 43-46.
32. Голосова М. А., Гниненко Ю. И., Голосова Е. И. (2008). Каштановый минер *Cameraria ohridela* – опасный карантинный вредитель. М.: ВПРС МОББ, МГУЛ, ВНИИЛМ, 26 с.
33. Гнатів П. С. (2008). Середовище, антропогенні чинники й адаптація рослин. Науковий вісник Волинського національного університету імені Лесі Українки. Сер.: Біологічні науки. Луцьк: ВНУ ім. Лесі Українки, (3), 257-264.
34. Гниненко Ю. И., Шепелев С. В. (2004). Новые фитофаги и болезни древесных пород. Лесное хозяйство, (3), 48 с.
35. Гниненко Ю. И, Голосова М. А., Жуков А. М. (2003). Состояние конского каштана обыкновенного в некоторых странах Европы. Лесохозяйственная информация, (7), 61-63.
36. Гниненко Ю. И., Раков А. Г. (2011). Охридский минер, или каштановая минирующая моль-пестрянка. Защита и карантин растений, (2), 34-36.

37. Григорюк І. П., Ліханов А. Ф., Пентелюк О.С. (2016). Динаміка вмісту поліфенолів у листках рослин гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.). Біоресурси і природокористування, (7) 1-2, 5-12.
38. Григорюк І. П., Пентелюк О. С., Ліханов А. Ф., Костенко С. М., Оверченко О. В., Субін О. В. (2017). Фізіологічна адаптація і стійкість рослин роду *Aesculus* L. проти каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić). Монографія. Київ, 160 с.
39. Григорюк І. П., Ліханов А. Ф., Мельничук М. Д., Клюваденко А. А., Демчук Т. Л. (2012). Система конституціональної стійкості рослин роду *Aesculus* L. до каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić). Доп. НАН України, (7), 144-152.
40. Григорюк І. П., Лук'яненко Т. Л. (2015). Фізіологічні та молекулярні основи стійкості видів рослини роду *Aesculus* L. проти каштанового мінера. ТСП «Компрінт», Київ.
41. Григорюк І. П., Машковська С. П., Яворовський П. П., Колесніченко О. В. (2004). Біологія каштанів. Київ: Логос, 380 с.
42. Григорюк І. П., Демчук Т. Л., Серга О. І. та ін. (2010) ДНК-маркери і способи оцінки стійкості видів та гібридів рослин роду Гіркокаштан (*Aesculus* L.) до каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić) в екологічних умовах Київського мегаполісу: Метод. рекомендації. Київ: Видавничий центр НУБіП України, 29 с.
43. Григорюк І. П., Лісовий М. М., Пентелюк О. С. (2017). Системи фоторецепторів як маркери орієнтації каштанової мінуючої молі в просторі. Науковий журнал національного університету Біоресурсів і природокористування України. Серія: Біологія. Біотехнологія. Екологія. 32-39.

44. Гугля Ю. А., Зиненко А. И. (2008). Новые данные о расселении каштановой минирующей моли, *Cameraria ochridella* (*Lepidoptera*, *Gracillariidae*), на территории Украины. Вестник зоологии. (42) 3, 220 с.
45. Демчук Т. Л., Григорюк І. П., Коломієць Ю. В. (2011). Перебудови фітогормонального статусу в листках гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.), індуковані каштановою мінуючою міллю (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimic). Ботаніка та мікологія: проблеми і перспективи на 2011-2020 роки. Матеріали Всеукр. Наукової конференції. Київ, 260-261.
46. Дідух Я. П., Мінарченко В. М., Протопопова В. В., Ткаченко В. С., Шеляг-Сосонко Ю. Р. (2007). Рослинність. Карта. Національний атлас України. Київ, ДНВП «Картографія», 198-199.
47. Дрозда В. Ф., Кочерга О. М., Мельничук С. Д., Гойчук А. Ф., Брайко В. Б. (2013). Особливості біології, екології та контроль чисельності каштанової мінуючої молі *Cameraria ohridella* Desch. & Dimic (*Lepidoptera*, *Gracillariidae*) в умовах Полісся. Науковий вісник НЛТУ України, (23) 2, 23-30.
48. Евдошенко С. И., Сауткин Ф. В. (2012). Моли-пестрянки (*Lepidoptera: Gracillariidae*) – вредители декоративных деревьев и кустарников зеленых насаждений Беларуси. Часть 1: Подсемейство *Lithocolletinae*. Веснік Гродзенскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя Янкі Купалы. (5). Эканоміка. Сацыялогія. Біялогія (3), 128-135.
49. Журавлёва Е. Н. (2014). Первое появление охридского минера *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera: Gracillariidae*) на конском каштане обыкновенном на территории большого Сочи. Материалы международной конференции. под ред. Д. Л. Мусолина и А. В. Селиховкина. Издат.: Санкт-Петербург госуд. лесотехнический университет имени С. М. Кирова, 32 с.

50. Зеленська Л. І. (1995). Екологічний атлас Дніпропетровської області. К.: Думка, 24 с.
51. Зерова М. Д., Никитенко Г. Н., Нарольский Н. Б., Гершензон З. С., Свиридов С. В., Лукаш О. В., Бабидорич М. М. (2007). Каштановая минирующая моль в Украине К.: Велес, 88 с.
52. Коваль І. М., Мікуліна І. М. (2012). Дендрохронологічні дослідження кінського каштана звичайного, пошкодженого каштановою мінуючою мілью в лісостепу. Науковий вісник НЛТУ України. Збірник науково-технічних праць. Львів: РВВ НЛТУ України (22) 10, 40-45.
53. Колесніченко О. В., Григорюк І. П., Грисюк С. М. (2012). Біолого-екологічні системи стійкості та адаптації рослин *Castanea sativa* Mill. К.: ЦП «Компринт», 335 с.
54. Колупаєв Ю. Є. (2007). Активні форми кисню в рослинах при дії стресорів: освіта і можливі функції. Вісник ХНАУ імені В.В. Докучаєва: Серія біол. (12) 3, 6-26.
55. Коротун І. М., Коротун Л. К., Коротун С. І. (2000). Природні умови та ресурси України. Рівне: Принт хауз, 192 с.
56. Кошелев О. І., Полянська Т. Д., Ткаченко В. С. (1997). Рослинність. Геоботанічне районування. Атлас Запорізької області. Видавництво: ДНВП «Картографія», гол. ред. Л.М. Веклич, К.: Укргеодезкартографія, 21 с.
57. Кузнецов В. И. (1981). Семейство *Gracillariidae* (*Lithocolletidae*) — моли-пестрянки. Определитель насекомых Европейской части СССР. Под ред. Г.Я. Бей-Биенко. Л.: Наука, (IV) 2, 149-311.
58. Кузнецов С. І., Немерцалов В. В. (2008). Фактори впливу та вимоги до інтродукційної оптимізації зелених насаджень міського середовища: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. Донецьк, 13-14.

59. Кузнецов В. А., Беднова О. В., Полтавский Е. А. (2020). Оценка влияния качества атмосферного воздуха и почв на состояние каштана конского и его устойчивость к минирующей моли-пестрянке (*Cameraria ohridella*). Успехи в химии и химической технологии. (34) 2, 15-17.
60. Кузьминская Т. П., Торба А. И., Ковалено В. А., Кузьминский А. В. (2016). Особенности развития каштановой минирующей моли *Camararia ohridella* Deschk & Dimic. в условиях Донецкой Степи. Вестник Донского агроуниверситета, (2), 53-59.
61. Кучеревський В. В. (2001). Атлас рідкісних і зникаючих рослин Дніпропетровщини. К.: Фітосоціоцентр, 360 с.
62. Кучеревський В. В. (2004). Конспект флори Правобережного степового Придніпров'я. Дніпропетровськ: Проспект, 292 с.
63. Лавренко Е. М. (1954). Степи Европейской степной области, их география, динамика и история. Вопр. ботаники. Москва. Л.: АН СССР, 157-173.
64. Лаптев О. О. (2001). Интродукція та акліматизація рослин з основами озеленення. К.: Фітосоціоцентр, 127 с.
65. Левон Ф. М. (2008). Зелені насадження в антропогенно трансформованому середовищі: монографія. К.: ННЦ ІАЕ, 364 с.
66. Левон Ф. М., Ільєнко А. А., Назарова Н. А. (2008). Современное состояние и проблемы сохранения конского каштана обыкновенного в зеленых насаждениях г. Киева. Проблемы озеленения крупных городов: матер. XI Междунар. научн.-практ. конф. М.: Изд-во «Фантом», 108-110.

