

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

**ЛІХАНОВ АРТУР ФЕДОРОВИЧ**

УДК 606:581.1:631.527:633.6/.81

**ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ І ТРАНСФОРМАЦІЯ  
ВТОРИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН  
У ЛІСОВИХ ТА УРБОФІТОЦЕНОЗАХ**

06.03.01 «Лісові культури та фітомеліорація»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора біологічних наук

Київ – 2021

Дисертацією є кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису  
Роботу виконано у Національному університеті біоресурсів і природо-  
користування України Міністерства освіти і науки України

**Науковий консультант** доктор біологічних наук,  
професор, академік НААН  
**Мельничук Максим Дмитрович,**  
Навчально-науково-виробничий комплекс  
«Всеукраїнський науково-  
навчальний консорціум»,  
віце-президент

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор  
**Криницький Григорій Томкович,**  
Державний вищий навчальний заклад  
«Національний лісотехнічний  
університет України»,  
завідувач кафедри лісівництва

доктор біологічних наук, професор,  
член-кореспондент НАН України  
**Заїменко Наталія Василівна,**  
Національний ботанічний сад  
імені М. М. Гришка НАН України,  
директор

доктор біологічних наук, професор  
**Лихолат Юрій Васильович,**  
Державний вищий навчальний заклад  
«Дніпровський національний  
університет імені Олеся Гончара»,  
завідувач кафедри фізіології  
та інтродукції рослин

Захист відбудеться «26» березня 2021 року о 10<sup>00</sup> 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 «24» лютого 2021 року

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради

А. Г. Лащенко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Реалізація адаптивного потенціалу лісових культур системно пов'язана зі станом навколишнього середовища й залежить від мобільної групи метаболітів із широким спектром фізіологічних та екологічних функцій (Харборн Д., 1985; Запрометов М. Н., 1993). Для адаптації рослин особливе значення мають низькомолекулярні продукти вторинного синтезу (Padmavati M., 1997; Brown D. E., 2001; Dudek-Makuch M., 2013). Через складні регуляторні мережі вторинні метаболіти пов'язані з факторами транскрипції (Broun P., 2005), що підвищує надійність епігенетичного контролю рослинного організму в стресових умовах. Процеси росту і розвитку рослин регулюються гормональними стимулами, а розподіл і транспорт фітогормонів контролюється вторинними метаболітами, зокрема флавоноїдами та іншими фенольними сполуками (Brown D. E., 2001; Santelia P., 2008). Широкий спектр і біологічна поліфункціональність вторинних метаболітів слугує предметом сучасних молекулярно-біологічних й екофізіологічних досліджень (Masson G., 1995), що в аспекті лісових культур дозволяє формувати систему знань про функціонування рослинного організму на різних стадіях онтогенезу з урахуванням умов місцезростання, визначати потенційну стійкість інтродуцентів проти несприятливих чинників, збудників хвороб, шкідників, прогнозувати масштаби поширення інвазійних видів та оцінити загальний стан рослин в умовах антропогенної трансформації лісових і паркових екосистем. Водночас видоспецифічність якісного складу вторинних метаболітів, динаміка синтезу й біохімічної трансформації речовин під впливом різноманітних внутрішніх та зовнішніх стимулів, поліфункціональність і надзвичайна фізіологічна активність ускладнюють вивчення їхньої ролі на організменному та екосистемному рівнях (Гродзинський А. М., 1990; Franco D. M. et al., 2015).

Багатовекторність екологічних зв'язків не дозволяє через просту екстраполяцію пояснити більшість природних феноменів взаємодії між рослинами та іншими компонентами екосистем, як, наприклад, алелопатія. Отже, висока біоактивність, поліфункціональність і здатність до біотрансформації вторинних метаболітів з утворенням нових активних сполук становить значний теоретичний і практичний інтерес, а системний фізіолого-біохімічний підхід до вивчення захисних реакцій рослин дозволяє визначити базові складові адаптаційних механізмів та з'ясувати роль низькомолекулярних сполук у взаємодіях рослин із навколишнім природним середовищем (Телитченко М. М., Остроумов С. А., 1990).

