

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

ПЕНТЕЛЮК ОЛЕНА СЕРГІЇВНА

УДК 581.1:606:582.746.56 (477-25)

**ВНУТРІШНЬОРОДОВЕ ДЕНДРОРІЗНОМАНІТТЯ *AESCULUS L.*
УРБОСЕРЕДОВИЩА КИЄВА
(АДАПТАЦІЯ ДО ЕНТОМОСТРЕСУ, ВТОРИННИЙ МЕТАБОЛІЗМ,
СТІЙКІСТЬ)**

06.03.01 «Лісові культури та фітомеліорація»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Національному університеті біоресурсів і природокористування України Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник доктор біологічних наук, професор
член-кореспондент НАН України
Григорюк Іван Панасович,
Національний університет біоресурсів
і природокористування України,
професор кафедри фізіології,
біохімії рослин та біоенергетики

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Криницький Григорій Томкович,
Державний вищий навчальний заклад
«Національний лісотехнічний університет України»,
проректор з наукової роботи

доктор біологічних наук, професор
Бессонова Валентина Петрівна,
Дніпровський державний
аграрно-економічний університет,
завідувач кафедри садово-паркового господарства

Захист відбудеться «08» червня 2018 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.09 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус № 3, кімната 301

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а

Автореферат розіслано « » травня 2018 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

А. Г. Лащенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Нині особливої актуальності набуває вирішення проблем, пов'язаних зі збереженням, відновленням і збагаченням внутрішньородового дендрорізноманіття *Aesculus L.* в урбанізованих умовах. Останніми часами значного пошкодження рослинам гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum L.*) завдає каштанова мінуюча міль (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić) – один із найагресивніших інвазійних видів, для якого характерна наявність достатньої кормової бази та відсутність природних ворогів. Появу, поширення, розселення, способи обмеження і біологічні особливості *C. ohridella* в Україні висвітлено в літературі (Акимов І. А., Зерова М. Д., Нарольский Н. Б. и др., 2006; Трибель С. О., Гаманова О. М., Свентославські Я., 2008). Деякі види роду *Aesculus L.* надзвичайно чутливі до *C. ohridella*, інші – пошкоджуються незначною мірою або виявляють проти неї високу стійкість (Straw N. A., Tilbury C., 2006; Григорюк І. П., Лук'яненко Т. Л., 2015). Такі коливання ступеня стійкості видів можуть бути спричинені нестабільністю генома і розхитуванням спадковості в умовах глобальних змін клімату й зниженням процесів метаболізму, а також імунозахисних властивостей рослин у межах роду *Aesculus L.*, які ще не з'ясовані та залишаються у площині наукових дискусій.

Висловлено припущення, що у підвищенні стійкості рослин роду *Aesculus L.* проти *C. ohridella* беруть участь вторинні метаболіти, зокрема фенольні сполуки. Наразі, наявна в літературі інформація з цієї проблеми фрагментарна і суперечлива, яка не підтверджена достатнім масивом експериментальних даних із залученням сучасних фізіолого-біохімічних та молекулярно-біологічних методів. Звідси актуальним є пошук в природних умовах форм (культиварів) *A. hippocastanum L.* із високою стійкістю проти *C. ohridella* і розроблення способів їхнього розмноження й використання в озелененні мегаполісів та селекційно-генетичних експериментах. Для цього необхідно застосування принципів геноміки і метаболіки й високоінформативних маркерів, які пов'язані із формуванням спеціалізованих систем стійкості рослин гіркокаштанів проти *C. ohridella*. Ідея реалізації поставлених завдань включає інтегративний підхід або поєднання підходів фундаментального та прикладного характеру.

Для оцінки генетичного поліморфізму рекомендують ДНК-маркери (Шаванова К. Є., Кисельов Д. О., Малієнко В. А., 2010), фізіологічні функції сапонінів, флавоноїдів та кумаринів (Artus N. N., Somerville C. B., Lorimer G. H., 1986; D'Costa L. E., 2014). З метою виділення в популяціях форм деревних рослин пропонують як маркери показники біоелектричного потенціалу (Криницький Г. Т., 2001), фітоіндикації та патологічного росту (Бессонова В. П., 2001).

У практичній площині системне дослідження механізмів адаптації і стійкості форм (культиварів) *A. hippocastanum L.* проти *C. ohridella* з урахуванням біологічних ознак створить матеріально-інформаційну базу для розроблення способів ранньої діагностики якості посадкового і селекційного

матеріалу, виявлення рослин-донорів з метою масового мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* та забезпечення умов щодо інтенсифікації озеленення мегаполісів України. Значущість вирішення цього завдання і обумовила вибір теми, структуру та актуальність дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано на кафедрі фізіології, біохімії рослин та біоенергетики Національного університету біоресурсів і природокористування України згідно з держбюджетними темами: «Мікобіо- та ентомопрепарати для органічного виробництва продукції спеціальних сировинних зон» (номер державної реєстрації 0113U003851, 2013–2015 рр.) та «Розробка технології клонування *in vitro* гіркокаштана звичайного, стійкого проти каштанової мінуючої молі» (номер державної реєстрації 0116U001606, 2016–2017 рр.), до яких автор залучалась як виконавець окремих розділів.

Мета та завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було з позицій системного підходу вивчити формування і функціонування адаптивних реакцій видів й культиварів роду *Aesculus* L. на стресову дію *S. ohridella* урбосередовища Києва.

Досягнення поставленої мети передбачало вирішення наступних завдань:

- встановити взаємозалежність між ступенем обводнення й інтенсивністю біосинтетичних процесів за відношенням РНК до ДНК у листках рослин видів роду *Aesculus* L.;

- дослідити варіативність складу вторинних метаболітів вторинної кори (лубу) однорічних пагонів рослин видів роду *Aesculus* L.;

- виявити зміни активності ферментів антиоксидантного захисту і вмісту ТБК-активних продуктів у листках рослин *A. hippocastanum* L. за дії *S. ohridella*;

- визначити горизонтальну і просторову мінливість нагромадження фенольних сполук у листках генеративних рослин *A. hippocastanum* L.;

- вивчити особливості анатомічної будови і фізіологічний стан асиміляційного апарату листків стійкої та нестійкої проти *S. ohridella* форми *A. hippocastanum* L.;

- з'ясувати динаміку вмісту фенольних сполук за умов механічного пошкодження листків стійкої та нестійкої проти *S. ohridella* форми *A. hippocastanum* L.;

- розробити науково-методичні рекомендації й отримати асептичну культуру *in vitro* для клонального мікророзмноження стійкої проти *S. ohridella* форми *A. hippocastanum* L.

Об'єкт дослідження – видовий і культиварний склад рослин роду *Aesculus* L. у контексті їхньої біологічної стійкості проти *S. ohridella*.

Предмет дослідження – фізіологічні основи адаптації і стійкості видів та культиварів роду *Aesculus* L. проти *S. ohridella* в умовах водного дефіциту урбосередовища Києва.

Методи дослідження. У процесі виконання дисертаційного дослідження було використано польові, лабораторні, фізіолого-біохімічні, біотехнологічні, спектроденситометричної тонкошарової і газорідинної хроматографії,

люмінесцентної та поляризаційної мікроскопії, диференціального центрифугування, гістохімічного аналізу, клонального мікророзмноження, математичного моделювання та статистичної обробки результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Положення, що визначають наукову новизну результатів дисертаційного дослідження, полягають у наступному:

вперше:

– встановлено взаємозалежність між ступенем стійкості видів роду *Aesculus* L. проти *C. ohridella* і денним водним дефіцитом й вмістом РНК та ДНК у листках;

– показано високу схожість між кластерами, отриманими методами молекулярно-генетичного аналізу, групами видів і форм роду *Aesculus* L., які споріднені за особливостями синтезу вторинних метаболітів, зокрема тритерпенових сапонінів, фенолів та кумаринів;

– з'ясовано динаміку детермінаційних змін активності ферментів пероксидази, каталази і супероксиддисмутази й вмісту ТБК-активних продуктів у листках *A. hippocastanum* L. за умов пошкодження *C. ohridella* та водного дефіциту;

– визначено, що проантоціанідини і катехіни *A. hippocastanum* L. є ключовим ланцюгом трофічних взаємозв'язків у системі рослина – *C. ohridella*;

– запропоновано математичну модель для порівняльної оцінки стресових реакцій листків стійких і нестійких проти *C. ohridella* форм *A. hippocastanum* L. на молекулярному рівні. Вона дозволяє також аналізувати закономірності функціонування фізіологічних процесів, виділяти окремі фази, визначати інтенсивність та тривалість адаптивних реакцій рослин видів роду *Aesculus* L. на пошкоджувальну дію *C. ohridella*;

– отримано асептичну культуру *in vitro* стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L.;

розширено уявлення щодо ролі вторинних метаболітів, зокрема фенольних сполук в активації захисних систем і як маркерів ступеня оцінки й відновлення структурно-функціонального стану рослин *A. hippocastanum* L. за дії *C. ohridella*;

уточнено особливості функціонування адаптивних реакцій видів і культиварів *A. hippocastanum* L. з різною стійкістю проти *C. ohridella*;

набули подальшого розвитку:

– біологічні основи збереження, відновлення і збагачення природно-ресурсного потенціалу рослин *A. hippocastanum* L. за дії *C. ohridella* в умовах нестабільності клімату;

– дослідження молекулярних і клітинних механізмів стійкості видів та форм рослин *A. hippocastanum* L. проти *C. ohridella*.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи мають вагомe теоретичне і практичне значення для підвищення стійкості, збагачення, збереження, культивування та відновлення видів роду *Aesculus* L. в урбанізованих умовах Києва. Уперше отримано асептичну

культуру *in vitro* стійкого проти *C. ohridella* культивару *A. hippocastanum* L. шляхом клонального мікророзмноження з метою озеленення мегаполісів.

Науково-методичні рекомендації «Технологія мікроклонального розмноження рослин гіркокаштана звичайного (*A. hippocastanum* L.), стійких проти каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič)», впроваджено у практику Відокремленого підрозділу Національного університету біоресурсів і природокористування України «Боярська лісова дослідна станція».

Результати дисертаційної роботи щодо результатів стресових реакцій листків стійких і нестійких культиварів *A. hippocastanum* L. проти *C. ohridella* на молекулярному рівні, які дозволяють аналізувати закономірності функціонування фізіологічних процесів, виділяти окремі фази реакції рослин, їхню тривалість та інтенсивність, включено у навчальну програму під час викладання дисципліни «Декоративне садівництво» на кафедрі декоративного садівництва та фітодизайну під час підготовки фахівців ОС «Магістр» у Національному університеті біоресурсів і природокористування України.

Особистий внесок здобувача. Спільно з науковим керівником, доктором біологічних наук, професором, членом-кореспондентом НАН України І. П. Григорюком розроблено науковий напрям, обґрунтовано стратегію, висунуто робочі гіпотези, визначено мету і завдання дослідження, здійснено планування експериментів, підготовку публікацій до друку, написання та оформлення тексту дисертації. Науковим доробком автора є самостійне виконання запланованого обсягу експериментальних робіт, проведення інтерпретації і статистичного опрацювання одержаних даних, інформаційного пошуку, аналізу та узагальнення літературних джерел. Наукові результати отримано здобувачем особисто і в співавторстві, що підтверджують відповідні посилання у тексті дисертації.

Анатомічну будову і нагромадження фенольних сполук у листках стійких і нестійких проти *C. ohridella* видів та форм рослин роду *Aesculus* L. досліджено спільно з кандидатом біологічних наук, доцентом А. Ф. Ліхановим. У наукових роботах, опублікованих у співавторстві, здобувач є повноправним членом творчого колективу, права співавторів не порушено.