67. Ліханов А. Ф., Григорюк І. П., Пентелюк О. С., Костенко С. М. (2016). Просторова специфічність нагромадження фенолів у листках рослин гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.). Біоресурси і природокористування, (8) 3/4, 5-13.
68. Ліханов А. Ф. (2017). Специфічність диференціації клітин у калюсах стійкої до каштанової мінуючої молі форми гіркокаштана звичайного *in vitro*. Физиология растений и генетика, (49) 6, 495-505. nbuv.gov.ua UJRNFBKR20174965.
69. Лихолат Ю. В., Григорюк І. П., Хромих Н. О., Шупранова Л. В., Судак В. В. (2018). Аналіз метаболічної стійкості *Ambrosia artemisiifolia* L. до дії гербіцидів. Анналі аграрної науки, 16, 60-64. doi.org.10.1016j.aasci.2017.11.005.
70. Лобановський Г., Федоненко В. (2005). Каштанова міль та заходи обмеження її шкодочинності. Карантин і захист рослин. (3), 26-27.
71. Лук'яненко Т. Л., Бойко О. А., Іванова Т. В. (2014). Акумуляція вмісту аденозин фосфатів в листках стійких і нестійких до каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimic) рослин роду *Aesculus* L. Національний університет біоресурсів і природокористування України, Жур. Біоресурси і природокористування, (6), №1-2, 120-124.
72. Ляшенко І. В., Шупранова Л. В., Вінниченко О. М. (2005). Фізіолого-біохімічні дослідження гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) в умовах техногенного забруднення. Тези наук. конф. молодих вчених «Сучасні проблеми фізіології рослин». Ужгород, 80-81.



73. Маринич О. М. (1990). Географічна енциклопедія України. Видання 3. К.: УРЕ, (2), 324с.
74. Маринич О. М., Шищенко П. Г. (2006). Фізична географія України. Підручник. Видавництво З. К.: Знання, 511 с.
75. Машковская С. П., Шумик Н. И. (2008). Оценка состояния и адаптивного потенциала деревьев конского каштана обыкновенного к действию основных загрязнителей в условиях г. Киева. Проблемы озеленения крупных городов: матер. XI междунар. научн.-практ. конф. М., 115-117.
76. Мікуліна І. М. (2011). Ефективність інсектицидів проти каштанового мінера (*Cameraria ohridella* Deschka and Dimic, 1986: *Lepidoptera: Gracillariidae*) при різних термінах оброблення. Вісник Харківського національного аграрного університету. Фітопатологія та ентомологія. (9), 122-127.
77. Мікуліна І. М. (2009). Інвазійні комахи-мінери у зелених насадженнях м. Харків, Зоологічна наука у сучасному суспільстві: матер. Всеукр. наук. конф., присвяч. 175-річчю заснування кафедри зоології. К.: Фітосоціоцентр, 307-312.
78. Мильков Ф. Н. (1970) Физико-географическое районирование Украинской ССР. Изв. Всесоюз. Геогр. о-ва. (102) 4, 402-403.
79. Мельничук М. Д., Посудін Ю. І., Годлевська О. О. (2009). Флуоресцентний аналіз рослин протягом розвитку та в стресових умовах. Агробіологія: зб. наук. праць. Біла Церква, 1 (64), 1-8.
80. Мешкова В. Л. Мікуліна І. М. (2008). Оптимізація обліку чисельності каштанового мінера *Cameraria ohridella* Deschka et Dimic, 1986 (*Lepidoptera, Gracillariidae*). Лісівництво і агролісомеліорація. Х.: Укр. НДІЛГА, 182-186.

81. Мешкова В. Л., Мікуліна І. М. (2009). Поширеність каштанового мінера (*Cameraria ohridella* Deschka and Dimic, 1986: *Lepidoptera: Gracillariidae*) у зелених насадженнях Харківщини. Вісник ХНАУ Серія: «Ентомологія та фітопатологія», (8), 105-109.
82. Мешкова В. Л., Туренко В. П., Байдик Г. В. (2014). Адвентивні шкідливі організми в лісах України. Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія «Фітопатологія та ентомологія», (1) 2, 112-121.
83. Мищенко А. В., Артемьева Е. А. (2015). К познанию трофических связей избранных групп минирующих насекомых Среднего и Нижнего Поволжья. Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация, (2), 55-63.
84. Мищенко А. В. (2014). Обзор минирующих молей-пестрянок рода *Phyllonorycter* Hubn. (*Lepidoptera, Gracillariidae*) Среднего Поволжья и таблица для определения видов с использованием морфологических особенностей гениталий самок. Энтномол. обзор. (93) 2, 448-455.
85. Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний, П. С. (2001). Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 200 с.
86. Нікітенко Г. М., Свиридов С. В. (2007). Шкідники кінського каштана. Карантин і захист рослин: журнал, (10), 22-28.
87. Нерольский Н. Д., Никитенко Г. Н. (2004). Распространение каштановой минирующей моли *Cameraria ohridella* Desch. & Dem (*Lepidoptera, Gracillariidae*) в Украине. Материалы докладов международной научн.-практ. конференции Краснодар, 46-48.

88. Огороднійчук Ю. О. (2009). Динаміка стану насаджень гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) у Києві. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України, (134) 3, 311-315.
89. Опанасенко В. Ф., Кабар А. Н., Мартынова Н. В., Русецкая Л. Л., Домницкая И. Л., Билык И. В., Ломыга Л. Л., Замятина Л. П. (2015). Каталог растений ботанического сада Днепропетровского национального университета имени Олеся Гончара. Д.: Лира, 8-80.
90. Палієнко В. П., Матошко А. В., Барцевський М. Є. (2007). Геоморфологічна будова. Карта. Національний атлас України. Київ, ДНВП «Картографія», 158-159.
91. Пасічний Х. В., Сердюк С. М. (2002). Динаміка важких металів у ґрунтовому покриві внаслідок антропогенного забруднення навколишнього середовища (Динаміка важких металів у ґрунтовому покриві внаслідок антропогенного забруднення навколишнього середовища). Екологія та природокористування, 4, 111-117.
92. Пашков А. П., Семенова А. М., Немикіна А. Д. (2009). Глобальні зміни клімату: загрози людству та шляхи вирішення. Наук. Вісник. НЛТУ України, (19) 15, 107-115.
93. Пащенко В. М. (1985). Степова фізико-географічна зона. Географ. енцикл. України. К.: Наук. думка, 235 с.
94. Пентелюк О. С., Григорюк І. П. (2016). Одержання аспективного матеріалу й індукції якалюсогенезу стійкої проти каштанової мінуючої молі форми гіркокаштана звичайного. Карантин і захист рослин, (10), 13-15.