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Основні експериментальні дослідження виконано в лабораторії біотехнології рослин і проблемній лабораторії фітовірусології та біотехнології Національного університету біоресурсів і природокористування України в рамках науково-технічних програм за темами: «Біотехнологічні підходи ідентифікації фітопатогенів, генетичної паспортизації, розмноження та переробки цінних сільськогосподарських культур» (номер державної реєстрації 0113U003828, 2013–2015 рр.); «Генетична паспортизація і технологія мікроклонального

розмноження та оздоровлення високопродуктивних сортів ягідних культур» (номер державної реєстрації 0115U003377, 2015–2016 рр.); «Створення та добір високопродуктивних клітинних ліній представників роду *Lysimachia* для потреб фармакології» (номер державної реєстрації 0115U002926, 2016–2019 рр.); «Розробка технології клонування *in vitro* гіркокаштана звичайного стійкого проти каштанової мінуючої молі» (номер державної реєстрації 0116U001606, 2016–2018 рр.); «Розробка практичних засад фітодизайнологічної екотрансформації насаджень ландшафтів мегаполісів» (номер державної реєстрації 0118U000308, 2018–2020 рр.); «Біоіндикаційна оцінка стану паркових екосистем м. Києва» (номер державної реєстрації 0117U004323; 2017–2021 рр.).

**Мета та завдання дослідження.** Мета дисертаційного дослідження – теоретично обґрунтувати і розробити основи системного підходу до вивчення закономірностей просторового розподілу вторинних метаболітів у рослинних тканинах із визначенням їхньої ролі в системі захисту й адаптації лісових культур до несприятливих чинників.

Відповідно до поставленої мети передбачалося вирішити такі завдання:

- проаналізувати якісний склад фенольних сполук у пагонах деревних видів рослин роду *Juglans* L., *Betula* L., *Acer* L., *Aesculus* L. на рівні секцій для виявлення гібридів, що виникають унаслідок спонтанної гібридизації;
- визначити вплив фенолкарбонових кислот на процеси морфогенезу рослин у культурі *in vitro*;
- дослідити розподіл вторинних метаболітів у секреторних системах рослин і визначити їхню роль у процесах адаптації та системі захисту рослин;
- встановити закономірності просторового розподілу фенольних сполук у листках деревних видів рослин;
- вивчити специфіку нагромадження вторинних метаболітів у листках рослин-індикаторів в умовах міських насаджень та виявити біохімічні маркери для оцінки загального стану рослин;
- встановити закономірності розподілу метаболітів у тканинах листків у рослин за патогенезу вірусної етіології;
- з'ясувати роль вторинних метаболітів у реалізації механізмів стійкості рослин роду *Aesculus* проти *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic;
- з'ясувати специфіку вторинного метаболізму рослин *Quercus robur* L. із вадами деревини та виділити біохімічні маркери для їхньої експрес-діагностики;
- дослідити динаміку надходження фенольних сполук із листкового опаду деревних рослин у ґрунт і встановити закономірності біогенної трансформації лісових фітоценозів.

**Об'єкт дослідження** – роль вторинних метаболітів у процесах адаптації і захисних реакціях деревних рослин.

**Предмет дослідження** – особливості синтезу, просторового розподілу вторинних метаболітів у процесах адаптації і реалізації захисних функцій деревних рослин.

**Методи дослідження:** теоретичного аналізу (системний, структурно-функціональний); фізіологічні, біохімічні, спектрофотометричні; хроматографії (високоєфективної рідинної та тонкошарової); мікробіологічні, біоавтографії;

молекулярно-біологічні (ідентифікація вірусів, грибів і бактерій методами геномного аналізу за допомогою ПЛР); світлової і флуоресцентної мікроскопії (гістохімічні, цитологічні); біотехнологічні, статистичної обробки даних і непараметричного аналізу.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Впроваджено системний підхід до вивчення закономірностей просторового розподілу і функцій вторинних метаболітів деревних видів рослин.

Основні положення дисертації, що визначають її наукову новизну полягають у наступному:

*вперше:*

– визначено специфіку вторинного метаболізму рослин *Quercus robur* із прихованими вадами деревини та запропоновано спосіб використання біохімічних маркерів для їхнього виявлення;

– розкрито механізми стійкості видів і гібридів *Aesculus hippocastanum* L. проти каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella*). Доказово спростовано поширену думку щодо вирішальної ролі проантоціанидинів у системі стійкості рослин роду *Aesculus* проти каштанової мінуючої молі;

– доведено, що у насадженнях *Fagus sylvatica* L. відсутність трав'янистого ярусу зумовлена переважно біогенною трансформацією едафічних умов через тривале підкислення ґрунтів продуктами листкового опаду і створення умов для домінування мікроміцетів, які, у свою чергу, виділяють у ґрунт фітотоксичні речовини; у комплексі з високою концентрацією рухомих форм алюмінію підвищується алелопатична активність органічних сполук, що з часом призводить до суттєвого зменшення видового різноманіття у лісовому фітоценозі;