Апробація результатів дисертації. Основні положення, висновки та рекомендації дисертаційної роботи обґрунтовано, викладено, обговорено і схвалено на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Концепція сталого розвитку та її реалізація в освіті» (м. Тернопіль, 2015 р.); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії» (м. Київ, 2015 р.); II Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Проблеми сучасної екологічної освіти» (м. Київ, 2015 р.); Міжнародній науково-практичній конференції студентів, аспірантів і молодих учених «Екологічні, економічні та соціальні проблеми розвитку аграрної сфери в умовах глобалізації» (м. Харків, 2015 р.); Міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції «Модернізація національної системи управління державним розвитком: виклики і перспективи» (м. Тернопіль, 2015 р.);

V Міжнародній науково-практичній конференції «Рослини та урбанізація» (м. Дніпропетровськ, 2016 р.); XII Міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (м. Львів, 2016 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Ресурсозберігаючі технології та їх правова оцінка в сільськогосподарському виробництві» (м. Київ, 2016 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії» (м. Київ, 2016 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсощадних енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур» (м. Дніпро, 2016 р.); Третій конференції молодих вчених «Біологія рослин і біотехнологія» (м. Київ, 2017 р.); VI Міжнародній науково-практичній конференції з міжнародною участю з нагоди 120-річчя Національного університету біоресурсів і природокористування України (м. Київ, 2017 р.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 22 наукові праці, з яких монографія у співавторстві, 2 статті у наукових фахових виданнях України, 6 статей у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, науково-методичні рекомендації, 12 тез наукових доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертацію представлено у вигляді рукопису і викладено на 169 сторінках комп'ютерного тексту, яка складається з анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, результатів експериментальних досліджень, аналізу й узагальнення одержаних результатів, висновків, списку використаної літератури (191 найменування, у тому числі 95 латиницею), додатків. Робота містить 55 рисунків і 13 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1 «**Опис об'єктів взаємодії та огляд проблеми адаптивної стійкості рослин роду *Aesculus L.* проти впливу *Cameraria ohridella Deschka et Dimić* в умовах водного дефіциту урбосередовища**». Висвітлено систематичне положення і природний ареал видів рослин роду *Aesculus L.*, які інтродуковано в Україні з різних флористичних областей (Hardin J. W., 1957 (I); Hardin J. W., 1957 (II); Xiang Q. Y., 1998; Harris A. J., 2007). Розглянуто фізіолого-біохімічні особливості і механізми стійкості видів рослин роду *Aesculus L.* проти *C. ohridella* та інших стресових чинників середовища із залученням функціонування поліфенольних сполук (Волынец А. П., 1983; Колупаев Ю. Е., 2007; Mittler R., 2010; Oszmianski J., 2014, 2015). Сформульовано висновок щодо необхідності шляхів вирішення проблем, які пов'язані з використанням, збереженням, відновленням та збагаченням внутрішньородового дендрорізноманіття *Aesculus L.* в урбанізованих умовах (Григорюк І. П., Машковська С. П., Яворовський П. П., Колесніченко О. В., 2004; Григорюк І. П., Лук'яненко Т. Л., 2015).

Розділ 2 «**Методи та методики досліджень**». Методологія досліджень базується на системному й інтегративному підходах із застосуванням сертифікованих методик та приладів. Об'єктами досліджень слугували рослини роду *Aesculus* L., які зростають на дерново- і середньопідзолистих пилювато-супіщаних ґрунтах в умовно чистих екологічних зонах – Ботанічному саду Національного університету біоресурсів і природокористування України, Національному ботанічному саду імені М. М. Гришка НАН України та парках м. Києва. Середньорічна температура повітря у м. Києві становить в середньому +7,7 °С, клімат помірно-континентальний з теплим літом і холодною зимою, водозабезпечення помірне.

У листках видів і форм рослин роду *Aesculus* L. визначали загальну кількість води (Ермаков А. И., Арасимович В. Е., Смирнова-Иконникова М. И., Ярош Н. П., Луковникова Г. А., 1972) і денний водний дефіцит (Литвинов Л. С., 1951; Strebeyko M. P., 1964; Григорюк И. А., Ткачев В. И., Савинский С. В., Мусиенко Н. Н., 2003), який розраховували згідно формули (Починок Х. Н., 1976).

Уміст РНК і ДНК в листках видів рослин роду *Aesculus* L. оцінювали за методом Шмідта-Тангаузера (Дэвидсон Дж., 1976).

Активність супероксиддисмутази встановлювали за рівнем гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолію в присутності НАДН і феназинметасульфату (Переслегина И. А., 1989). Активність пероксидази визначали колориметричним методом (Бояркин А. Н., 1961). Вимірювання активності каталази проводили титриметричним методом із розчином перманганату калію (Плешков Б. М., 1968). Кількість ТБК-активних продуктів розраховували у нмоль/г сирової речовини маси×хв, де реакційна суміш містила 2 мл супернатанту і 2 мл розчину 2-тіобарбітурової кислоти, яку інкубували 30 хв за температури 100 °С, охолоджували й вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 532 нм (Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С., 2001).

Анатомічну будову листків і якісне визначення вторинних метаболітів у тканинах виконували за стандартними прописами (Фурст Г. Г., 1979) на мікроскопі Nikon Eclipse E-200. Кількісний уміст хлорофілів та каротиноїдів визначали за формулою (Ronald E., 2005). Якісний склад пластидних пігментів оцінювали методом високоефективної тонкошарової хроматографії на платівках Silica gel G60 (Merck) з використанням системи розчинників: толуол – ацетон – мурашина кислота (v/v/v – 34/10/6).

Для якісного аналізу терпенів і тритерпенових сапонінів використовували метод тонкошарової хроматографії й платівки Sorbfil ПТСХ-АФ-А у системі розчинників: хлороформ – оцтова кислота – метанол – вода (v/v/v/v – 64/32/8/12) та хромогенний реактив на основі анісового альдегіду. Фенольні сполуки у тканинах (первинна кора і корок) однорічних пагонів гіркокаштанів досліджували методом високоефективної тонкошарової хроматографії на платівках Silica gel G60 (Merck) у системі розчинників етилацетат – льодяна оцтова кислота – мурашина кислота – вода (v/v/v/v – 100/11/11/26) з обробкою хроматограм 10 % спиртовим розчином лугу (NaOH) та наступним нагріванням (5 хв за температури 105 °С).

Кумарини визначали методом хроматоспектрофотометрії. Калібрувальний графік будували за галовою кислотою. Вимірювання кількісного вмісту флавоноїдів здійснювали у метанольних екстрактах за $\lambda=19$ нм (Ковалев В. Н., Попова Н. В., Кисличенко В. С. и др., 2003). Уміст катехинів оцінювали за їхньою реакцією на ваніліновий реактив (Sun B., Ricardo da Silva J. M., Spranger I., 1998).

Якісний аналіз фенольних сполук проводили методом вискоєфективної тонкошарової хроматографії на платівках Silica gel G 60 у системі розчинників толуол – ацетон – мурашина кислота (v/v/v – 7/7/1) з обробкою хроматограм 5 % спиртовим розчином хлориду алюмінію і наступним нагріванням (5 хв за 105 °С). Сумарну концентрацію фенольних сполук у метанольних екстрактах (v/v – 1/10) досліджували на сканувальному спектрофотометрі Optizen Pop (Південна Корея) з використанням реактиву Фоліна-Чекольтеу (Сибгатуллина Г. В., Хаертдинова Л. Р., Гумерова Е. А. и др., 2011).

Структуру поверхні складного ока дорослих метеликів у період активного льоту вивчали за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа JEM – 1230 фірми «JEOL» (Японія) за збільшення $\times 350$.

Фотодокументацію і опрацювання отриманих експериментальних даних здійснювали у спеціалізованій програмі для аналізу цифрових зображень – Image-Pro Premier 9.0. Показники R_f індивідуальних сполук і фотоденситометричний аналіз хроматограм встановлювали шляхом використання комп'ютерної програми Sorbfil TLC, а первинну статистичну обробку даних – у пакеті аналізу програми Microsoft Excel 2007. Кластерний аналіз фітохімічних профілів проводили за допомогою програми Statistica 6.0. Регресійний аналіз динаміки вмісту фенольних сполук і флавоноїдів у листках рослин виконували за допомогою програми Sigma Plot 12.0.

Матеріалом для мікроклонального розмноження слугували штучно пробуджені бруньки, листові та апікальні меристеми рослин *A. hippocastanum* L., які стійкі проти *C. ohridella*. Стерилізували експлантати *A. hippocastanum* L. за наступною схемою: листові пластинки і молоді пагони протягом 15 хв промивали мильним розчином, проточною та дистильованою водою. Далі стерилізацію рослинного матеріалу здійснювали в ламінарному боксі з дотриманням асептичних умов за загальноприйнятою методикою (Кушнір Г. П., Сарнацька В. В., 2005) з власною модифікацією. Для утворення пагонів використовували живильне середовище МС з додаванням БАП (1 мг/л) та безгормональне з активованим вугіллям (2 г/л). Для індукції калюсогенезу *A. hippocastanum* L. використовували модифіковане живильне середовище МС (Murashige T., Skoog F., 1962; Кушнір Г. П., Сарнацька В. В., 2005) з додаванням кінетину та 2,4-D (100 мкг/л).

Розділ 3 «Візуальна діагностика симптомів пошкодження рослин *Aesculus hippocastanum* L. комахами *Cameraria ohridella* Deschka et Dimič в умовах водного дефіциту урбосередовища Києва». У ґрунтово-кліматичних умовах Київського мегаполіса виявлено рідкісні пізньостиглі форми (культивари) *A. hippocastanum* L. віком 35–40 років, які впродовж вегетаційного

періоду не втрачали декоративності і не пошкоджувалися *C. ohridella*. У рослин *A. hippocastanum* L., які стійкі проти *C. ohridella*, дозрівання плодів відбувалося на 7–10 діб пізніше, що обумовлено збереженням більшої кількості функціонально активних листків та стабілізацією фотосинтетичних процесів. За умов формування мін білуватого забарвлення прослідковувалось суттєвіше пошкодження листків *A. hippocastanum* L., ніж коричневатого. Сумісний вплив *C. ohridella* й тривалого дефіциту вологи в ґрунті зумовлювало повторне літнє квітування, втрату санітарно-оздоровчих і фізіологічних функцій рослин *A. hippocastanum* L. *C. ohridella* спричиняла некротизацію та суцільне фізіологічне всихання органів *A. hippocastanum* L. в урбанізованих умовах Києва, де ґрунти переважно ущільнені, а доступ вологи до рослин обмежений. Визначено мінливість дозрілих плодів видів рослин роду *Aesculus* L. з різною стійкістю проти *C. ohridella*.

Розділ 4 «Фізіологічна реакція листків рослин роду *Aesculus* L. на ушкодження комахами *Cameraria ohridella* Deschka et Dimič в умовах водного дефіциту урбосередовища Києва». Кількість загальної води у листках рослин гіркокаштана о 14–15 год дня, коли температура повітря упродовж 4 год становила +30...+33 °С і відносна вологість повітря 50–60 %, коливалась в діапазоні від 55,3 до 77,5 % сирої речовини маси. За даних умов найбільшим відсотком води відзначались листки видів рослин *A. neglecta* Lindl., *A. glabra* Willd., *A. flava* Soland. ex Hope й *A. parviflora* Walt., потім *A. carnea* Hayne, *A. chinensis* Bunge й *A. pavia* L., що зумовлено формуванням високих адаптивних властивостей до повітряної посухи і швидким відновленням процесів водообміну у нічний час, найменшим – *A. sylvatica* W. Bartram, *A. hippocastanum* L. та *A. hippocastanum* var. *beaumanii* C. K. Schneid. Якщо біохімічний показник відношення РНК до ДНК в листках у фазу зав'язування плодів становить 1,10–1,40, то види роду *Aesculus* L. відзначаються низькою інтенсивністю біосинтетичних процесів і стійкістю проти *C. ohridella*, 4,29–4,56 – середньою та 8,89–10,0 – високою. Відношення РНК до ДНК рекомендовано використовувати як маркер або діагностичну ознаку біологічної стійкості видів рослин роду *Aesculus* L. проти каштанової мінуючої молі.