95. Петрова С., Юрукова Л., Велчева И. (2012). Конский каштан (*Aesculus hippocastanum* L.) как биомонитор загрязнения воздуха в г. Пловдив (Болгария). Журнал биологических наук и биотехнологий, 1 (3), 241-247.
96. Піхало О. В. (2010). Сучасний стан гіркокаштана звичайного (*Aesculus Hippocastanum* L.) в декоративних насадженнях історичної частини м. Києва. Науковий вісник Нац. університету біоресурсів і природокористування України, 152. (1), 136-140.
97. Полупан М. І., Соловей В. Б., Величко В. А. (2005). Класифікація ґрунтів України. К.: Аграрна наука, 300 с.
98. Полупан М. І., Соловей В. Б., Величко В. А. (2009). Ресурсний потенціал продуктивності ґрунтового покриву Степу Північного. Вісник аграрної науки, (12), 12-18.
99. Полупан М. І., Соловей В. Б., Величко В. А. (2009). Просторова диференціація зволоження Степу Північного залежно від гіпсометричного рівня місцевості. Вісник аграрної науки, (5), 33-40.
100. Поляков О. К., Сулова О. П., Нецветов М. В., Дацько О. М., Лихацька О.М. (2012). Життєздатність деревних рослин у міських вуличних насадженнях на Південному Сході України. Промышленная ботаника. (12), 12-18.
101. Поляков О. К., Сулова О. П., Хархота Л. В. (2013). Стан деревних рослин у паркових насадженнях промислових міст південного сходу України. Промышленная ботаника. 13, 109-115.
102. Попова В. П. (1968). Физико-географическое районирование Украинской ССР. К.: Изд-во Киев. ун-та, 683 с.
103. Попов Г. В., Бондаренко-Борисова И. В. (2007). Об устойчивости конского каштана обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) к вредителям и болезням на юго-востоке Украины. Промышленная ботаника. Вып. 7, 252-258.

104. Попов Г. В., Свиридов С. В. (2009). Каштановая моль и борьба с ней в Донецкой области. Донецк, 20 с.
105. Пузанов И. И., (2014). Заслуги А.А. Браунера в изучении фауны и зоогеографии степной Украины. Орнит. Жур.23, 1131-1137.
106. Роговський С. В. (2009). Заходи боротьби з мінуючою мілью як шкідника гіркокаштана звичайного в умовах Лісостепу України. Науковий вісник НЛТУ України: зб. наук.-техн. праць. Львів : РВВ НЛТУ України, 28, 26-33.
107. Рогинский А. С., Синчук О. В., Сауткин Ф. В., Буга С. В. (2014). Распространение и вредоносность каштановой минирующей моли (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimič) в зеленых насаждениях Беларуси. Труды БГУ, 9 (2), 95-103.
108. Рогинский А. С., Буга С. В. (2016). Динамика развития мин личинок каштановой минирующей моли (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimič, 1986) на листовых пластинках каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) в условиях Беларуси. Труды БГУ, том 11, часть 1, 314-319.
109. Рогинский А. С., Буга С. В. (2017). Краткая морфометрическая характеристика личинок каштановой минирующей моли (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimič, 1986; *Lepidoptera: Gracillariidae*). Минск, сб. статей XI Зоологической Международной научно-практической конференции, 371-374.
110. Рогинский А. С., Синчук О. В., Сауткин Ф. В., Буга С. В. (2015). Каштановая минирующая моль (*Cameraria ohridella* Deshka & Dimič, 1986) в Беларуси, экспансия завершена. Зоологические чтения. Материалы международной научно-практической конференции, посвященной памяти профессора Бенедикта Дыбовского, Гродно, ГрГУ им. Я. Купалы. Гродно: ГрГУ, 215-217.

111. Рогожин В. В. (2004). Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. Ст.- Петербург: ГИОРД, 240 с.
112. Сажин А. Н., Васильев Ю. И., Чичагов В. П., Ларионов Г. А. (2012). Эоловый морфогенез и современный климат евразии (ст. 1. динамика атмосферы, блокирующие и эоловые процессы). Институт географии РАН, (3), 10-20.
113. Сараненко І. І. (2018). Аналіз стійкості представників роду *Aesculus* L. до забруднення довкілля в умовах міста Херсона. Науково-практичний журнал, Екологіч. Науки, 3 (22), 53-56.
114. Санаев, И. В. (2006). Роль зеленых насаждений в создании оптимальной городской среды. Лесной вестник, 6, 71-77.
115. Сауткин Ф. В., Евдошенко С. И. (2012). Современное распространение в условиях Беларуси инвазивных видов минирующих молей (*Lepidoptera: Gracillariidae*) – филлофагов-минёров белой акации *Robinia pseudoacacia*. Вестн. Белорус. гос. ун-та. Серия 2. Химия. Биология. География, 1, 103-104.
116. Селиховкин А. В., Поповичев Б. Г., Мусолин Д. Л. (2016). Моли-пестрянки (*Lepidoptera: Gracillariidae*) — важнейшие вредители городских насаждений Санкт-Петербурга. Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике: матер. Всерос. конф. с междунар. участием. Красноярск: ИЛ СО РАН, 202-203.
117. Станкевич С. А. (2013). Картирование загрязненности атмосферы Приднепровского промышленного района диоксидами азота и серы с использованием спутниковых данных. Доповіді Національної академії наук України, (3), 106-113.

118. Суслова О. П. (2020). Особливості росту *Aesculus hippocastanum* L. У міських насадженнях на південному сході України. Науково-практичний журнал, Екологіч. Науки, 1 (28), 278-282.
119. Трибель С.О., Гарманова О. Н. (2008). Каштанова мінуюча міль. К.: Видавництво «Колобіг», 69 с.
120. Трибель С. О., Гарманова О. Н. (2009). Методи моніторингу каштанової мінуючої молі. Ж.:Захист і карантин рослин, 54, 404-417.
121. Філоник І. О., Заморуєва Л. Ф., Кисла А. А. (2010). Склад ліпідів у насінні гіркокаштана звичайного, клена гостролистого та дуба звичайного в умовах Дніпропетровського регіону. Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія, 18. (2), 112-119.
122. Фурст Г. Г. (1979). Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. Москва: Наука, 40–65.
123. Хавезов И., Цалев Д. (1983). Атомно-абсорбционный анализ. Д.: Химия. с. 40.
124. Чеченєва Т. М., Шаванова К. Є., Машковська С. П. (2010). Введення в культуру *in vitro* різних видів гіркокаштана (рід *Aesculus* L.). Физиология и биохимия культ. растений, 42, (2), 132-136.
125. Шаванова К. Є., Таран М. В., Стародуб М. Ф., Марченко О. А. (2014). Експресна оцінка стійкості гіркокаштанів звичайного і червоного проти комплексу чинників довкілля за допомогою методу індукції флуоресценції хлорофілу. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України, 204, 36-43.
126. Allison, S. D., Schultz, S. C. (2004). Differential activity of peroxidase isozymes in response to wounding, Gypsy Moth, and plant hormones in Northern Red Oak (*Quercus rubra* L.). Journal Chemical Ecology, 30(7), 1363-1379. DOI: 10.1023B: JOEC.0000037745.66972.3e

127. Apers, S., Naessens, T., Pieters, L., Vlietinck, A. (2006). Densitometric thin-layer chromatographic determination of aescin in a herbal medicinal product containing *Aesculus* and *Vitis* dry extracts. *Journal of Chromatography, A*. 1112 (1-2), 165-170.
128. Augustin, S., Guichard S., Svato, A., Gilbert M. (2004). Monitoring the regional spread of the invasive leafminer *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera: Gracillariidae*) by damage assessment and pheromone trapping. *Environmental Entomology*. 33, 1584-1592.
129. Augustin, S. (2005). La mineuse du marronnier *Cameraria ohridella*: un *Lépidoptère* invasif en ville. *Insectes*. 28, p. 137.
130. Augustin, S., Guichard, S., Heitland, W., Freise, J., Svatoš, A., Gilbert, M. (2008). Monitoring and dispersal of the invading *Gracillariidae* *Cameraria ohridella*. *Journal of Applied Entomology*, 133 (1), 58-66. DOI:10.1111j.1439-0418.2008.01333.
131. Augustin, S. (2009). *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, horse chestnut leaf-miner (*Gracillariidae, Lepidoptera*). Species accounts of 100 of the most invasive alien species in Europe, in: Drake, J.A. (Ed.), *Handbook of Alien Species in Europe. Invading Nature Springer Series in Invasion Ecology*, Vol. 3. Springer, Knoxville, p. 331.
132. Bagnoli, F., Capuana, M., Racchi M. L. (1998). Developmental changes of catalase and superoxide dismutase isoenzyme, in zygotic and somatic embryos of horse chestnut. *Australian Journal of Plant Physiology*, 25(8), 909-913. DOI: 10.1071PP98068.
133. Balder, H., Feilhaber L., Jäckel B., (2003). Effect of organized foliage-collection in the control of *Cameraria ohridella* in the city of Berlin, Proc. of the Second International Symposium on Plant health in urban horticulture, Berlin, 27-29 august Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft, p. 394.
134. Baraniak, E., Walczak, U., Zduniak, P. (2005). Appearance and migration of the horse-chestnut leafminer *Cameraria ohridella* in relation to city size and