*удосконалено* методологічні підходи щодо виявлення природньо виниклих гібридів роду *Aesculus*, *Juglans*, *Betula* за якісним складом продуктів вторинного метаболізму;

*отримало подальший розвиток* визначення закономірностей просторового розподілу фенольних сполук у асиміляційних органах рослин *Aesculus hippocastanum*, *Betula pendula* Roth., *Acer platanoides* L. і дослідження характеру зв'язків між ярусами крони та окремими класами фенольних сполук, що пояснює їхню екологічну функцію для рослинного організму;

*доповнено:*

– дані стосовно можливості використання якісного складу фенольних сполук перидерми і кори однорічних пагонів аборигенних й інтродукованих видів роду *Acer*, *Aesculus*, *Juglans* для виявлення гібридних форм та проведення хемофенетичних досліджень;

– сучасні положення щодо процесів формування, будови і функціональних особливостей секреторних систем рослин та запропоновано нову точку зору на їхню роль у просторовій орієнтації метамерів.

Наукову новизну роботи підтверджено свідоцтвом про реєстрацію авторського права на твір «Спосіб диференціального фарбування поліфенольних сполук і основних білків рослинних тканин» та двома патентами на корисну модель: «Спосіб активізації синтезу резвератролу в листках винограду (*Vitis*

*vinifera* L.) в культурі *in vitro*» і «Спосіб діагностування вад деревини твердолистяних порід».

**Практичне значення одержаних результатів.** Використання біохімічних маркерів, що пов'язані з деструктивними процесами у деревині живих рослин, дозволяє своєчасно виявляти вади деревини задовго до планової рубки.

Розроблена система біохімічного профілювання деревних видів рослин для експрес-діагностики цінних генотипів і гібридних форм на стадії сіянців.

Використання фенолкарбонових кислот як регуляторів росту і вторинного синтезу рослин-регенерантів в умовах *in vitro* сприяє підвищенню ефективності мікроклонального розмноження та адаптації деревних культур.

У системі Відокремленого підрозділу Національного університету біоресурсів і природокористування України «Боярська лісова дослідна станція» апробовано й впроваджено технологію отримання вискоєфективного стимулятора росту для рослин із закритою та відкритою кореневою системою, що забезпечує поліпшення приживлюваності рослин-регенерантів у процесі їх адаптації після культури *in vitro*.

Науково-теоретичні положення та експериментальні результати дисертації використовуються в освітньому процесі під час викладання дисципліни «Ботаніка», що включена до програми підготовки студентів ОС «Бакалавр» зі спеціальності 205 «Лісове господарство» і 206 «Садово-паркове господарство» у Національному університеті біоресурсів і природокористування України.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачу належить постановка проблеми, визначення мети й завдань дослідження, розроблення теоретико-методологічних і методичних підходів фізіологічних, біохімічних, біотехнологічних та молекулярно-генетичних досліджень, встановлення їх обсягу, удосконалення методик. Основна частина наведених у дисертації наукових положень, висновків і пропозицій належить особисто здобувачу та є його науковим доробком. У роботах, опублікованих у співавторстві, особистий внесок здобувача полягає у визначенні завдань, виборі методів, проведенні аналізів, обговоренні результатів та їх інтерпретації, узагальненні експериментальних даних, формулюванні висновків та участі у написанні статей. Здобувачем здійснено узагальнення теоретичних і практичних положень, підготовлено текст дисертації, обґрунтовано висновки за результатами власних досліджень.

**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертаційних досліджень було представлено на: Міжнародній науково-практичній конференції «Функціонування заповідних територій в сучасних умовах України» (м. Ужгород, 2009 р.); Міжнародній конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (м. Ялта, 2010 р.); II Міжнародній науково-практичній конференції «Рослини та урбанізація» (м. Дніпропетровськ, 2011 р.); Міжнародній науковій конференції, присвяченій 80-річчю від дня заснування Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка «Інтродукція рослин, збереження та збагачення біорізноманіття в ботанічних садах та дендропарках» (м. Київ, 2015 р.); Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Модернізація національної системи управління державним розвитком: виклики і перспективи» (м. Тернопіль, 2015 р.); II Міжнародній науковій

конференції «Microbiology and immunology – the development outlook in the 21<sup>st</sup> century» (м. Київ, 2016 р.); Міжнародній науково-практичній конференції: «Ресурсозберігаючі технології та їх правова оцінка в сільськогосподарському виробництві» (м. Київ, 2016 р.); EGU General Assembly (м. Вена, Австрія, 2017 р.); Proceedings of the Scientific-Technical Commission of International Hop Growers' Convention (м. Санкт-Стефан-ам-Вальде, Австрія, 2017 р.); XII Міжнародній конференції «Synanthropization of Flora and Vegetation» (м. Ужгород – Берегове, 2018 р.); IX Міжнародному науковому сільськогосподарському симпозіумі «Agrosym 2018» (м. Яхорина, Боснія і Герцеговина, 2018 р.).