У листках рослин *A. hippocastanum* L. визначено збільшення кількості ТБК-АП і активності пероксидази з подальшим її зниженням, що підтверджує суттєву інтенсифікацію процесів перекисного окиснення ліпідів та виснаження пулу експресованої пероксидази наприкінці вегетаційного періоду.

Розділ 5 «Вторинний метаболізм і адаптивні функції рослин роду *Aesculus* L. за дії *Cameraria ohridella* Deschka et Dimič та водного дефіциту урбосередовища Києва». У міських зелених насадженнях м. Києва виявлено стійкі проти *C. ohridella* форми (культивари) *A. hippocastanum* L., які здатні зберігати асиміляційну поверхню непошкодженою упродовж вегетаційного періоду.

На поперечному зрізі листків стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. у будові верхнього епідерміса визначено анатомічні

особливості. Вони пов'язані з наявністю специфічних клітинних структур (рис. 1, б–в), які заповнені в'язкою базофільною субстанцією (забарвлена червоним), що майже не розчиняється в органічних розчинниках. Це полімеризовані фенольні речовини, у тому числі флобафени, перетравлення яких у кишечнику гусениці 1-го віку є досить складним. На поперечному зрізі розташовані прямокутні клітини з відносно тонкими периклінальними стінками. Специфічних клітинних структур, карманів, папіл та інших нетипових виростів на неушкоджених ділянках тканин, що топологічно пов'язані з мінами, не виявлено (рис. 1, а). Зрештою, у тканинах губчастого мезофілу простежувалось утворення специфічних кулеподібних клітин 40–60 мкм, що заповнені органічною субстанцією, яка виявляє позитивну реакцію на судан III (рис. 1, г). У роботах з анатомічної будови листків *A. hippocastanum* L. їх позначають як олійні клітини (Weryszko-Chmielewska E., 2011), збільшення кількості яких у середній частині мезофілу рослин відбувається на початкових етапах формування мін. Водночас швидкість утворення олійних клітин фізіологічно пов'язана з пошкодженням тканин *S. ohridella*, що підтверджено також експериментальними дослідженнями.

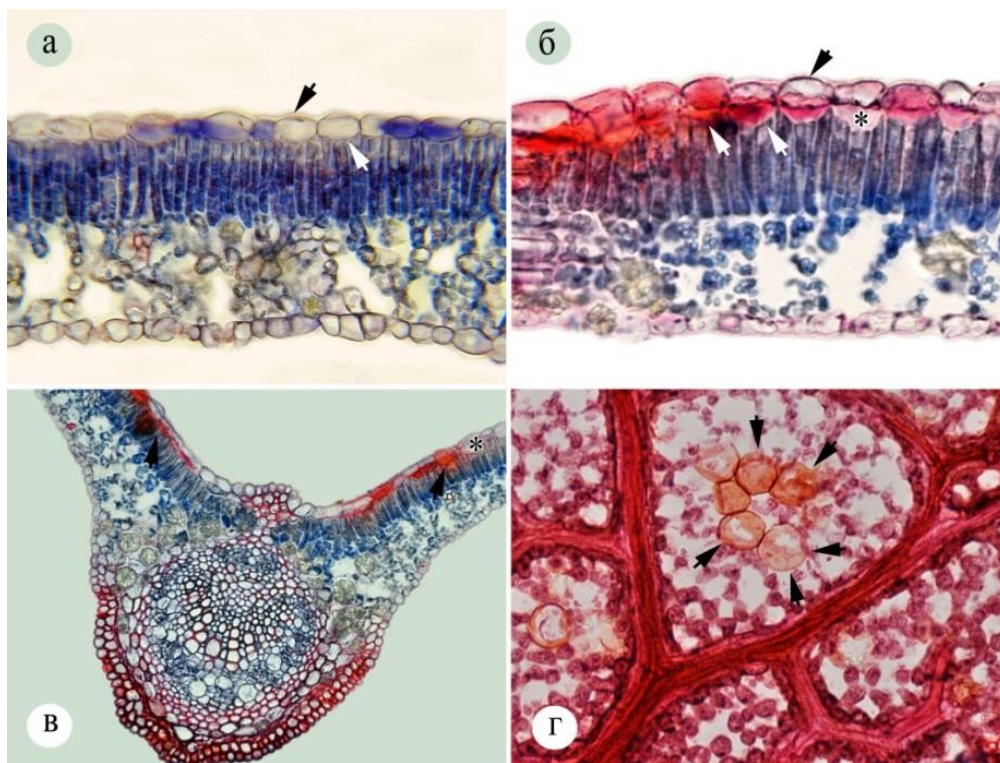


Рис. 1. Анатомічна будова нестійкої (а) і стійкої (б, в, г) проти *S. ohridella* форми *A. hippocastanum* L.: а – поперечний зріз листової пластинки нестійкої форми (стрілкою позначено тонкостінні клітини верхнього епідермісу); б – стійкої (стрілками позначені потовщені стінки верхнього епідермісу і накопичення специфічних метаболітів у папілах, які не характерні для *A. hippocastanum* L.); в – поперечний зріз жилки II порядку (стрілками показано накопичення вторинних метаболітів у папілах); г – повздовжній зріз листової пластинки (стрілками позначено олійні клітини, які утворюються в губчастому мезофілі в зоні утворення міни)

Установлено, що стійка проти *C. ohridella* форма відзначається підвищеним умістом хлорофілів *a* і *b* та каротиноїдів у листках *A. hippocastanum* L. Концентрація хлорофілу *a* в 1,5–1,6, а каротиноїдів – 2,2–2,3 раза була вищою, ніж у листках рослин *A. hippocastanum* L., що пошкоджуються *C. ohridella*. Накопичення каротиноїдів характеризує адаптаційний потенціал і спроможність рослин нівелювати шкодочинні наслідки травматичного ентомостресу. У відповідь на механічне пошкодження загальний пул пластидних пігментів суттєво знижувався, проте у листках стійкої проти *C. ohridella* форми він залишався відносно високим. Так, за умов травматичного стресу сума хлорофілів у листках зменшувалась майже вдвічі. Кількість пігментів групи каротиноїдів у листках рослин нестійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. залишалась незмінною. Співвідношення сумарної кількості хлорофілів до каротиноїдів у листках *A. hippocastanum* L. внаслідок травматичного ентомостресу знижувалось, що підтверджує їхню захисну функцію у стратегії виживання виду (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст і співвідношення пластидних пігментів у листках стійких та нестійких проти *C. ohridella* форм *A. hippocastanum* L. (мг/г)

Пігменти та їхнє співвідношення	А	Б	В	Г
Хл а	2,9±0,12	1,1±0,05	4,5±0,18	2,5±0,00
Хл b	1,4±0,06	1,1±0,06	1,8±0,07	0,9±0,05
Хл а/ Хл b	2,1±0,08	1,0±0,05	2,5±0,10	2,9±0,12
Хл а + Хл b	4,3±0,17	2,2±0,09	6,3±0,23	3,4±0,14
Кр + Кс	0,3±0,01	0,3±0,02	0,7±0,03	0,5±0,02
Хл а + Хл b/ Кр + Кс	14,2±0,57	8,6±0,34	8,8±0,35	6,9±0,28

Примітка: Хл – хлорофіл; Кр + Кс – сума каротиноїдів і ксантофілів; А – нестійка форма; Б – нестійка форма після травми; В – стійка форма; Г – стійка форма після травми (різниця між непошкодженими і травмованими листками достовірна за $p=0,95$)

Доведено, що якісний склад пігментного комплексу в листках стійкої і нестійкої проти *C. ohridella* форми (культивару) *A. hippocastanum* L. суттєво не відрізняється (рис. 2). Важливою відмінністю стійкої проти *C. ohridella* форми рослин *A. hippocastanum* L. є висока концентрація пігментів, яку встановлювали за площами піків. У цих рослин пули індивідуальних пігментів з показниками $R_f \sim 0,47, 0,78$ і $0,98$ були в 16, 7 та 41 разів вищими.

Методом високоефективної тонкошарової хроматографії показано поступове, пов'язане з горизонтами, збільшення середньо- ($R_f \sim 0,22$) і низькополярних ($R_f \sim 0,40$ й $0,45$) фенольних сполук з характерною блакитною флуоресценцією (рис. 3).

Ключовою ознакою функціональної ролі катехінів у формуванні спеціалізованих систем стійкості рослин *A. hippocastanum* L. проти *C. ohridella* може бути в 12–15 разів зниження в листках загального пулу фенольних

сполук. В експериментах більшість стійких форм відзначалась низьким рівнем накопичення катехинів і проантоціанідинів. Отже, цей клас сполук не основний у забезпеченні надійного захисту рослин *A. hippocastanum* L. від *C. ohridella*. Якісний аналіз катехинів також не виявив нагромадження специфічних окремих фенольних сполук у стійких проти *C. ohridella* рослин. Фотоденситометричний аналіз хроматограм показав, що в нестійких проти *C. ohridella* форм рослин *A. hippocastanum* L. уміст катехинів з $R_f \sim 0,01$ і $0,50$ відносно стійких був у 2–3 рази меншим (рис. 4).

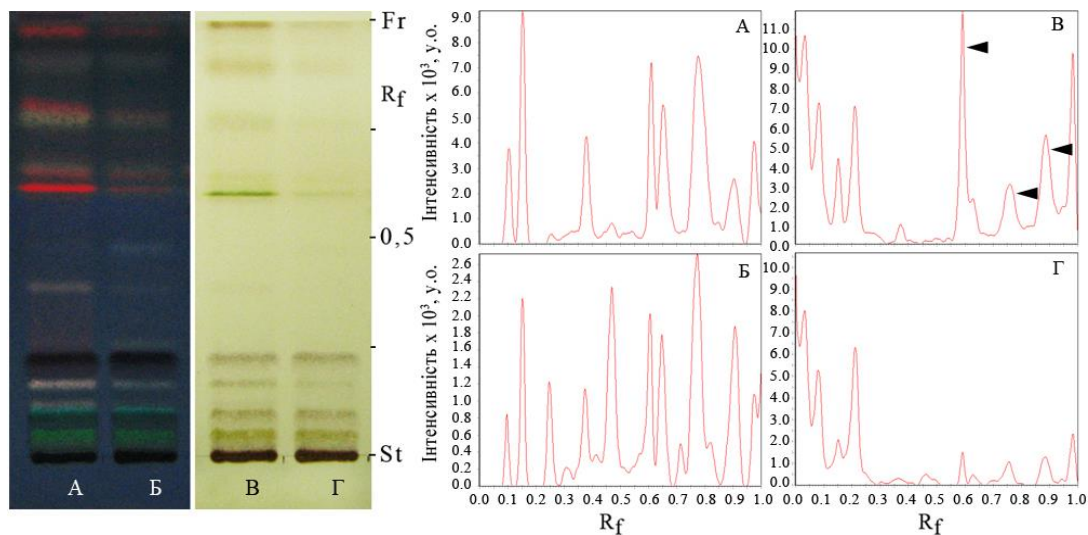


Рис. 2. Хроматографічне розділення і фотоденситограми пігментів листків *A. hippocastanum* L.: А, В – стійка і Б, Г – нестійка проти *C. ohridella* форми рослин; А, Б – під ультрафіолетом (366 нм) і В, Г – за умов видимого світла після обробки хроматограми 10 % спиртовим розчином сірчаної кислоти