- leaf-raking, using the example of two cities in Western Poland, *Journal Pest Science*, 78, 145-149. DOI: 10.14411/eje.2017.036.
135. Barta, M. (2018). In planta bioassay on the effects of endophytic *Beauveria* strains against larvae of horse-chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella*). *Biological Control*, 121, 88–98. doi.org10.1016/j. biocontrol.2018.02.013.
  136. Bede, J. C., McNeil, J. N., Tobe, S. S. (2006). The role of neuropeptides in caterpillar nutritional ecology. *Peptides*, 28, 185-196. DOI: 10.1016/j. peptides.2006.08.030.
  137. Behmer, S. T., Joern, A. (2008). Coexisting generalist herbivores occupy unique nutritional feeding niches. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United State of America (PNAS)*, 105(6), 1977-1982. doi.org10.1073pnas.0711870105.
  138. Behmer, S. T. (2009). Insect herbivore nutrient regulation. *Annual Review Entomology*, 54, 165–187. doi.org10. 1146annurev.ento.54.110807.090537.
  139. Bennet, R.N., Wallsgrave, R.M. (1994). Secondary metabolites in plant defense mechanisms. *New Phytol.* 127: 617-633. doi: 10.1111j.1469-8137. 1994. tb02968.x.
  140. Buerki, S., Forest, F., Acevedo-Rodríguez, P., Callmander, M. W., Nylander, J. A. A., Harrington, M., Sanmartín, I., Küpfer, P., Alvarez, N. (2009). Plastid and nuclear DNA markers reveal intricate relationships at subfamilial and tribal levels in the soapberry family (*Sapindaceae*) *Molecular Phylogenetics and Evolution*; 51. 238-258.
  141. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
  142. Broda B. (2002). *Zarys botaniki farmaceutycznej*. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich; Warszawa, Poland.
  143. Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstet, K. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*. 91. 179-194.

144. Čalić-Dragosavac, D., Zdravković-Korać, S., Šavikin-Fodulović, K., Radojevič, C., Vinterhalter, B. (2010). Determination of aescin content in androgenic embryos and hairy root culture of *Aesculus hippocastanum*. *Pharmaceutical Biology*, 48(5), 563-567. doi.org10.310913880200903204000.
145. Campa, A. (1991). Biological roles of plant peroxidases: known and potential functions. In *Peroxidases in Chemistry and Biology*. Vol. II. Eds. J. Everse, K.E. Everse, M.B. Grisham. CRC Press, Boca Raton, FL, 25-47.
146. Gastaldo P., Carli S., Profumo P. (1994). Somatic embryogenesis from stem *Aesculus hippocastanum*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 39. 97-99.
147. Chen, Z., Silva, H., Klessing, D. F. (1993) Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, 262, 12, 1883-1886. DOI:10.1126science.8266079.
148. Dabrowska, G., Kata, A., Goc, A., Szechynska-Hebda, M., Skrzypek, E. (2007) Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. *Acta biologica cracoviensia: Series Botanica*, 49(1), 7-17.
149. Dautbasic, M. (1999). Occurrence of *Cameraria ohridella* Deschka et Dimič in BosniaHerzegovina. M. Dautbasic, N. Dimič. Radovi. Works of the Faculty of Forestry. N. 1. 11-14.
150. D'Costa L.E. (2014). Resistance and susceptibility to the invasive leaf miner *Cameraria ohridella* within the genus *Aesculus*. Thesis submitted for the degree of Doc. of Ph. Sch. of Biol. Scien., Royal Holloway, Un. of London, 2014. p. 257.
151. De Prins, J., De Prins, W., De Coninck, E. (2003). The pupal morphology of *Cameraria ohridella* compared with that of the genus *Phyllonorycter* (*Lepidoptera: Gracillariidae*). *Anzeiger für Schädlingkunde*. 76 (6), 145. doi:10.1007 s1034000300092.

152. Deschka, G. & Dimic, N. (1986). *Cameraria ohridella* n. sp. Aus Mactdonien, Jugoslawien (*Lepidoptera*, *Gracillariidae*). *Acta Entomologica Jugoslavica*, 22 (1), 11-23.
153. Deans, C. A., Sword, G. A., Behmer, S. T. (2016). Nutrition as a neglected factor in insect herbivore susceptibility to Bt toxins. *Current Opinion in Insect Science*, 15, 97-103. doi.org10.1016j.cois.2016.04.005.
154. Dziegielewska M., Kaup G. (2007). Occurrence of chesnut leaf miner (*Cameraria ohridella*) on red horse chustnut (*Aesculus x carnea*) in Szczecin. *Prog. Plant Prot.*; 47: 218-222.
155. Dowd, D., Lagrimini, L. M., Hermis, D. A. (1999). Tobacco Anionic Peroxidase Often Increases Resistance to Insects in Different Dicotyledonous Species. *Pesticide Science*, 55, 633-634.
156. Dowd, P. F., Hermis, D. A., Berhow, M. A., Lagrimini, L. M. (2000). Mechanism of insect resistance in transgenic plants (over) expressing a tobacco anionic peroxidase. *Plant Peroxidase Newsletter.*, 14, 93-101.
157. Dudek-Makusch M., Matlawska I. (2011). Flavonoids from the flowers of *Aesculus hippocastanum*. *Acta Poloniac Pharmaceutica, Drug Research*. 68, №.3., 403-408.
158. Esteban-Carrasco, A., López-Serrano, M., Zapata, J. M., Sabater, B., Martín, M. (2001). Oxidation of phenolic compounds from *Aloe barbadensis* by peroxidase activity: Possible involvement in defence reactions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39 (6), 521-527. doi:10.1016s0981942801012700.
159. Filho, O.G. (2006). Coffee leaf miner resistance. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18 (1), 109-117. DOI: 10.1590S167704202006000100009.
160. Gastaldo, R.A., (1994). The genesis and sedimentation of phytoclasts with examples from coastal environments: in Traverse, A., ed. *Sedimentation of Organic Particles*: Cambridge University Press, Cambridge, 103-127.

161. Gilbert, M., Gregoire, J. C., Freise, J. F., Heitland, W. (2004). Long-distance dispersal and human population density allow the prediction of invasive patterns in the horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella*. *Journal of Animal Ecology*, 73, 459-468. doi10.1111/j.1365-2656.2004.00994rep.
162. Gill, R. S., Gupta, K., Taggar, G. K., Taggar, M. S. (2010). Role of oxidative enzymes in plant defenses against herbivory. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 45(2), 277-90. doi.org10.1556/APhyt.45.2010.2.4.
163. Girardo D., Quicke J., Kenis M. (2007). Factors favoring The development and maintenance fouthreaks in an invasive leaf miner *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera*, *Gracillariidae*): a life table study Sandrine, *Agricultural and Forest Entomology*. DOL:10.1111f.14619663.
164. Golubenko, Z., Akhunov, A., Khashimova, N. et al. (2007). Induction of peroxidase as a disease resistance response in resistant (*Hibiscus trionum*) and susceptible (*Althea armeniaca*) species in the family malvaceae. *Phytoparasitica* 35, 401-413. doi.org10.1007/BF02980704.
165. Grabenweger, G., Kehrl, P., Schlick-Steiner, B., Steiner, F., Stolz, M., Bacher, S. (2005). Predator complex of the horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella*: identification and impact assessment. *Journal of Applied Entomology*. 129 (7), 353. doi:10.1111j.14390418.2005.00973.
166. Gregory, R. P. F. (1966). A rapid assay for peroxidase activity. *Biochemical Journal*, 101(3), 582-583.
167. Guérin-Méneville, F.E. (1842). Description dun Crustace amphipode formant un genre nouveau dans la famille des Hyperines. *Revue Zoologique par la Société Cuvierienne*, Juillet 1842.214216.
168. Gulsen, O., Eickhoff, T., Heng-Moss, T., Shearman, R., Baxendale, F., Sarath, G., Lee, D. (2010). Characterization of peroxidase changes in resistant and susceptible warm season turf grasses challenged by *Blissus*