**Публікації.** Результати дисертаційного дослідження опубліковано у 38 наукових працях, з яких монографія, 16 статей у наукових фахових виданнях України, 3 статті у наукових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних Scopus/Web of Science, 2 статті в наукових виданнях інших держав, стаття в іншому науковому виданні, 2 науково-методичні рекомендації, 2 патенти України на корисну модель, 11 тез наукових доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація містить анотації, перелік умовних позначень, вступ, дев'ять розділів, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел і додатки. Матеріали дисертації викладено на 440 сторінках, основна її частина містить 41 таблицю та 139 рисунків. Список використаних джерел включає 452 найменування (із них 338 латиницею).

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Розділ 1 «Поліфункціональна роль продуктів вторинного метаболізму вищих рослин».** Представлено детальний аналіз сучасних положень, що ґрунтуються на молекулярно-генетичних дослідженнях, результатах експериментальної фізіології, біохімії та біотехнології рослин, які вирішують проблеми стійкості рослин, підвищення ефективності селекційного процесу, розширення генетичної мінливості культивованих рослин. Висвітлено процеси синтезу та трансформації вторинних метаболітів, а також проаналізовано сучасні наукові повідомлення щодо їхньої участі в адаптації до несприятливих екологічних чинників.

Синтез вторинних метаболітів вищих рослин, їхній просторовий розподіл і функціональність – надзвичайно складна проблема, вивчення якої потребує системного підходу. Вторинний метаболізм рослин формувався в результаті тривалого еволюційного процесу. Його основні функції пов'язані, насамперед, з необхідністю підтримувати внутрішню стабільність рослинного організму в умовах, які динамічно змінюються. Функціонально вторинні метаболіти не можна вивчати абстрактно, залишаючи поза увагою їхнє просторове розташування, локалізацію в клітинних компартментах та їхню біотрансформацію в процесі ферментації під час порушення цілісності мембран внаслідок травматичних стресів. Усі ці процеси, враховуючи надзвичайне різноманіття вторинних метаболітів, і відкриття, завдяки сучасним методам

аналізу, все нових і нових органічних сполук переводить актуальність цього напрямку досліджень на новий рівень, оскільки дозволяє розкривати механізми адаптації рослин, їхньої здатності до взаємодії з іншими організмами.

Критичний аналіз літератури показав, що переважна більшість досліджень вторинного метаболізму рослин зосереджена на якомусь одному з його аспектів, тоді як поза увагою часто залишаються питання поліваріантності адаптивних реакцій рослин у процесі взаємодії з навколишнім природним середовищем.

Розділ 2 «**Матеріали і методи проведення досліджень**». Для вивчення ролі вторинного метаболізму рослин у процесах адаптації, захисних реакцій та алелопатичних взаємодій використовували: 54 види і 5 гібридів деревних рослин генеративного віку, серед яких: 13 видів *Acer*, 6 видів і 4 гібриди *Juglans*, 12 видів *Betula*, 12 видів, 1 гібрид і 1 форма *Aesculus*, 5 видів *Tilia* L., а також дерева видів *Quercus robur* L., *Carpinus betulus* L., *Fagus sylvatica* L., *Fraxinus excelsior* L., *Populus nigra* L., *Prunus avium* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Gleditsia triacanthos* L.; чагарників: вид і 6 сортів *Corylus avellana* L., трав'яних рослин: *Humulus lupulus* L., *Lysimachia nummularia* L. (усього – 57 видів, 5 гібридів і 20 сортів). За модельні об'єкти слугували плоди рослин *Beta vulgaris* L., *Salix alba* L., *Vitis vinifera* L., як тест-об'єкти: *Allium cepa* L., *Lepidium sativum* L., *Raphanus sativus* var. *radicula* Pers.

Хемотаксономічні дослідження аборигенних й інтродукованих видів деревних рослин проводили на рослинах колекційного фонду Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України у період 2015–2020 рр. Відбір зразків листків, перидерми з корою однорічних пагонів виконували у п'яти повторностях із п'яти дерев генеративного віку. Стійкість рослин *Aesculus hippocastanum* проти *Cameraria ohridella* вивчали за матеріалами багаторічних моніторингових досліджень (2010–2018 рр.).