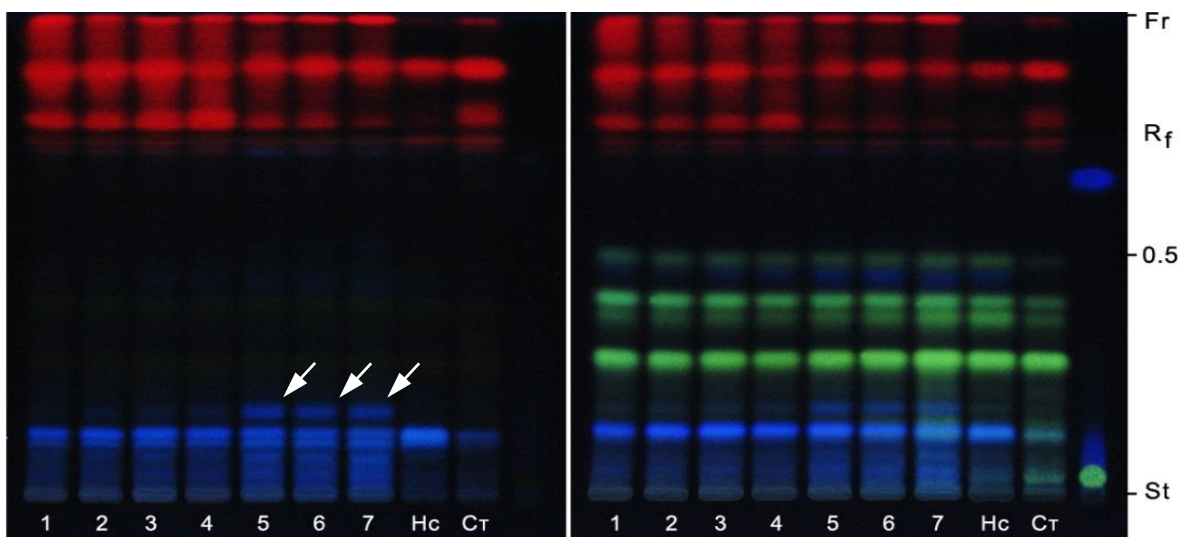


Рис. 3. Хроматографічне розділення фенольних сполук метанольних екстрактів листків різних горизонтів дерев *A. hippocastanum* L.: 1–7 – зразки листків з горизонтів висотою від 3 до 9 м; Нс – форма, яка нестійка проти *C. ohridella*; Ст – форма, яка стійка проти *C. ohridella*; стандарти – рутин і протокатехова кислота; до (зліва) і після (справа) обробки хроматограми 5 % спиртовим розчином $AlCl_3$ (стрілками вказані катехіни з $R_f \sim 0,22$)

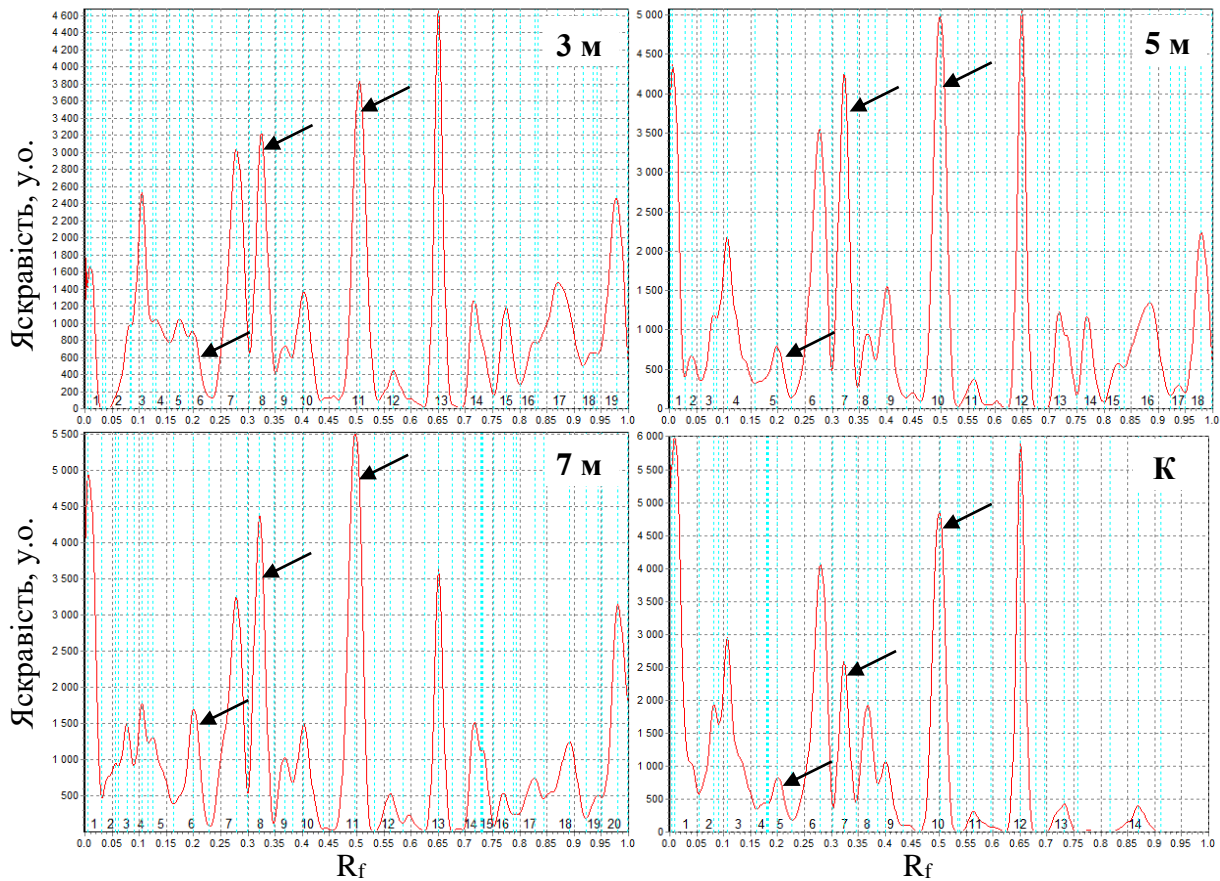


Рис. 4. Фотоденситограми хроматографічного розділення катехінів і проантоціанідинів листків за висотою горизонтів дерев *A. hippocastanum* L. (стрілками позначено піки, які відповідають катехінам)

Генеративні дерева *A. hippocastanum* L. за ступенем синтезу і розподілом кількості фенольних сполук (перш за все проантоціанідинів) є просторово гетерогенною системою з вираженим вертикальним градієнтом. Крону дерева схематично поділено на три зони: нижню (I) – з низьким (20–40 мг/г), центральну (II) – середнім (40–60 мг/г) і верхню (III) – високим (60–100 мг/г) вмістом катехінів та проантоціанідинів (рис. 5).

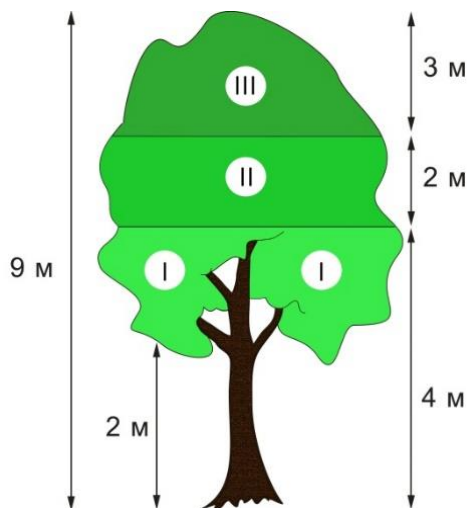


Рис. 5. Вертикальне нагромадження вмісту катехінів і проантоціанідинів у листках *A. hippocastanum* L. в урбанізованих умовах м. Києва

У листках форм рослин гіркокаштанів, стійких проти *C. ohridella*, сумарний вміст флавоноїдів у 3,6–3,7 раза був більший, ніж у нестійких. На початкових етапах ентомостресу після механічного пошкодження сутєвих відмінностей у кількості флавоноїдів в тканинах листків рослин *A. hippocastanum* L. не встановлено (рис. 6).

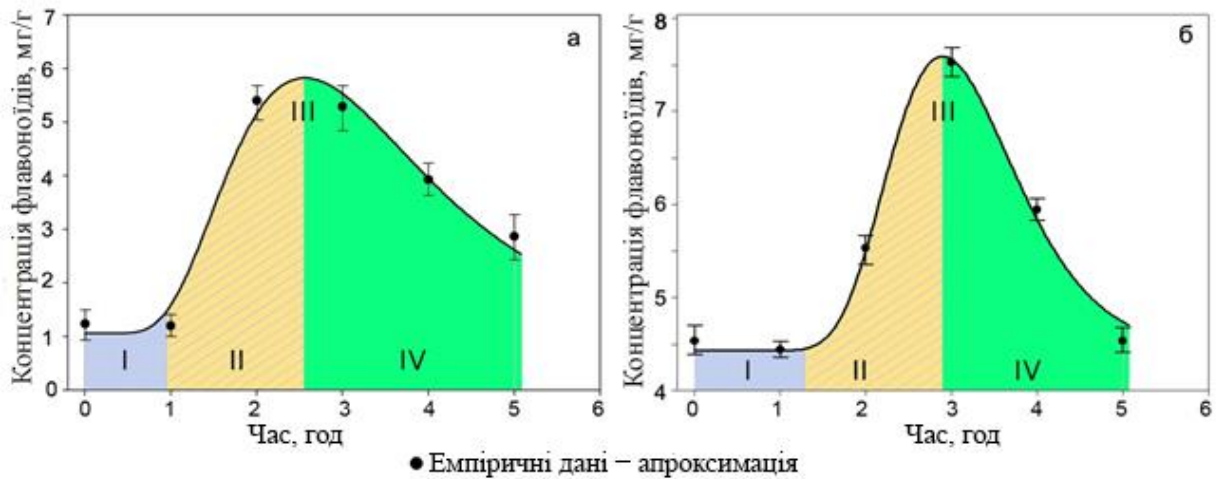


Рис. 6. Динаміка вмісту флавоноїдів у листках нестійких (а) і стійких (б) проти *C. ohridella* форм *A. hippocastanum* L. Періоди: I – пролонгації; II – активного синтезу; III – насичення; IV – біохімічної трансформації

Реакційна здатність нестійких проти *C. ohridella* форм рослин *A. hippocastanum* L. у відповідь на механічне пошкодження тканин листків є значно вищою, ніж стійких (рис. 7). Зниження концентрації флавоноїдів у перші дві години експерименту показало, що частина з них є лабільною, швидко трансформується і переходить у зв'язану форму та/або полімеризується. Зокрема, в клітинних стінках відбувається зміцнення лінійних молекул целюлози диферуловими містками і посилення процесів утворення лігніну та суберину.