- occiduus. *Arthropod-Plant Interactions*, 4(1), 45-55.  
doi:10.1007/s1182901090863.
169. Guichard S., Augustin S. (2002). Acute spread in France of an invasive pest, the horse chestnut leaf-miner *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera: Garcillariidae*) *J. Pest Sci.*;75:145-149.
  170. Hartmann, T. (2007) From waste products to ecochemicals. Fifty years of research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68, 2831-2846
  171. Hammerschmidt, R., Nuckles, E., Kuc, J. (1982) Association of Enhanced Peroxidase Activity with Induced Systemic Resistance of Cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiologia Plantarum*, 20, 73-80.
  172. Hiraga, S., Sasaki, K., Ito, H., Ohashi, Y., Matsui H. (2001). A large family of class III Plant Peroxidases. *Plant Cell Physiology*, 42 (5), 462-468. DOI: 10.1093pcppce061.
  173. Holoborodko, K. K., Marenkov, O. M., Gorban, V. A. & Voronkova, Y. S. (2016). The problem of assessing the viability of invasive species in the conditions of the steppe zone of Ukraine. *Visn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Biol. Ekol.*, 24 (2), 466-472. doi.org10.15421011663
  174. Hübner, G.; Wray, V.; Nahrstedt, A. (1999). Flavonol oligosaccharides from the seeds of *Aesculus hippocastanum*. *Planta Med.*, 65, 636-642.
  175. Ishino, M.N., De Sibio, P.R., Rossi, M.N. (2011) Leaf trait variation on *Erythroxylum tortuosum* (*Erythroxylaceae*) and its relationship with oviposition preference and stress by a host-specific leaf miner. *Austral Ecology*, 36, 203-211.
  176. Jagiełło, R., Baraniak, E., Karolewski, P., Łakomy, P., Behnke-Borowczyk, J., Walczak, U., Giertych M. J. (2017). Ecophysiological aspects of the interaction between *Cameraria ohridella* and *Guignardia aesculi* on *Aesculus hippocastanum*. *Dendrobiology*, 78, 146-156; DOI: 10.12657 denbio.078.014.

177. Jagiello, E., Baraniak, E., Guzicka, M., Karolewsk, P., Ukowski, A., Giertych M. J. (2019). One step closer to understanding the ecology of *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae): The effects of light conditions. European Journal of Entomology, 116, 42-51 DOI: 10.14411/eje.2019.005.
178. Jaworski T. (2009). *Gracillariidae* (Lepidoptera) of the «Skarpa Ursynowska» nature reserve in Warsaw, Wiadomosci Entomologi. V. 28 (1). 53-60.
179. Jorgensen J. (1989). Somatic embryogenesis in *Aesculus hippocastanum* L. by culture of filament callus. J. Plant Physiol.135., 240-241.
180. Kapusta I., Janda B., Szajwaj B. (2007). Flavonoids in horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*) seeds and powdered waste water byproducts. J. Agric. Food Chem. 55., 8485-8490.
181. Kehrli, P., Bacher, S., (2003). Date of leaf litter removal to prevent emergence of *Cameraria ohridella* in the following spring. Entomologia Experimentalis Et Applicata107, 159-162.
182. Kenis M, Rabitsch W, Auger-Rozenberg M-A, Roques A (2007) How can alien species in-ventories and interception data help us prevent insect invasions., Bulletin of Entomological Research 97: 489-502.
183. Kim, Y. H., Lee, H. S., Kwak, S. S. (2010). Differential responses of sweet potato peroxides to heavy metals. Chemosphere. 81, 79-85. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.06.063.
184. Kindel, R., Hsu, D., Latombe, J.C., and Rock, S. (2000). Kinodynamic motion planning amidst moving obstacles. In Proc. IEEE Int. Conf. on Robotics and Automation, 537-543.
185. Kiss J., Heszky L.E., Kiss E., Gyulai G. (1992). High efficiency adventive embryogenesis on somatic embryos of anther, filament and immature proembryo origin in horse-chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) tissue culture. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 30., 59-64.

186. Kukuła-Młynarczyk A., Hurej M., Jackowski J. (2006). Development of horse chestnut leafminer (*Cameraria ohridella* Deschka and Dimić) on red horse chestnut. *J. Plant Prot. Res.*; 46: 41-47.
187. Kuldová, J., Hrdy, I., Janšta, P. (2007). The horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella*: Chemical control and notes on parasitization. *Plant Protection Science*, 43 (2), 47-56. doi: 10.17221/2255-PPS.
188. Kraus M. (1996). Erste Nachweise der eingeschleppten Kastanien-Miniermotte (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič) (*Lepidoptera. Gracillariidae*) in Mittelfranken, Bayern. *Galathea*. 12., 82-84.
189. Lee, K. P., Cory, J. S., Wilson, K., Raubenheimer, D., Simpson, S. J. (2006). Flexible diet choice offsets protein costs of pathogen resistance in a caterpillar. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273 (1588), 823-829. doi: 10.1098. rspb.2005.3385.
190. Le Gall, M., Behmer, S. T. (2014). Effects of protein and carbohydrate on an insect herbivore: the vista from a fitness landscape. *Integrative and Comparative Biology*, 54 (5), 942-954. doi: 10.1093/icb. icu102.
191. Lees, D. C., Lack, H. W., Rougerie, R., Hernandez-Lopez, A., Raus, T., Avtzis, N. D., Augustin, S., Lopez-Vaamonde, C. (2011). Tracking origins of invasive herbivores through herbaria and archival DNA: the case of the horse-chestnut leaf miner. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9, 322-328. doi.org10.1890/100098.
192. Lev-Yadun, S., Gould K. S. (2009) Role of anthocyanins in plant defence. In: Gould K, Davies K, Winefield Ch (eds) *Anthocyanins, biosynthesis, functions, and applications*. Springer, New-York, 21-48. DOI: 10.1007/97803877733532.
193. Low, P. S., Merida, J. R. (1996). The Oxidative Burst in Plant Defence: Function and Signal Transduction. *Physiol. Plant*, 96, 533-542.

194. Lupi D. (2005). A 3 year sciens sur wei of the natural enemies of the horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella* in Lom-bardy, Italy. *BioControl*, № 50, 113-126.
195. Lushchak O. (2015). Sensing and Implication into Aging. O. v. Lushchak. *Journal of Vasyl Stefanyk Precarpathian National University*. Vol. 2, no. 1., 52-61.
196. Mierziak, J., Kostyn, K., & Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19, 16240-16265. doi: 10.3390/molecules191016240.
197. Milevoj, L. (1997). Horse chestnut leafminer (*Cameraria ohridella*) in Slovenia. L. Milevoj, J. Macek. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes.*, V. 49, n. 1., p. 1.
198. Mithofer, A., & Boland, W. (2012) Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 431-450. doi: 10.1146 annurev-arplant-042110-103854.
199. Mohamed, H., El-Hady, A. A., Mansour, T., El-Rahim El-Samawaty, A. (2012). Association of oxidative stress components with resistance to flax powdery mildew. *Tropical Plant Pathology*, 37 (6), 386-392. DOI: 10.1590/S1982-56762012000600002.
200. Nagy, N. E., Fossdal, C. G., Krokene, P., Krekling, T., Lönneborg, A., Solheim, H. (2004). Induced responses to pathogen infection in Norway spruce phloem: changes in polyphenolic parenchyma cells, chalcone synthase transcript levels and peroxidase activity. *Tree Physiology*, 24 (5), 505-515. DOI: 10.1093/treephys24.5.505.
201. Nardini, A., Raimondo, F., Scimone, M., Salleo, S. (2004). Impact of the leaf miner *Cameraria ohridella* on whole-plant photosynthetic productivity of *Aesculus hippocastanum*: insights from a model. *Trees*, 18 (6), 714-721. doi: 10.1007/s0046800403583.