Для профілювання вторинних метаболітів застосовували метод обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії. Дослідні зразки розділяли на хроматографічній системі Agilent 1100. Використовували двоелюентну схему (елюент А=0,05 М водний розчин ортофосфорної кислоти  $H_3PO_4$ ; В = метанол; всі елюенти й добавки – Sigma-Aldrich, градація чистоти – HPLC) на колонці ZORBAX Eclipse Plus C18. Об'єм зразка 2 мкл, термостатування колонки за 20 °С, швидкість потоку 0,2 мл/хв. Детектування органічних сполук на довжинах хвиль 206 нм, 254, 300, 350 та 450 нм – з метою визначення речовин ароматичної природи: фенілпропаноїдів (оксикоричні кислоти та лігнани), флавоноїдів (флаволи й флавоноли), хлорофілів і каротиноїдів (в т. ч. терпеноїдів).

Розділення флавоноїдів методом високоефективної тонкошарової хроматографії виконували на пластинках силікагель G60 (Merck) у системах розчинників: етилметилкетон – етилацетат – метанол – вода (v/v/v/v – 30:20:5:5); етилацетат – мурашина кислота – оцтова кислота – вода (v/v/v/v – 100:11:11:25). Тритерпенові сапоніни розділяли в системі: хлороформ – оцтова кислота – метанол – вода (v/v/v/v – 60:32:12:8). Пластидні пігменти виокремлювали в системі: толуол – етилацетат – мурашина кислота (v/v/v – 2:6:1). Для розділення вільних амінокислот використовували систему: н-бутанол – оцтова

кислота – метанол – вода (v/v/v – 6:1,5:0,5:2). Для встановлення хімічної природи речовин хроматограми обробляли хромогенними реагентами (Ковалев В. Н., 2003). Показники R<sub>f</sub> індивідуальних сполук визначали фотоденситометрично із використанням комп'ютерної програми Sorbfil TLC Videodensitometer.

Загальний вміст фенольних сполук у листках і деревині оцінювали спектрофотометричним методом (СФ Optizen Pop, Південна Корея) за допомогою реактиву Фоліна-Чекольтеу (Сибгатуллина Г. В., 2011). Калібрувальний графік будували за галовою кислотою. Кількісний вміст флавоноїдів у рослинному матеріалі визначали за  $\lambda=419$  нм. До 300 мкл екстракту послідовно додавали 200 мкл 0,1М розчину хлориду алюмінію (AlCl<sub>3</sub>) і 300 мкл 1М ацетату натрію (CH<sub>3</sub>COONa). Калібрувальний графік будували за кверцетином (Sigma, Germany). Уміст катехинів вимірювали за реакцією на ваніліновий реактив. До 100 мкл екстракту поступово додавали 900 мкл метанолу, 2,5 мл 1% розчину ваніліну та 2,5 мл 9 Н H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> у метанолі. Визначення оптичної густини (D) реакційної суміші проводили через 30 хв за  $\lambda=500$  нм. Концентрацію фенольних антиоксидантів в екстрактах визначали спектрофотометрично за Бренд-Вільямсом за використання вільного стабільного радикала 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразу (ДФПГ) (Brand-Williams W. et al., 1995). Концентрацію хлорофілу a, b і каротиноїдів визначали в метанольних екстрактах рослинних тканин (Wrolstad R. E., 2005). Повторність фітохімічних досліджень – 5-разова.

Гістохімічні дослідження секреторних структур проводили на постійних мікропрепаратах (7–8 мкм) вегетативних і генеративних органів модельних рослин. Якісне визначення вторинних метаболітів, полісахаридів, білків у тканинах виконували за стандартними прописами (Фурст Г. Г., 1979; Pellicciari C., Biggiogera M., 2017). Структуру клітин і клітинних оболонок вивчали методами фазово-контрастної мікроскопії на інвертованому мікроскопі Carl Zeis Axio Observer Z1. Автофлуоресценцію клітин і тканин досліджували на мікроскопі Axio Scope A-1 Carl Zeiss. Фотодокументацію матеріалів і цифрову обробку даних виконували й аналізували в спеціалізованих програмах Image Pro-Premier 9.1 (USA) і AxioVision 4.7 Carl Zeiss.

Для аналізу нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК ентеробактерії геному ДНК виділяли із суспензії бактеріальних клітин. Ампліфікацію гена 16S рРНК проводили з праймерами 27f (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') і 1492r (5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3'). Очищений ПЛР-продукт сиквенували у двох напрямках на приладі Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems, США). Нуклеотидну послідовність порівнювали із внесеними до бази даних GenBank за допомогою програми NCBI Blastn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Філогенетичний аналіз, вирівнювання нуклеотидних послідовностей гена 16S рРНК різних видів роду *Pseudomonas* виконували за допомогою програми MEGA 5 (Tamura K. et al., 2013). Дендрограму філогенетичних зв'язків будували методом найближчого зв'язування (Neighbor Joining) за застосування моделі Кімури по 1000 репліках бутстреп-аналізу.