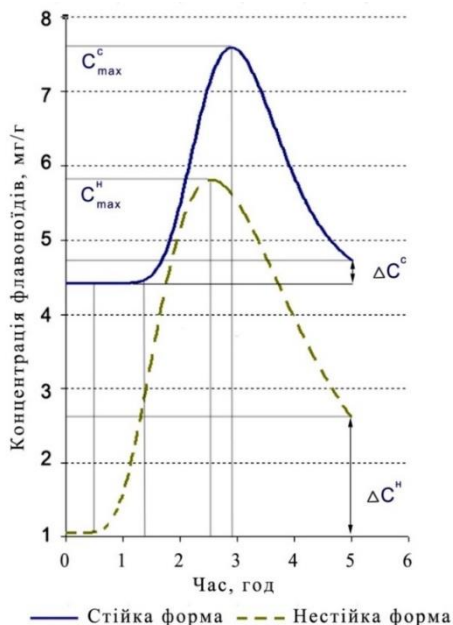


Рис. 7. Математична модель динаміки вмісту флавоноїдів у листках стійких і нестійких проти *C. ohridella* форм гіркокаштана звичайного за умов механічного пошкодження: ΔC^c і ΔC^h – різниця вмісту флавоноїдів на початок та завершення експерименту; C_{max}^c і C_{max}^h – максимальна концентрація флавоноїдів у стійких та нестійких проти *C. ohridella* рослин

У метанольних екстрактах кори і перидерми за умов хроматографічного розділення терпеноїдних сполук між представниками природної Північно-Американської та Європейської флори уперше виявлено достовірні відмінності, які пов'язані з кількістю й концентрацією індивідуальних сполук (рис. 8). Так, стійкі і нестійкі проти *C. ohridella* рослини *A. hippocastanum* L., разом з *A. Hippocastanum* L. f. *beaumanii*, сформували окрему групу, до якої за фітохімічним профілем близький *A. carnea* Науне, що створений схрещуванням *A. hippocastanum* L. та *A. pavia* L.

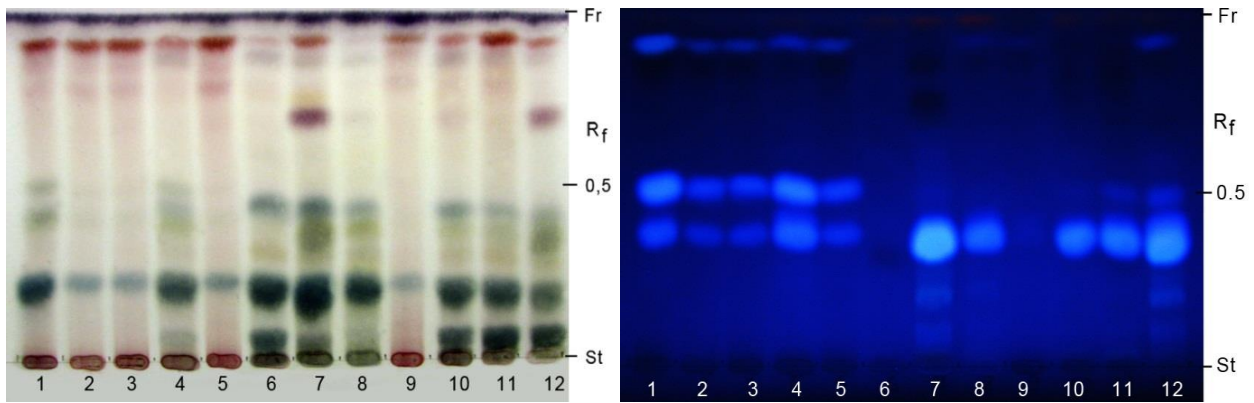


Рис. 8. Хроматографічне розділення терпенів і сапонінів (зліва) та кумаринів (справа) кори однорічних пагонів рослин роду *Aesculus* L.: 1) *A. hippocastanum* L. (NR); 2) *A. hippocastanum* L. (R); 3) *A. hippocastanum* var. *beaumanii* C. K. Schneid.; 4) *A. carnea* Hayne; 5) *A. hybrida* DC.; 6) *A. pavia* L.; 7) *A. flava* Sol.; 8) *A. neglecta* Lindl.; 9) *A. glabra* Willd.; 10) *A. parviflora* Walt.; 11) *A. octandra* var. *virginica* Sarg.; 12) *A. sylvatica* W. Bartram; система розчинників для хроматографування – зліва: хлороформ – оцтова кислота – метанол – вода (v/v/v/v – 64/32/8/12). Обробка платівки анісовим альдегідом з наступним нагріванням (5 хв за температури 105 °C); справа – система розчинників: етилацетат – оцтова кислота – мурашина кислота – вода (v/v/v/v – 100/11/11/26)

У процесі хроматографування екстрактів методом вискоелективної тонкошарової хроматографії у системі розчинників для флавоноїдів і кумаринів отримано детальніший за складом фітохімічний профіль, у якому виділено понад 20 індивідуальних фенольних сполук (рис. 9).

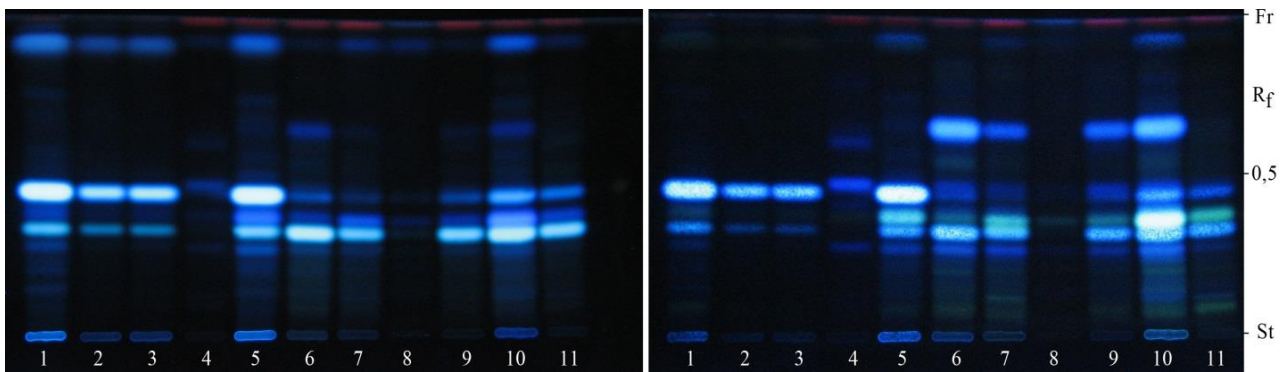


Рис. 9. Хроматографічне розділення фенольних сполук кори пагонів рослин роду *Aesculus* L.: 1) *A. hippocastanum* L. (NR); 2) *A. hippocastanum* L. (R); 3) *A. hippocastanum* var. *beaumanii* C. K. Schneid.; 4) *A. pavia* L.; 5) *A. carnea* Hayne; 6) *A. hybrida* DC.; 7) *A. flava* Sol.; 8) *A. glabra* Willd.; 9) *A. neglecta* Lindl.; 10) *A. sylvatica* W. Bartram; 11) *A. octandra* var. *virginica* Sarg.; система розчинників для хроматографування: етилацетат – оцтова кислота – мурашина кислота – вода (v/v/v/v – 100/11/11/26). Обробка платівки 10 % спиртовим розчином NaOH з наступним нагріванням (5 хв за температури 105 °C)

За умов багатомірного статистичного аналізу рослин на основі якісного складу фенольних сполук, наявності або відсутності кумаринів, види і гібриди рослин роду *Aesculus* L. сформували окремі кластери (рис. 10).

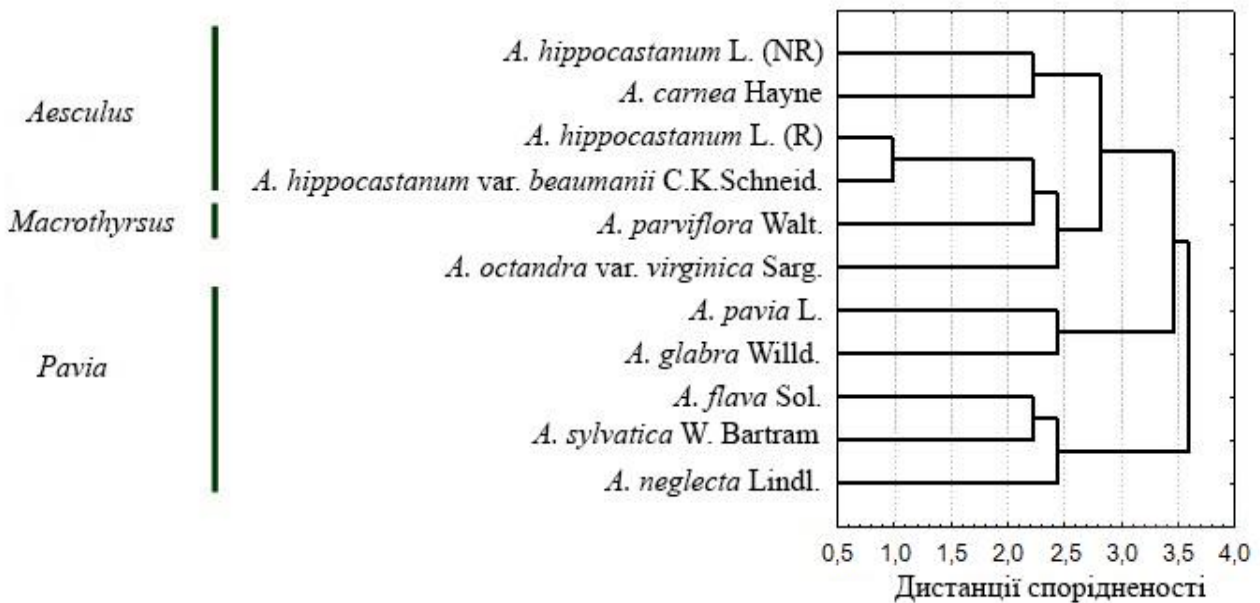


Рис. 10. Дендрограма спорідненості видів і гібридів рослин роду *Aesculus* L. за біохімічними профілями фенольних сполук

На рівні коефіцієнта спорідненості від 2,5 і вище у дендрограмі чітко виділено три крупних кластери. Перший з них об'єднує чотири представники роду – різні форми виду *A. hippocastanum* L., які відносяться до секції *Aesculus*, а також гібрид *A. carnea* Hayne, що тривалий час виділяли окремо, і за даними молекулярно-генетичного аналізу віднесено до секції *Pavia*. Хроматографічні профілі наявних видів рослин (треки 1 і 4) за складом фенольних сполук і кумаринів значно вирізняються. Водночас фітохімічний склад кори *A. carnea* Hayne (трек 5) виявився ближчим до *A. hippocastanum* L., що, ймовірно, є проявом домінування ознак, які пов'язані з ферментами синтезу фенілпропаноїдів, флавоноїдів і кумаринів.

За якісним складом вторинних метаболітів окремим кластером постають *A. pavia* L. і *A. glabra* Willd., які належать до секції *Pavia*. До неї також можуть бути віднесені *A. sylvatica* W. Bartram та *A. neglecta* Lindl. Їхня спорідненість за біохімічним профілем унікальна тим, що *A. neglecta* Lindl. утворився в результаті міжвидового схрещування *A. sylvatica* W. Bartram з *A. octandra* Marsh. Від решти представників в окремий підкластер виділився вид *A. parviflora* Walt., який за генетичними дослідженнями віднесено до секції Північноамериканських видів – *Macrothyrsus*.