202. Nieukerken E. J. (2001). *Cameraria ohridella* rukt op naar het westen. Entomol. Berichten. 61., 200-201.
203. Nikolaos, A., Dimitrios, A. (2006). Zusammenfassende Betrachtung über die Verbreitung und die Biologie von *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (*Lepidoptera, Gracillariidae*) in Griechenland., Mitt. Dtsch. Ges. allg. angew. Bd. 15., 177-182.
204. Oszmianski, J., Kalisz, S., Wojdyło, A. (2014). The content of phenolic compounds in leaf tissues of white (*Aesculus hippocastanum* L.) and red horse chestnut (*Aesculus carnea* H.) colonized by the horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimic). *Molecules*, 19, 14625-14636. DOI: 10.3390/molecules190914625.
205. Oszmianski, J., Kolniak-Ostek, J., Biernat A. (2015). The content of phenolic compounds in leaf tissues of *Aesculus glabra* and *Aesculus parviflora* Walt. *Molecules*, 20, 2176-2189. doi.org10.3390/molecules20022176.
206. Patel, S., Nag, M. K., Daharwal, S. J., Singh, M. R. & Singh D. (2013). Plant Toxins: An Overview. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics*, 5 (5), 283-288.
207. Pavan, F., Barro P., Dernadinell, I. (2003). Cultural control of *Cameraria ohridella* on horsechestnum in urban areas by removing fallen leaves in autumn. *Arboriculture*, 29., 253-258.
208. Percival G.C., Barrow I., Noviss K., Keary I., Pennington P. (2011). The impact of horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* Deschka and Dimic) on vitality, growth and reproduction of *Aesculus hippocastanum* L. *Urban For. Urban Green.*; 10:11-17.
209. Percival, Glynn C., Jonathan M. Banks. (2014). Studies of the interaction between horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella*) and bacterial bleeding canker (*pseudomonas syringae* pv. *aesculi*). Vol. 13.

210. Péré Ch. (2009). Ecological impact of the invasive horsechestnut leaf miner, *Cameraria ohridella* Deschka & Dimiš (*Lepidoptera: Gracillariidae*) on native species. Neuchâtel, Switzerland: p. 97.
211. Pschorn-Walcher H. (1994). Field biology of the introduced horse-chestnut leafminer *Cameraria ohridella* Deschka et Dimič (*Lepidoptera: Gracillariidae*) in the Vienna Woods. Linzer Biol. Beitr.; 26: 633-642.
212. Prins W., Puplesiene J. (2001). *Cameraria ohridella*, een nieuwe soort voor de Belgische fauna (*Lepidoptera: Gracillariidae*). Phegea. 29, N 3., 1-6.
213. Ponton, F., Wilson, K., Cotter, S.C., Raubenheimer, D., Simpson, S.J., (2011). Nutritional immunology: a multi-dimensional approach. PLoS Pathog 7, e1002223.
214. Ranieri, A., Castagna, A., Baldam, B., Soldatini, G. F. (2001). Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. Journal of Experimental Botany, 52 (354), 25-35.
215. Raimondo, F., Ghirardelli, L.A., Nardini, A., Salleo, S. (2003). Impact of the leaf miner *Cameraria ohridella* on photosynthesis, water relations and hydraulics of *Aesculus hippocastanum* leaves. Trees, 17, 376-382. doi 10.1007/s0046800302480.
216. Rämert, B., Kenis, M., Kärnestam, E., Niström, M., Rännbäck L.–M. (2005). Host plant suitability, population dynamics and parasitoids of the horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera: Gracillariidae*) in southern Sweden. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B, Soil & Plant Science, 61 (5), 480-486 DOI: 10.1080/09064710.2010.501341.
217. Reinhardt F, Herle M, Bastiansen F, Streit B (2003) Economic impact of the spread of alien species in Germany. Berlin, Germany: Federal Environmental Agency (Umweltbundesamt). p. 229.

218. Safrankova I. (1996). The new species of *Cameraria* in Czech and the calamity damage of the chestnut trees. *Ziva*. 44, N 4., 172-173.
219. Sánchez–Sánchez, H., Morquecho–Contreras, A. (2017). In *Chemical Plant Defence Against Herbivores. Herbivores (chapter I)*. Ed. Vonnie D. C. Shields. IntechOpen, 1-28. DOI: 10.577267346.
220. Salleo, S., Nadini, A., Raimondo, F., Logullo, M. (2003). Effects of defoliation caused by the leaf miner *Cameraria ohridella* on wood production and efficiency in *Aesculus hippocastanum* growing in north-eastern. *Trees-Berlin*. Vol. 17, № 4., 367-375.
221. Schemmer, R., Chládková, P., Medo, J., Barta, M. (2016). Natural prevalence of entomopathogenic fungi in hibernating pupae of *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera: Gracillariidae*) and virulence of selected isolates. *Plant Protection Science*, 52 (3), 199-208. doi.org10.172211102015-PPS.
222. Sediva, A., Vlasinova, H., Mertelik, J. (2013). Shoot regeneration from various explants of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). *Sci. Horticul.* 161. 223-227.
223. Šefrova, H., Lastuvka, Z. (2001). Dispersal of the horse-cheshnut leafminer *Cameraria ohridella* in Europe: its course, ways and causes. *Entomol. Zeit. Stuttgart*. V. 111., 195-198.
224. Singh, H., Dixit, S., Verma, P. C., Singh, P. K. (2013). Differential peroxidase activities in three different crops upon insect feeding. *Plant Signal and Behaviour*, 8 (10), 1-7. doi: 10.4161psb.25615.
225. Simova-Tosic, D., Filev, S. (1985) Contribution to the knowledge of leaf miners of horse chestnut. *Zastita bilja* 36, 235-239.
226. Simpson, D. D. (2002). A conceptual framework for transferring research to practice. *Journal of Substance Abuse Treatment*; 22 (4): 171-182.
227. Shupranova, L. V., Kharytonov, M. M., Khlopova, V. M. (2014). Air pollution Assessment in the Dnepropetrovsk Industrial Megapolice of

- Ukraine. Proceedings of the 32nd NATO.SPS International Technical Meeting on Air Pollution Modeling and its Application. Utrecht, The Netherlands. 7-11 May, 2012: Springer Science+Business Media Dordrecht, 101-104. doi.org10.5277/msc162302.
228. 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. Biosystems Diversity, 27 (3), 238-243. doi: 10.15421011933.
  229. Skuhrawy, V. (1998). Zur Kenntnis der Blattminen-Motte *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (Lepidoptera. Gracillaridae) an *Aesculus hippocastanum* L. in der Tchechischen republik. Ans fur Schadlingskunde Pflanz. Umweltschutz, 71., 82-84.
  230. Skuhrawy V. (2003) *Cameraris ohridella* Des x Dem. 1986. Forestry Compendium. CABI. UK.
  231. Štajner, D., Popović, B. M., Čalić, D., Štajner, M. (2014). Comparative study of antioxidant status in androgenic embryos of *Aesculus hippocastanum* and *Aesculus flava*. The scientific World Journal. 18-25. DOI: dx.doi.org10.11552014767392.
  232. Stanić, G., Jurišić, B. & Brkić, D. (1999). HPLC analysis of Esculin and Fraxin in horse-chestnut bark (*Aesculus hippocastanum* L.) Croatica Chemica Acta, 72, 827-834.
  233. Steele, H., Laue, B. E., MacAskill, G. A., Hendry, S. J., Green, S., (2010). Analysis of the natural infection of European horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*) by Pseu-domonas syringae pv. aesculi. Plant Pathology 59, 1005-1013.
  234. Stigner, H. (2000). De paardenkastan-jeminier-motte, *Cameraria ohridella*, een nieuwe bladmineerder voor Nederland (Lepidoptera: Gracillariidae). H. Stigner. Entomol. Berichten. O. 60., 159-163.