Максимальну активність  $\beta$ -глюкозидаз і хітиназ ґрунту визначали за використання флюоресцентномічених субстратів: 4-метилумбеліферил- $\beta$ -

D-глюкозид (ЕС 3.2.1.21) для дослідження β-глюкозидазної активності; 4-метилумбеліферил-фосфат (ЕС 3.1.3.2) для оцінки фосфатазної активності; 4-метилумбеліферил l-N-ацетил-β-D-глюкозамінід (ЕС 3.2.1.52) для визначення хітиназної активності.

Отримані результати представлені як середнє значення і стандартна похибка ( $\bar{x} \pm SE$ ). Аналіз головних компонент, кореляційний і кластерний аналізи виконували в програмі Statistica 7 (StatSoft Inc., США, 2004). Достовірність відмінностей між середніми значеннями ( $p < 0,05$ ) встановлювали методом дисперсійного аналізу (one-way ANOVA) у програмі XLSTAT (Addinsoft Inc., США, 2010). Дані порівнювали за допомогою Т'юкі тесту (з корекцією Бонферроні). Для проведення регресійного аналізу залучали програму Sigma Plot 12.0 (Systat Software, Inc., 2011).

**Розділ 3 «Біохімічний поліморфізм фанерофітів за якісним складом фенольних сполук».** Актуальність ідентифікації гібридів між аборигенними і натуралізованими інтродукованими видами деревних рослин визначається потребами екологічного менеджменту (виявлення прихованих екологічних загроз для природного біотичного різноманіття); вирішення деяких наявних проблем систематики за утилітарними потребами (зокрема, визначення переваг гібридів за продуктивними якостями). На цей час бракує доказів того, що генетичні рекомбінації та гетерозис гібридів підвищують їхній інвазійний потенціал, хоча випадкове виникнення нових гібридних домішок призводить до зростання генетичної різноманітності. Вочевидь, це набуває статусу загального явища, дотепер дещо проігнорованого. Вивчалися 6 видів роду *Juglans* (*Juglandaceae* DC. ex Perleb.): *J. ailantifolia* Carrière, *J. cinerea* L., *J. mandshurica* Maxim., *J. nigra* L., *J. regia* L. та *J. subcordiformis* Dode, сорт *J. regia* var. *maxima* DC. 'Dessert' та 4 імовірні гібридні форми (*J. subcordiformis* × *J. ailantifolia*, *J. nigra* × *J. mandshurica*; *J. cinerea* × *J. regia* and *J. regia* × *J. mandshurica*). Усі об'єкти були попередньо виокремлені за морфологічними ознаками.

Хроматографічним аналізом у метанольних екстрактах перидерми і кори однорічних пагонів видів і гібридів виявлено 30 фенольних компонентів. Найскладніші та мінливіші біохімічні профілі було встановлено в корі *J. subcordiformis* (до 20), *J. mandshurica* (18) та *J. cinerea* (16). Лише 11 фенольних речовин виділені у зимових пагонах *J. nigra*. Особини останнього виду характеризувалися відносно стабільними біохімічними профілями (Likhanov A. F. et al., 2018). Проміж виявлених флавоноїдів маркерних для *J. nigra*, *J. regia* та їх гібридів визначено 6 сполук.

За кількістю флавоноїдів досліджені види *Juglans* були розподілені на три групи: види з низьким, середнім і високим вмістом цих сполук. До першої групи віднесено види *J. subcordiformis* і *J. ailantifolia*, до другої – *J. cinerea* і *J. mandshurica*, до третьої – *J. regia* і *J. nigra* (табл. 1). Також враховували варіабельність показника вмісту флавоноїдів у перидермі і корі, що можуть вирізнятися навіть між особинами одного виду. Висока варіабельність виявлена в особин *J. regia*, *J. subcordiformis*, *J. ailantifolia*. Для двох останніх видів різниця вмісту флавоноїдів між рослинами становила 1,8–2,3 мг/г, натомість рослини *J. regia* мали досить суттєву різницю (6,4 мг/г). Навпаки, у рослин *J. nigra*,

які серед вивчених видів накопичують найбільшу кількість флавоноїдів, коефіцієнт варіації цього показника виявився відносно низьким. Як відомо, флавоноїди є високоактивними фенольними сполуками. Вони беруть участь у регуляції транспорту фітогормонів, зокрема ауксинів, вирізняються високим антиоксидантним потенціалом, для них притаманні бактерицидна, фунгіцидна, інсектицидна та противірусна активність. Звідси, під час проведення аналізу внутрішньовидового генетичного поліморфізму рослин *J. regia* доцільно враховувати ключові у синтезі флавоноїдів алелі ізоферментів халконсинтази.