Розділ 6 «Отримання стійких проти *Cameraria ohridella* Deschka et Dimić рослин *Aesculus hippocastanum* L. шляхом клонального мікророзмноження *in vitro*». У процесі стерилізації листків і пагонів інтактних рослин стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. використано

4 варіанти з різними концентраціями стерилізуючих речовин. У результаті підібрано оптимальні стериланти і процедуру їхнього використання. Введення в культуру *in vitro* фрагментів однорічних пагонів з одним-двома міжвузлями і бруньками гальмувало активацію росту апікальних меристем на безгормональному живильному середовищі МС.

За умов використання 0,1 % розчину HgCl_2 і 50 % нанорозмірних частинок AgNO_3 рівень інфікування експлантів *A. hippocastanum* L. становив 30 та 90 %. Для цього виду рослин загальний пул ендогенних фітогормонів є недостатнім для ініціації утворення пагонів і потребує додаткових гормональних стимулів. Рослинний матеріал з видимими ознаками наявності епіфітної мікобіоти переносили на живильне середовище МС з додаванням БАП у концентрації 500 мкг/л і антибіотика цефотаксима. У результаті культивування інфекція значно пригнічувалась, проте повністю не зникала.

У процесі травматичних ушкоджень тканин на адаксіальному боці поверхні листової пластинки з'являлись перші ознаки калюсоутворення. Індукція первинного калюсу відбувалась в умовах темряви. Калюсоутворення чітко простежувалось на 10–12 добу культивування. За наявності нещільного контакту листка з поверхнею живильного середовища ушкоджені тканини листка відмиralи, що створювало додаткові бар'єри для транспорту води і поживних речовин в калюсогенні зони. Збільшення біомаси калюсної тканини прослідковувалось лише в місцях безпосереднього контакту листової поверхні з живильним середовищем. Додавання до нього регуляторів росту в листках стійкої проти *S. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. індукувало процеси калюсогенезу, зберігання і збільшення маси калюсу суттєво залежало від техніки проведення мануальних операцій.

Завершальним і складним етапом мікроклонального розмноження рослин є поетапна адаптація рослин-регенератів *A. hippocastanum* L. до нестерильних умов *in vivo*. Запорукою успішної адаптації є ретельний підбір субстрату і сприятливі умови в період загартування рослин. Найефективнішим способом адаптації рослин *in vivo* виявився ступінчастий.

У процесі експерименту застосовано: кокосовий субстрат, кокосовий субстрат:перліт (4:1), торф:перліт (1:1), вермикуліт:торф (3:1) та ґрунт:торф:перліт (3:1:1). Перед використанням їх стерилізували за температури 80 °С протягом 1,5 год у сушильній шафі, охолоджували і змочували мінеральним розчином, до складу якого входили кальцієва селітра – 1,04 кг/л, калієва селітра – 192 г/л, монофосфат калію – 137, калій сірчаноокислий – 27 та магній сірчаноокислий – 303 г/л. Сумішшю субстратів заповнювали контейнери. Максимальну ефективність адаптації рослин-регенератів стійкої проти *S. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. визначено на кокосовому субстраті, яка становила 86,6 %, в якому містилась значна кількість необхідних для рослин поживних речовин, що забезпечувало кореням вільний доступ кисню і необхідної вологи. Використання інших субстратів здешевлювало процес адаптації рослин *A. hippocastanum* L., але ефективність її була меншою і коливалась в межах від 26,6 до 70 % (рис. 11).

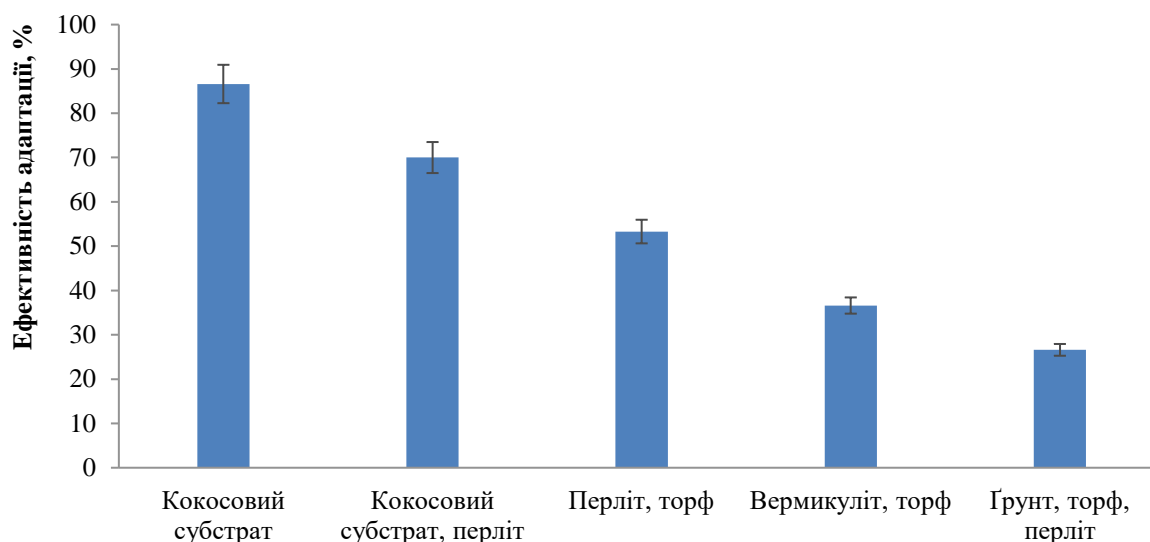


Рис. 11. Ефективність адаптації рослин-регенерантів *A. hippocastanum* L. до умов *in vivo*

Адаптовані рослини-регенеранти в подальшому переносили у ретельно підготовлений й оптимально забезпечений органічними і мінеральними речовинами ґрунт (рис. 12).



Рис. 12. Адаптовані рослини-регенеранти *A. hippocastanum* L. до умов закритого ґрунту за використання різних субстратів: А) ґрунт:торф:перліт; Б) перліт:торф; В) кокосовий субстрат

Використання кокосового субстрату було найоптимальнішим для успішної адаптації рослин-регенерантів *A. hippocastanum* L. до умов *in vivo*, а ступінчастий спосіб забезпечував їхнє виживання на 85–87 %.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі з позицій екосистемного, структурно-функціонального і молекулярно-біологічних підходів уперше подано теоретичне, науково-методичне й експериментальне обґрунтування і нове розв'язання актуального наукового завдання щодо формування адаптивних реакцій видів та форм (культivarів) роду *Aesculus* L. на ушкодження *S. ohridella* урбосередовища Києва. Установлено закономірності

нагромадження вмісту і склад вторинних метаболітів, зокрема фенольних сполук у листках стійких видів та форм рослин роду *Aesculus* L. в умовах водного дефіциту. Уперше розроблено науково-методичні рекомендації, в яких викладено власний експериментальний матеріал з оптимізації біотехнологічних етапів клонального мікророзмноження *in vitro* стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. для озеленення Києва та інших міст України.

Отримані результати дозволяють сформулювати наступні висновки та узагальнення:

1. В умовах м. Києва виявлено окремі форми *A. hippocastanum* L. з унікальними біологічними властивостями, які стійкі проти *C. ohridella*, і взято на облік як перспективні донори для отримання соматичних клонів.

2. Визначено взаємозалежність між ступенем обводнення й інтенсивністю біосинтетичних процесів за відношенням РНК до ДНК у функціонально активних листках видів роду *Aesculus* L. на організменному рівні. Якщо біохімічний показник відношення РНК до ДНК в листках (фаза зав'язування плодів) становить 1,10–1,40, то види роду *Aesculus* L. відзначаються низькою інтенсивністю біосинтетичних процесів і стійкістю проти *C. ohridella*, 4,29–4,56 – середньою та 8,89–10,0 – високою. Відношення РНК до ДНК запропоновано використовувати як діагностичну ознаку біологічної стійкості видів роду *Aesculus* L. проти *C. ohridella*.

3. У листках форми рослин *A. hippocastanum* L., яка нестійка проти *C. ohridella*, прослідковується втрата фізіологічних функцій та активізація процесів вторинного метаболізму, яка супроводжується значним нагромадженням умісту фенольних сполук, що залучаються у механізми захисту клітинних структур від пошкодження гусеницями. Акумуляція фенольних сполук у тканинах має чітко виражену вертикальну зональність – найбільша кількість яких міститься у листках верхніх горизонтів рослин.

4. У стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. концентрація флавоноїдів у листках рослин у 3,5–4,0 рази вища, ніж нестійкої. Визначено, що у відповідь на порушення цілісності листків у тканинах збільшується загальний уміст флавоноїдів. Зокрема, у листках стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. фаза пролонгації триваліша, а пік насичення вищий, ніж нестійкої.

5. Спираючись на запропоновану математичну модель динаміки зміни кількісних показників умісту флавоноїдів, як адаптивну реакцію рослин на ентомострес, уперше виділено фази пролонгації, активного синтезу, насичення та біохімічної трансформації. Оцінено внесок флавоноїдів у формування систем захисту клітинних структур *A. hippocastanum* L. від пошкодження *C. ohridella*. Запропоновано біохімічні маркери середньо- і високомолекулярних сполук з R_f від 0,1 до 0,3, які отримано методом хроматографічного профілювання, для відбору сіянців форм (культivarів) *A. hippocastanum* L. із ознаками високої потенційної фізіологічної стійкості проти *C. ohridella*.

6. У листках рослин *A. hippocastanum* L. визначено накопичення значної кількості каротиноїдів, зокрема γ -каротину, функціональна роль якого пов'язана з антиоксидантними властивостями. Вміст, відношення і сума

хлорофілів *a* і *b* у листках стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. вища, ніж нестійкої. Після травматичного ентомостресу кількість хлорофілу *a* знижується з 4,5 до 2,5 мг/г, а *b* – 1,82 до 0,86 мг/г сирової речовини маси.

7. У покривних тканинах і корі однорічних пагонів рослин роду *Aesculus* L. за якісним й кількісним складом виділено види та гібриди в окремі групи. За видовим складом вони майже повністю співпадають із секціями, які сформовані згідно результатів морфологічного і молекулярно-генетичного аналізів. Виявлено високу біологічну активність і науково обґрунтовано значення вторинних метаболітів у процесах адаптації аборигенних видів та інтродуцентів до урбогенних чинників середовища.

8. На адаксіальному боці поверхні листків стійкої форми рослин характерно утворення мін, які за архітектонікою розташування і рясністю узгоджуються з кладкою яєць *C. ohridella*. Стійка проти *C. ohridella* форма *A. hippocastanum* L. не виділяє у повітря специфічних репелентів і в тканинах листків не порушується синтез ольфакторів, за якими метелик знаходить джерело кормової бази для гусениць.

9. Однією з визначальних гістохімічних ознак стійкої проти *C. ohridella* форми у *A. hippocastanum* L. є суттєве нагромадження у клітинах верхнього епідермісу листків специфічних базофільних сполук, які ускладнюють процеси живлення гусениць після відродження. Уміст катехинів і конденсованих танінів у листках рослин *A. hippocastanum* L., які стійкі проти *C. ohridella*, у 12–15 разів менший, ніж нестійких. Отримані результати ставлять під сумнів вирішальну роль конденсованих танінів у формуванні систем фізіологічної стійкості *A. hippocastanum* L. проти *C. ohridella*.

10. З метою отримання асептичних життєздатних експлантатів *A. hippocastanum* L. використано штучно пробуджені латеральні і квіткові бруньки й пагони взимку. Застосування експлантатів листкових і квіткових меристем *A. hippocastanum* L., які відбирають у квітні – травні з поодиноких насаджень Києва, неефективне через високу їхню зараженість епіфітною мікрофлорою.