235. Straw, N., Bellet-Travers, M., (2004). Impact and management of the horsechestnut leaf-miner (*Cameraria ohridella*). *Arboricultural Journal* 28, 67-83.
236. Straw N., Tilbury C. (2006). Host plants of the horse-chestnut leaf-miner (*Cameraria ohridella*), and the rapid spread of the moth in the UK 2002–2005. *Arboricultural J.* 29., 83-90.
237. Stygar, D., Dolezych, B., Nakonieczny, M., Zaak, M. (2010). Digestive enzymes activity in larvae of *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera: Gracillariidae*). *Comptes Rendus Biologies*, 333, 725-735. DOI: 10.1016/j.crv.2010.08.004.
238. Snieškienė, V., Baležentienė, L., Stankevičienė, A. (2011). State of horsechestnut, *Aesculus hippocastanum* L. in Lithuania: diseases and pest damages., *Ekologija*. Vol. 57, n. 2., 62-69.
239. Smolinska, B., Leszczynska, J. (2017). Photosynthetic pigments and peroxidase activity of *Lepidium sativum* L. during assisted Hg phytoextraction., *Environmental Science and Pollution Research International*, 24 (15), 13384-13393. doi: 10.1007/s1135601789513.
240. Sorenson, J. S., McLister, J. D., Dearing, M. D. (2005) Novel plant secondarymetabolites impact dietary specialist more than generalist (*Neotoma* spp.) *Ecological Society of America*, 86, 140-154.
241. Sukovata, L., Czokajlo, D., Kolk, A., Ślusarski, S. & Jabłoński, T. (2011). An attempt to control *Cameraria ohridella* using an attract-and-kill technique. *Journal of Pest Science*, 84 (2), 207-212. doi.org10.1007/s1034001003421.
242. Szaboky C., Vas J. (1997). Ujabb adatok a Vadgesztenyelevel-Aknazomoryrol *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic 1986, Lep., Lithocolletidae. *Novenyvedeiem*, 33, № 1, 29-33.
243. Taiz, L. and Zeiger, E. (1991) *Plant physiology: Mineral nutrition*. The Benjamin Cummings Publishing Co., Inc. Redwood City, 100-119.

244. Tarwacki, G., Bystrowski, C., Celner-Warole, K. (2012). Effect of sun-exposure of the horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) on the occurrence and number of parasitoids of the horse chestnut leafminer (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimic) in central Poland in 2004-2006. *Folia Forestalia Polonica*, series A, vol. 54 (1), 56-62.
245. Takos, I., Varsamis, G., Avtzis, D., Galatsidas, S., Merou, T., Avtzis, N. (2008). The effect of defoliation by *Cameraria ohridella* Deschka and Dimic (*Lepidoptera: Gracillariidae*) on seed germination and seedling vitality in *Aesculus hippocastanum* L. *Forest Ecology and Management*, 255 (3-4), 830-835.
246. Tilbury, C., Straw, N.A., Evans, H. (2004). Recent establishment of horse chestnut leaf-miner, *Cameraria ohridella*, in the United Kingdom. *Proceedings of 1st International Cameraria Symposium. Cameraria ohridella and other invasive leaf-miner in Europe. IOCB Prague, 24-27 March 2004. Prague, p. 43.*
247. Timus, A., Mihailov, I. (2005). Evolutia moliei miniere a castnului *Cameraria ohridella* Den. et Dimič in 2005. *Acta Universitatis. Seria Stiinte Agricole. N. 1.*, 358-363.
248. Tognolli, M., Penel, C., Greppin, H., Simon, P. (2002) Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Gene* 288: 129-138.
249. Tomczyk, A., Kropczyńska-Linkiewicz D., Ptak A. (2008). Use of extracts from the leaves of white and red horse-chestnut to the studies on the plant acceptance by horse-chestnut leafminer (*Cameraria ohridella*) *Prog. Plant Prot.*; 48: 1370-1373.
250. Thalmann, C., Freise, J., Heitland, W., Bacher, S. (2003). Effects of defoliation by horse chestnut leafminer (*Cameraria ohridella*) on reproduction in *Aesculus hippocastanum*. *Trees*, 17 (5), 383-388. doi: 10.1007/s004680030249z.

251. Thuróczy, C., Balózs, K., Reider-Saly, K. (2002). Change of the parasitoid complex of hors chestnut leafminer, *Cameraria ohridella* Des & Dem, from the appearance of the pest in Hungary, Csopak, Hungary 17-20 september 2002.
252. Valade, R., Kenis, M., Hernandez-Lopez, A., Augustin, S., Mari Mena, N., Magnoux, E., Rougeric, R., Lakatos, F., Rogues, A., Lopez-Vaamonde, C. (2009). Mitochondrial and microsatellite DNA markers reveal a Balkan origin for the highly invasive horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* (*Lepidoptera*, *Gracillariidae*). *Molecular Ecology*, 18 (6), 3458-3470. doi: 10.1111/j.1365294X.2009.04290.x.
253. Villalva, S., Del, A. (2003). Presencia en España de *Cameraria ohridella* Deska & Dimič (*Lepidoptera: Gracillariidae*) plaga del castaño de Indias, Estal III. Congreso Nacional de Entomología Aplicada. IX. Jornadas científicas de la Sociedad Española de Entomología Aplicada, Ávila, España, 20–24 October 2003: Programa de sesiones., Avila, p. 39.
254. War, A. R., Taggar, G. K., Hussain, B., Taggar, M. S., Nair, R. M., Sharma, H. C. (2018). Plant defence against herbivory and insect adaptations. *AoB PLANTS*, 10(4), ply037. doi: 10.1093/aobplaply037.
255. Weryszko-Chmielewska, E., Haratym, W. (2011). Changes in leaf tissues of common horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) colonised by the horse-chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić). *Acta Agrobotanica*, 64, 11-22. DOI: 10.5586aa.2011.042.

ДОДАТОК А

ФЕНОЛОГІЯ РОЗВИТКУ *C. OHRIDELLA* У СТЕПОВІЙ ЗОНІ УКРАЇНИ



Фенологічні особливості *C. ohridella* у степовій зоні України  
(спостереження за період 2017-2019)

Генерація	Період розвитку			
	м. Дніпро	м. Нікополь	НПП «Великий Луг»	РЛП «Тилігульський»
I	22,04- 29,07	21,04-29,01	20,04-27,07	14,04-25,07
II	17,06- 1,09	17,06- 3,09	16,06-5,09	16,06-27,08
III	26,07- 15,10	21,07-17,10	20,07-16,10	20,07-13,10
IV	27,09- 29,10	21,09-30,10	20,09-30,10	25,09-31,10

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у м. Дніпро  
(спостереження за період 2017-2019) I генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Імаго	2017	22,04	29,04-4,05	10,05
	2018	28,04	1,05-6,05	19,05
	2019	9,05	16,05-26,05	3,06
Гусінь 1-2 віку	2017	20,05	-	8,06
	2018	30,05	-	20,06
	2019	22,05	-	12,06
Гусінь 3-6 віку	2017	23,05	-	17,06
	2018	3,06	-	29,06
	2019	15,05	-	05,06
Лялечки	2017	29,06	-	25,07
	2018	8,07	-	29,07
	2019	25,06	-	19,07

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у м. Дніпро  
(спостереження за період 2017-2019) II генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	17,06	-	10,07
	2018	24,06	-	27,07
	2019	19,06	-	14,07
Гусінь 3-6 віку	2017	30,06	-	16,07
	2018	4,07	-	20,07
	2019	28,06	-	13,07
Лялечки	2017	23,07	-	22,08
	2018	26,07	-	29,08
	2019	19,07	-	20,08
Імаго	2017	23,07	1,08-17,08	29,08
	2018	27,07	9,08-23,08	1,09
	2019	21,07	25,08-2,09	25,08