Таблиця 1

**Вміст флавоноїдів у корі видів і гібридів *Juglans* ( $x \pm SE$ ,  $n=5$ )**

Об'єкт	Вміст флавоноїдів, мг/г сухої маси			CV, %
	мін.	макс.	$x \pm SE$	
Вид				
<i>J. subcordiformis</i> <sup>a</sup>	1,5	3,3	2,5 $\pm$ 0,35	31,0
<i>J. ailantifolia</i> <sup>b</sup>	2,1	4,4	3,3 $\pm$ 0,45	30,5
<i>J. mandshurica</i>	2,5	4,3	3,4 $\pm$ 0,37	24,8
<i>J. cinerea</i>	4,1	5,6	4,9 $\pm$ 0,26	11,7
<i>J. regia</i> <sup>b</sup>	3,9	10,3	7,1 $\pm$ 1,34	42,2
<i>J. nigra</i> <sup>r</sup>	12,0	12,7	12,4 $\pm$ 0,14	2,5
Гібрид				
<i>J. cinerea</i> $\times$ <i>J. regia</i> <sup>d</sup>	1,5	4,1	2,8 $\pm$ 0,53	42,7
<i>J. nigra</i> $\times$ <i>J. mandshurica</i>	2,2	2,5	2,4 $\pm$ 0,05	4,8
<i>J. regia</i> $\times$ <i>J. mandshurica</i> <sup>e</sup>	2,0	2,4	2,3 $\pm$ 0,08	7,5
<i>J. subcordiformis</i> $\times$ <i>J. ailantifolia</i>	3,3	3,4	3,4 $\pm$ 0,02	1,6

Примітка. Різниця між значеннями у колонках (а, б, в, г, д, е) достовірна ( $p < 0,05$ ) за результатами ANOVA (Т'юкі-тест)

Підтвердженням інформативності цієї ознаки слугує те, що у гібридів, однією з батьківських форм яких виступають високофлавоноїдні види (*J. regia* або *J. nigra*), загальний вміст флавоноїдів у корі та перидермі однорічних пагонів порівняно з цими видами знижується від 2,8 до 5,1 раза. Середній вміст флавоноїдів у гібридів коливається у межах від 2,3 до 3,4 мг/г. Високу варіабельність кількісних показників встановлено у гібрида *J. cinerea*  $\times$  *J. regia*. Натомість, стабільно низьким вміст флавоноїдів виявився у гібридів *J. regia*  $\times$  *J. mandshurica* та *J. nigra*  $\times$  *J. mandshurica*. Останній за літературними джерелами відзначається доволі різноманітним складом інших фенольних сполук із високою біологічною активністю.

Кластерний аналіз за якісним складом фенольних сполук у корі однорічних пагонів шести видів *Juglans* виявив їхню належність до чотирьох секцій: *Juglans*, *Cardiocaryon*, *Rhysocaryon* і *Trachycaryon* (рис. 1).

Досліджені гібриди, як правило, були ближчі до секцій, що представлені батьківською компонентою гібридної пари. Виключення становить гібрид *J. cinerea*  $\times$  *J. regia*. У кластері секції *Cardiocaryon* (III) система взаємозв'язків виявилася визначеною найменшою мірою. Це слугує свідченням близького і досить змішаного біохімічного складу кори та перидерми саме у видів та гібридів зазначеної секції.