11. Для мікроклонального розмноження стійкої проти *C. ohridella* і придатної для адаптації в умовах *in vitro* форми *A. hippocastanum* L. розроблено методичні підходи й технологію поетапного непрямого морфогенезу через послідовну ініціацію калюсогенезу – дедиференціацію та диференціацію тканин з отриманням морфогенних структур.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Відбір сіянців форми (культивару) *A. hippocastanum* L. з ознаками потенціальної фізіологічної стійкості проти *C. ohridella* пропонується проводити за біохімічними маркерами високо- і середньополярних фенольних сполук з R_f від 0,1 до 0,3, які визначають методом хроматографічного профілювання.

2. Для мікроклонального розмноження стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. *in vitro* рекомендується технологія поетапного

органогенезу, що передбачає мультиплікацію мікропагонів з додаванням 0,25 мг/г кінетину і 0,5 мг/л 6-бензиламінопурину й індукцію ризогенезу на базовому живильному середовищі Драйвера-Кун'юкі (DKW) з 1,5 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти та отриманням рослин-регенерантів для адаптації в умовах закритого ґрунту.

3.3 метою дорошування повноцінних рослин-регенерантів форми *A. hippocastanum* L., стійкої проти *C. ohridella*, у контейнерах зі стерильним кокосовим субстратом перед їхньою адаптацією і наступні два тижні необхідно додавати ½ розчину макро- та мікроелементів за прописом живильного середовища Мурашіге-Скуга.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Монографія

1. Ліханов А. Ф., Григорюк І. П., Пентелюк О. С., Костенко С. М., Оверченко О. В., Субін О. В. Фізіологічна адаптація і стійкість рослин роду *Aesculus* L. проти каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić): [монографія]. К., 2017. 160 с. (Здобувачем узагальнено власні експериментальні дані, одноосібно проведено визначення водного режиму, нуклеїнових кислот, фенольних сполук, склад вторинних метаболітів, отримано стійкий проти каштанової мінуючої молі культивар гіркокаштана звичайного шляхом мікроклонального розмноження).

Статті у наукових фахових виданнях України:

2. Ліханов А. Ф., Пентелюк О. С., Григорюк І. П., Ільєнко О. О. Варіативність складу вторинних метаболітів кори однорічних пагонів рослин роду *Aesculus* L. Інтродукція рослин. 2016. № 3 (71). С. 102–109. (Здобувачем проведено визначення варіативності хімічного складу покривних тканин і кори однорічних пагонів гіркокаштанів, взято участь у написанні статті та підготовлено матеріали до друку).

3. Пентелюк О. С., Григорюк І. П., Костенко С. М., Калита Т. В., Ліханов А. Ф. Отримання асептичного матеріалу і індукція калюсогенезу в стійкого проти каштанової мінуючої молі гіркокаштана звичайного. Карантин і захист рослин. 2016. № 10 (240). С. 13–16. (Здобувачем отримано асептичну культуру стійкого проти каштанової мінуючої молі культивару гіркокаштана звичайного і підготовлено матеріали до друку).

Статті у наукових фахових виданнях України,

включених до міжнародних наукометричних баз даних:

4. Лихолат Ю. В., Россихіна-Галича Г. С., Пентелюк О. С. (Троханяк О. С.), Григорюк І. П. Функціонування прооксидантно-антиоксидантної системи в листках рослин гіркокаштана звичайного і каштана їстівного у умовах техногенного забруднення та водного дефіциту: [електронний ресурс]. Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2015. № 5 (54). Режим доступу до

статті: http://nd.nubip.edu.ua/2015_5/7.pdf. *(Здобувачем проаналізовано отримані дані, взято участь у написанні статті і підготовлено матеріали до друку).*

5. **Пентелюк О. С.**, Ліханов А. Ф., Григорюк І. П. Анатомо-фізіологічні ознаки стійкості гіркокаштана звичайного проти каштанової мінуючої молі: [електронний ресурс]. Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2016. № 3 (60). Режим доступу до статті: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/6824>. *(Здобувачем здійснено аналітичний огляд літератури, проведено якісне й кількісне визначення пластидних пігментів, підготовлено матеріали до друку).*

6. **Пентелюк О. С.**, Ліханов А. Ф., Григорюк І. П. Динаміка вмісту поліфенолів у листках рослин гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) за умов механічних пошкоджень. Біоресурси і природокористування. 2016. Т. 8. № 1–2. С. 5–12. *(Здобувачем проведено визначення динаміки вмісту фенольних сполук та флавоноїдів у листках гіркокаштана звичайного і підготовлено матеріали до друку).*

7. Ліханов А. Ф., **Пентелюк О. С.**, Григорюк І. П., Костенко С. М. Просторова специфічність нагромадження фенолів у листках рослин гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.). Біоресурси і природокористування. 2016. Т. 8. № 3–4. С. 5–13. *(Здобувачем проведено якісне та кількісне визначення показників фенольних сполук у листочках пальчастоскладного листка гіркокаштана звичайного і підготовлено матеріали до друку).*

8. **Пентелюк О. С.**, Григорюк І. П. Дискретність показників водного режиму і вмісту нуклеїнових кислот у листках видів рослин роду *Aesculus* L. за дії каштанової мінуючої молі. Біоресурси і природокористування. 2016. Т. 8. № 5–6. С. 5–10. *(Здобувачем проведено визначення кількості і співвідношення РНК до ДНК, показників водного дефіциту, здійснено аналіз отриманих даних, взято участь у написанні статті та підготовлено матеріали до друку).*

9. Григорюк І. П., Лісовий М. М., **Пентелюк О. С.** Системи фоторецепторів як маркери орієнтації каштанової мінуючої молі в просторі. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія. 2017. Вип. 270. С. 23–31. *(Здобувачем встановлено наявність фасеткової структури складного ока каштанової мінуючої молі з кристаликом та підготовлено матеріали до друку).*

Науково-методичні рекомендації

10. Григорюк І. П., Костенко С. М., Оверченко О. В., **Пентелюк О. С.**, Ключадаєнко А. А., Ліханов А. Ф. Технологія мікроклонального розмноження рослин гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.), стійких проти каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić): [науково-методичні рекомендації]. К., 2017. 71 с. *(Здобувачем отримано стійкий проти каштанової мінуючої молі культивар гіркокаштана звичайного шляхом мікроклонального розмноження, взято участь у написанні науково-методичних рекомендацій).*

Тези наукових доповідей:

11. Троханяк О. С. (Пентелюк О. С.), Григорюк І. П. Ендогенні системи регуляції стійкості видів роду *Aesculus* L. проти водного стресу в умовах міського трансформованого середовища. Концепція сталого розвитку та її реалізація в освіті: Всеукраїнська науково-практична конференція, м. Тернопіль, 16–18 квітня 2015 року: тези доповіді. Тернопіль, 2015. С. 61–63. *(Здобувачем досліджено роль аденозинфосфатної, ліпідної і фітогормональної систем в регуляції рівня стійкості видів рослин роду Aesculus L. проти водного стресу в критичну до дефіциту вологи фазу масового цвітіння).*

12. Троханяк О. С. (Пентелюк О. С.), Григорюк І. П. Гетерогенність фізіологічних реакцій саджанців видів рослин роду *Aesculus* L. на водний дефіцит. Біотехнологія: звершення та надії: IV Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених, м. Київ, 21–22 травня 2015 року: тези доповіді. К., 2015. С. 125–126. *(Здобувачем досліджено функціонування інтегральних фізіолого-біохімічних показників у листках дворічних саджанців видів рослин роду Aesculus L. за умов водного дефіциту, які визначають формування продукційного процесу).*

13. Савченко Ю. М., Троханяк О. С. (Пентелюк О. С.), Григорюк І. П. Фізіологічне усихання рослин сосни звичайної і гіркокаштана звичайного в лісових екосистемах Київської області. Проблеми сучасної екологічної освіти: II Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених, м. Київ, 22–23 жовтня 2015 року: тези доповіді. К., 2015. С. 36–37. *(Здобувачем проведено дослідження фізіологічних причин усихання рослин гіркокаштана звичайного у природних лісових екосистемах Київської області).*

14. Савченко Ю. М., Троханяк О. С. (Пентелюк О. С.) Метаболізація фенольних сполук у рослинах сосни звичайної та гіркокаштана звичайного за умов водного дефіциту. Екологічні, економічні та соціальні проблеми розвитку аграрної сфери в умовах глобалізації: Міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів і молодих учених, м. Харків, 4–5 листопада 2015 року: тези доповіді. Х., 2015. Ч. 1. С. 26–29. *(Здобувачем досліджено регуляцію вмісту фенольних сполук рослин гіркокаштана звичайного в умовах водного дефіциту).*

15. Троханяк О. (Пентелюк О.), Ліханов А., Григорюк І. Акумуляція вмісту поліфенольних сполук в листках гіркокаштана звичайного за умов механічного пошкодження. Модернізація національної системи управління державним розвитком: виклики і перспективи: Міжнародна науково-практична інтернет-конференція, м. Тернопіль, 16–17 грудня 2015 року: тези доповіді. Тернопіль, 2015. С. 66–68. *(Здобувачем досліджено акумуляцію вмісту поліфенольних сполук в листках гіркокаштана звичайного за умов механічного пошкодження).*

16. Григорюк І. П., Троханяк О. С. (Пентелюк О. С.), Савченко Ю. М., Серга О. І. Функціонування адаптивних реакцій деревних видів рослин за різного водозабезпечення ґрунту. Рослини та урбанізація: V Міжнародна науково-практична конференція, м. Дніпропетровськ, 16–17 лютого 2016 року: тези доповіді. Дніпропетровськ, 2016. С. 65–67. *(Здобувачем визначено*

функціонування адаптивних реакцій деревних видів рослин за різного водозабезпечення ґрунту).

17. Савченко Ю., Троханяк О. (Пентелюк О.), Серга О., Григорюк І., Якубенко Б. Фізіолого-біохімічні реакції саджанців деревних видів рослин на тривалу ґрунтову посуху. Молодь і поступ біології: XII Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів, м. Львів, 19–21 квітня 2016 року: тези доповіді. Львів, 2016. С. 338–339. (Здобувачем проведено дослідження фізіолого-біохімічних реакцій дворічних саджанців гіркокаштана звичайного на тривалу ґрунтову посуху).

18. Пентелюк О. С., Ліханов А. Ф., Григорюк І. П. Ярусна мінливість накопичення катехінів і проантоціанідинів у листках рослин гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.). Ресурсозберігаючі технології та їх правова оцінка в сільськогосподарському виробництві: Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 27–28 квітня 2016 року: тези доповіді. К., 2016. С. 65–66. (Здобувачем досліджено особливості ярусної і просторової мінливості нагромадження фенольних сполук у листках генеративних дерев гіркокаштана звичайного).

19. Калита Т. В., Пентелюк О. С., Ліханов А. Ф., Григорюк І. П. Структурно-анатомічні ознаки стійкості гіркокаштана звичайного проти каштанової мінуючої молі Біотехнологія: звершення та надії: V Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених, м. Київ, 12–13 травня 2016 року: тези доповіді. К., 2016. С. 128. (Здобувачем досліджено особливості анатомічної будови листків стійких проти каштанової мінуючої молі форм гіркокаштана звичайного).

20. Пентелюк О. С., Григорюк І. П. Технологія мікроклонального розмноження форми гіркокаштана звичайного, яка не ушкоджується каштановою мінуючою міллю. Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур: Міжнародна науково-практична конференція, м. Дніпро, 22–23 листопада 2016 року: тези доповіді. Дніпро, 2016. С. 233–235. (Здобувачем оптимізовано процедуру стерилізації первинних експлантатів і отримано асептичну культуру *in vitro* для мікроклонального розмноження рослин гіркокаштана звичайного, які стійкі проти каштанової мінуючої молі).