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у м. Дніпро  
(спостереження за період 2017-2019) III генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	27,07	-	15,09
	2018	4,08	-	21,09
	2019	26,07	-	16,09
Гусінь 3-6 віку	2017	10,08	-	18,09
	2018	14,08	-	21,09
	2019	18,08	-	24,09
Лялечки	2017	27,08	-	19,09
	2018	3,09	-	26,09
	2019	29,08	-	20,09
Імаго	2017	30,08	20,09-1,10	7,10
	2018	8,09	25,09-13,10	15,10
	2019	05,09	09,09-19,09	14,10

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у м. Дніпро  
(спостереження за період 2017-2019) IV генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	27,09	-	17,10
	2018	2,10	-	25,10
	2019	30,09		22,10
Гусінь 3-6 віку	2017	20,10	-	28,10
	2018	27,10	-	2,11
	2019	24,10	-	31,10
Лялечки	2017	23,10	-	Вихід на зимівлю
	2018	29,10	-	Вихід на зимівлю
	2019	21,10	-	Вихід на зимівлю

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у м. Нікополь  
(спостереження за період 2017-2019) I генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Імаго	2017	21,04	26,04-2,05	11,05
	2018	24,04	30,04-7,05	17,05
	2019	9,05	16,05-27,05	4,06
Гусінь 1-2 віку	2017	19,05	-	9,06
	2018	26,05	-	21,06
	2019	21,05	-	12,06
Гусінь 3-6 віку	2017	22,05	-	17,06
	2018	3,06	-	22,06
	2019	15,05	-	05,06
Лялечки	2017	24,06	-	25,07
	2018	8,07	-	29,07
	2019	25,06	-	17,07

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у м. Нікополь  
(спостереження за період 2017-2019) II генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	18,06	-	11,07
	2018	23,06	-	22,07
	2019	17,06	-	14,07
Гусінь 3-6 віку	2017	29,06	-	20,07
	2018	3,07	-	21,07
	2019	27,06	-	11,07
Лялечки	2017	20,07	-	22,08
	2018	24,07	-	30,08
	2019	18,07	-	22,08
Імаго	2017	24,07	30,07-20,08	27,08
	2018	27,07	8,08-23,08	3,09
	2019	21,07	24,08-5,09	25,08

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у м. Нікополь  
(спостереження за період 2017-2019) III генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	25,07	-	15,09
	2018	5,08	-	23,09
	2019	21,07	-	15,09
Гусінь 3-6 віку	2017	12,08	-	20,09
	2018	13,08	-	20,09
	2019	19,08	-	24,09
Лялечки	2017	26,08	-	18,09
	2018	4,09	-	26,09
	2019	29,08	-	24,09
Імаго	2017	28,08	20,09-2,10	10,10
	2018	6,09	23,09-16,10	17,10
	2019	03,09	10,09-23,09	15,10

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у м. Нікополь  
(спостереження за період 2017-2019) IV генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	27,09	-	20,10
	2018	4,10	-	25,10
	2019	21,09	-	24,10
Гусінь 3-6 віку	2017	20,10	-	26,10
	2018	25,10	-	7,11
	2019	24,10	-	30,10
Лялечки	2017	25,10	-	Вихід на зимівлю
	2018	30,10	-	Вихід на зимівлю
	2019	26,10	-	Вихід на зимівлю

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у НПП «Великий Луг»  
(спостереження за період 2017-2019) I генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Імаго	2017	20,04	24,04-1,05	10,05
	2018	23,04	30,04-5,05	16,05
	2019	7,05	14,05-24,05	1,06
Гусінь 1-2 віку	2017	19,05	-	7,06
	2018	25,05	-	19,06
	2019	20,05	-	10,06
Гусінь 3-6 віку	2017	21,05	-	15,06
	2018	1,06	-	22,06
	2019	12,05	-	04,06
Лялечки	2017	23,06	-	23,07
	2018	6,07	-	27,07
	2019	24,06	-	17,07

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у НПП «Великий Луг»  
(спостереження за період 2017-2019) II генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	16,06	-	10,07
	2018	22,06	-	21,07
	2019	17,06	-	12,07
Гусінь 3-6 віку	2017	27,06	-	17,07
	2018	1,07	-	19,07
	2019	24,06	-	10,07
Лялечки	2017	21,07	-	20,08
	2018	23,07	-	29,08
	2019	17,07	-	20,08
Імаго	2017	21,07	30,07-17,08	27,08
	2018	27,07	7,08-21,08	5,09
	2019	20,07	22,08-3,09	25,08

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у НПП «Великий Луг»  
(спостереження за період 2017-2019) III генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	25,07	-	14,09
	2018	3,08	-	21,09
	2019	20,07	-	15,09
Гусінь 3-6 віку	2017	10,08	-	17,09
	2018	12,08	-	20,09
	2019	17,08	-	22,09
Лялечки	2017	25,08	-	16,09
	2018	2,09	-	25,09
	2019	29,08	-	21,09
Імаго	2017	27,08	20,09-2,10	12,10
	2018	6,09	22,09-12,10	16,10
	2019	02,09	07,09-19,09	11,10

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у НПП «Великий Луг»  
(спостереження за період 2017-2019) IV генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	20,09	-	19,10
	2018	2,10	-	22,10
	2019	23,09	-	21,10
Гусінь 3-6 віку	2017	17,10	-	23,10
	2018	25,10	-	4,11
	2019	23,10	-	29,10
Лялечки	2017	23,10	-	Вихід на зимівлю
	2018	26,10	-	Вихід на зимівлю
	2019	30,10	-	Вихід на зимівлю

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у РЛП «Тилігульський»  
(спостереження за період 2017-2019) I генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Імаго	2017	14,04	20,04-2,05	3,05
	2018	20,04	26,04-3,05	14,05
	2019	5,05	10,05-20,05	2,06
Гусінь 1-2 віку	2017	13,05	-	6,06
	2018	21,05	-	16,06
	2019	17,05	-	10,06
Гусінь 3-6 віку	2017	20,05	-	14,06
	2018	1,06	-	20,06
	2019	10,05	-	3,06
Лялечки	2017	21,06	-	23,07
	2018	4,07	-	25,07
	2019	22,06	-	14,07

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у РЛП «Тилігульський»  
(спостереження за період 2017-2019) II генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	15,06	-	11,07
	2018	21,06	-	20,07
	2019	14,06	-	9,07
Гусінь 3-6 віку	2017	24,06	-	16,07
	2018	29,06	-	14,07
	2019	23,06	-	11,07
Лялечки	2017	20,07	-	16,08
	2018	21,07	-	19,08
	2019	16,07	-	22,08
Імаго	2017	20,07	27,07-14,08	23,08
	2018	25,07	4,08-20,08	2,09
	2019	18,07	21,08-1,09	20,08



Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у РЛП «Тилігульський»  
(спостереження за період 2017-2019) III генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	23,07	-	16,09
	2018	2,08	-	20,09
	2019	20,07	-	17,09
Гусінь 3-6 віку	2017	6,08	-	13,09
	2018	10,08	-	21,09
	2019	15,08	-	20,09
Лялечки	2017	23,08	-	17,09
	2018	1,09	-	20,09
	2019	26,08	-	20,09
Імаго	2017	24,08	19,09-1,10	12,10
	2018	4,09	21,09-12,10	13,10
	2019	1,09	6,09-20,09	10,10

Фенологічні особливості популяції *C. ohridella* у РЛП «Тилігульський»  
(спостереження за період 2017-2019) IV генерація

Стадія розвитку	Рік	Початок	Масово	Кінець
Гусінь 1-2 віку	2017	25,09	-	20,10
	2018	2,10	-	24,10
	2019	26,09		22,10
Гусінь 3-6 віку	2017	15,10	-	25,10
	2018	22,10	-	6,11
	2019	21,10	-	27,10
Лялечки	2017	31,10	-	Вихід на зимівлю
	2018	28,10	-	Вихід на зимівлю
	2019	30,10	-	Вихід на зимівлю