21. Пентелюк О. С., Григорюк І. П., Костенко С. М., Ліханов А. Ф. Біотехнологічні аспекти розмноження стійкої проти каштанової мінуючої молі форми гіркокаштана звичайного *in vitro*. Біологія рослин та біотехнологія: III конференція молодих учених, м. Київ, 16–18 травня 2017 року: тези доповіді. К., 2017. С. 75. (Здобувачем взято участь у процесі розроблення технології мікроклонального розмноження форми гіркокаштана звичайного *in vitro*).

22. Серга О. І., Богач Є. М., Пентелюк О. С., Якубенко Б. Є., Григорюк І. П. Формування адаптивних реакцій рослин в стресових умовах середовища. Біотехнологія: Звершення та надії: VI Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 14–16 листопада 2017 року: тези доповіді. К., 2017. С. 305–306. (Здобувачем проаналізовано формування адаптивних реакцій рослин гіркокаштана звичайного в стресових умовах середовища).

АНОТАЦІЯ

Пентелюк О. С. Внутрішньородове дендрорізноманіття *Aesculus L.* урбосередовища Києва (адаптація до ентомостресу, вторинний метаболізм, стійкість). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 06.03.01 «Лісові культури та фітомеліорація». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2018.

У дисертаційній роботі уперше подано теоретичне, науково-методичне й експериментальне обґрунтування і нове розв'язання актуального наукового завдання щодо формування адаптивних реакцій видів роду *Aesculus L.* на ушкодження *C. ohridella* урбосередовища Києва. Установлено закономірності нагромадження вмісту і склад вторинних метаболітів, зокрема фенольних сполук у листках стійких видів та форм (культиварів) рослин роду *Aesculus L.* в умовах водного дефіциту. Визначено взаємозалежність між ступенем обводнення й інтенсивністю біосинтетичних процесів за відношенням РНК до ДНК у функціонально активних листках видів роду *Aesculus L.* на організменому рівні.

У форми рослин *A. hippocastanum L.*, яка нестійка проти *C. ohridella*, встановлено активізацію процесів вторинного метаболізму і нагромадження вмісту фенольних сполук, що залучаються у системи захисту клітинних структур від пошкодження гусеницями. Кількість катехинів і конденсованих танінів у листках форми рослин *A. hippocastanum L.*, яка стійка проти *C. ohridella*, у 12–15 разів менша, ніж нестійкої.

Динаміку вмісту флавоноїдів, як фізіологічну реакцію рослин на механічні пошкодження, описано функцією логнормальної залежності. На підставі математичної моделі вперше визначено чотири періоди нагромадження поліфенолів у листках рослин *A. hippocastanum L.*, зокрема пролонгації, активного синтезу, насичення і біохімічної трансформації.

У покривних тканинах і вторинній корі пагонів рослин роду *Aesculus L.* визначено накопичення вторинних метаболітів, які за кількісним й якісним складом дозволяють виділити види та гібриди в окремі групи. За видовим складом вони співпадають з секціями, які сформовані за результатами морфологічного і молекулярно-генетичного аналізів. Уперше запропоновано біохімічні маркери середньо- і високомолекулярних сполук з R_f від 0,1 до 0,3 для відбору сіянців форм *A. hippocastanum L.* із ознаками високої потенційної фізіологічної стійкості проти *C. ohridella*.

Для мікроклонального розмноження стійкої проти *C. ohridella* і придатної для адаптації в умовах *in vivo* форми *A. hippocastanum L.* розроблено технологію поетапного морфогенезу через послідовну ініціацію калюсогенезу – дедиференціацію та диференціацію тканин з отриманням морфогенних структур.

Ключові слова: види і форма (культивар) роду *Aesculus L.*, каштанова мінуюча міль, вторинний метаболізм, фенольні сполуки, флавоноїди, таніни, хлорофіл, мікроклональне розмноження, адаптація, стійкість.

АННОТАЦИЯ

Пентелюк Е. С. Внутривидовое дендроразнообразие *Aesculus L.* урбосреды Киева (адаптация к энтомострессу, вторичный метаболизм, устойчивость). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.03.01 «Лесные культуры и фитомелиорация». Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины. Киев, 2018.

В диссертационной работе впервые представлено теоретическое, научно-методическое и экспериментальное обоснование и новое решение актуальной научной проблемы по формированию адаптивных реакций видов рода *Aesculus L.* на повреждение *C. ohridella* в урбосреде города Киева. Установлены закономерности накопления содержания и состав вторичных метаболитов, в частности фенольных соединений в листьях устойчивых видов и формы (культивара) растений рода *Aesculus L.* в условиях водного дефицита. Определено взаимозависимость между степенью обводненности и интенсивностью биосинтетических процессов по отношению РНК к ДНК в функционально активных листьях видов рода *Aesculus L.* на организменном уровне.

У формы растений *A. hippocastanum L.*, которая неустойчива против *C. ohridella*, установлено активизацию процессов вторичного метаболизма и накопление содержания фенольных соединений, которые вовлекаются в системы защиты клеточных структур от повреждения гусеницами. Количество катехинов и конденсированных таннинов в листьях формы растений *A. hippocastanum L.*, которая устойчива против *C. ohridella*, в 12–15 раз меньше, чем неустойчивых.

Динамику содержания флавоноидов, как физиологическую реакцию растений на механические повреждения, описано функцией логнормальной зависимости. На основании математической модели впервые определено четыре периода накопления полифенолов в листьях растений *A. hippocastanum L.*, в частности пролонгации, активного синтеза, насыщения и биохимической трансформации.

В покровных тканях и вторичной коре побегов растений рода *Aesculus L.* определено накопление вторичных метаболитов, которые за количественным и качественным составом позволяют выделить виды и гибриды в отдельные группы. По видовому составу они совпадают с секциями, которые сформированы по результатам морфологического и молекулярно-генетического анализов. Впервые предложено биохимические маркеры средне- и высокомолекулярных соединений с R_f от 0,1 до 0,3, для отбора семян форм *A. hippocastanum L.* с признаками высокой потенциальной физиологической устойчивости против *C. ohridella*.

Для микроклонального размножения устойчивой против *C. ohridella* и пригодной для адаптации в условиях *in vivo* формы *A. hippocastanum L.* разработано технологию поэтапного морфогенеза через последовательную

инициацию каллюсогенеза – дедифференциацию и дифференциацию тканей с получением морфогенных структур.

Ключевые слова: виды и форма (культурвар) рода *Aesculus* L., каштановая минирующая моль, вторичный метаболизм, фенольные соединения, флавоноиды, таннины, хлорофилл, микроклональное размножение, адаптация, устойчивость.

ANNOTATION

Penteluk O. S. Inner dendro diversity of *Aesculus* L. urban environment of Kyiv (adaptation to entomological stress, secondary metabolism, resistance). – The Manuscript.

The thesis for awarding the candidate degree in biological sciences by specialty 06.03.01 «Forest Plantation and Phytomelioration». National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2018.

The thesis presents the results of comprehensive studies of the on ecosystem, structural – functional and molecular – biological approaches for the first time on the theoretical, scientific methodical and experimental justification. The new solution proposed for the actual scientific problem concerning to the formation of adaptive reactions for the species of the genus *Aesculus* L. damage to *C. ohridella* of the Kyiv's urban environment. The accumulation regularity established in content and composition of secondary metabolites, especially phenolic compounds in leaves of resistant species and cultivars of genuses' plants *Aesculus* L. in conditions of water insufficiency. The scientific and methodological recommendations were developed and the experimental material on optimization of biotechnological stages of clinical microproliferation in vitro resistant to *C. ohridella* cultivar *A. hippocastanum* L. for planting in Kyiv for the first time.

The ecobiocultures with unique ecological properties are took into the account as promising donors for obtaining somatic clones of stable tree forms during the process of visual exploration of the green plantations of Kyiv.

There were determined the interdependence between the degree of flooding and the intensity of biosynthetic processes by the ratio of RNA to DNA in functional active leaves of species of the genus *Aesculus* L. at the organism level. If the biochemical index of the ratio of RNA to DNA in the leaves (the binding phase of the fruits) were consisted 1.10–1.40, so the species of the genus *Aesculus* L. characterized by low intensity of biosynthetic processes and resistance to *C. ohridella*, 4.29–4.56 – average and 8.89–10.0 – high. The ratio of RNA to DNA can be use as one of the relative diagnostic signs of biological resistance for the species of the genus *Aesculus* L. against *C. ohridella*.

The leaves of plants *A. hippocastanum* L. are unstable against the *C. ohridella*. The loss of physiological functions has observed, and simultaneously the secondary metabolism processes activation has accompanied by the accumulation of phenolic compounds content involved into the protection system of cell structures from the caterpillars damage. The formed leaves of plants *A. hippocastanum* L. characterized by the uniform distribution of phenolic compounds before the start of damage to

C. ohridella. The phenolic compounds accumulation in tissues has a clearly expression vertical zonality – the largest number of which is contained in the leaves of upper plants horizons. One of the defining histochemical signs of *C. ohridella* resistant to *A. hippocastanum* L. cultivar is the substantial accumulation of specific basophilic compounds in the upper epidermis cells. They are complicated the caterpillars feeding after regeneration. The received results have doubted the decisive role for condensed tanins in forming system of physiological resistance *A. hippocastanum* L. against *C. ohridella*.

The concentration of flavonoids in leaves is 3.5–4.0 times higher in the resistant cultivar in the form *A. hippocastanum* L., to *C. ohridella*, in comparison with non-resistant cultivars. It was determined, that the general flavonoids content was increased as a result of leaves integrity damage. Especially, the leaves of *C. ohridella* resistant to *A. hippocastanum* L., on the prolongation phase is longer and the saturation peak is higher. The dynamics of flavonoids content, as plants' physiological reaction to mechanical damages, described by the function of lognormal dependence. It is based upon the mathematical model on four periods of polyphenols accumulation on the leaves of *A. hippocastanum* L. plants – prolongation for active synthesis, saturation and biochemical transformation are determined.

The species and hybrids are identified in separate groups in the covering tissues and the bark of annual shoots of plants of the genus *Aesculus* L. in qualitative and quantitative composition. They almost completely coincide with the sections formed according to the results of morphological and molecular genetic analysis by species composition. High biological activity was discovered and the value of secondary metabolites in the processes of adaptation of aboriginal species and introducts to urbogenic factors of the medium. They were substantiated scientifically.

The contribution of flavonoids evaluated for the protection system formation of *A. hippocastanum* L. cell structures from damage to *C. ohridella*. The biochemical markers were proposed for the average medium and high molecular weight compounds R_f from 0.1 to 0.3. They were received by chromatographic profiling for selection of seedlings of cultivar *A. hippocastanum* L. with signs of high potential physiological resistance against *C. ohridella*.

It is advisable to use artificially awakened lateral and flower buds and shoots were took in the winter for the receiving aseptic viable actinus *A. hippocastanum* L. The explants use of leafy and flower meristems *A. hippocastanum* L. are chose in April – May from Kyiv's isolated plantations. It is not effective way because they infected by epiphytic microflora.

The microclone propagation of resistant *C. ohridella* to *A. hippocastanum* L. cultivar suitable for adaptation under conditions *in vivo*, methodological approaches and technology of phased indirect morphogenesis have been developed through the successive initiation of callus formation – dedifferentiation and differentiation of tissues with morphogenic structures.

Key words: species and cultivar of the genus *Aesculus* L., horse chestnut miner moth, secondary metabolism, phenolic compounds, flavonoids, tannins, chlorophyll, microclonal propagation, adaptation, resistance.