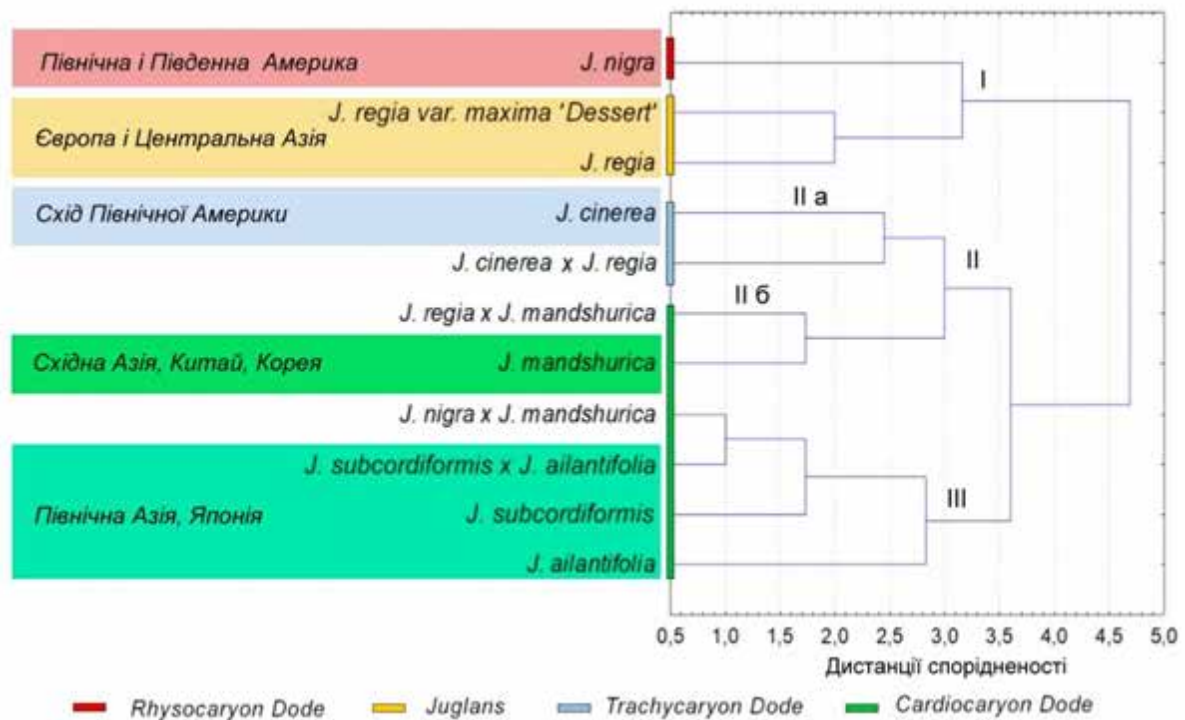


Рис. 1. Дендродіаграма спорідненості видів і гібридів роду *Juglans* за біохімічними профілями

Натомість, вид із північноамериканським ареалом секції *Rhysocaryon* (*J. nigra*) та вид з євразійським ареалом секції *Juglans* (*J. regia*) за наявності флавоноїдів у корі однорічних пагонів досить близькі (рис. 1, кластер I).

Аналіз головних компонент підтвердив високу інформативність отриманих біохімічних профілів та їх значимість при визначенні природи гібридних форм на ранніх стадіях онтогенезу включно. Останнє перспективне для виявлення гібридних форм серед самосіву видів *Juglans*, що натуралізуються, проте на стадії сіянців і малого підросту морфологічно майже не піддаються диференціації. Висока специфічність й інформативність якісного складу вторинних метаболітів перидерми та кори однорічних пагонів становить інтерес в аспекті визначення ролі окремих біохімічних компонентів та їхніх комплексів у реалізації адаптивних реакцій, стійкості до негативних чинників і формуванні екологічної валентності рослин роду *Juglans*. Зазначимо важливість цих ознак для прогнозування життєздатності та інвазійного потенціалу нових гібридних форм, що виникають спонтанно при натуралізації інтродукованих видів, зокрема родового комплексу *Juglans*.

Таким чином, біохімічне профілювання кори зимуючих пагонів виявилось надійним способом дослідження спонтанних популяцій видів роду *Juglans*. У біохімічних профілях видів і гібридів виявлено консервативні та варіативні компоненти. Північноамериканський і євразійський види секцій *Rhysocaryon* і *Juglans* подібні за наявними флавоноїдами. За вмістом флавоноїдів у корі однорічних пагонів виділяються види з високим їх вмістом (*J. nigra* і *J. regia*), середнім (*J. cinerea* і *J. mandshurica*) і низьким (*J. ailantifolia* і *J. subcordiformis*).

Для лісових екосистем надзвичайно важливі рослини роду *Betula* L. Їхня здатність до схрещування і спонтанної поліплоїдизації за доволі обмеженою кількістю видоспецифічних морфологічних ознак створює труднощі в ідентифікації видів і розроблення систематики роду. Для дослідження вторинних метаболітів із колекції Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка було відібрано 12 видів беріз із різними природними ареалами, що відносяться до двох секцій:

– секція *Costatae* (Regel) Koehne: *B. davurica* Pall.; *B. grossa* Siebold & Zuss; *B. ermanii* Cham.; *B. schmidtii* Regel; *B. costata* Trautv.; *B. raddeana* Trautv.;

– секція *Albae* (Regel): *B. pendula* Roth.; *B. platyphylla* Sukaczew; *B. pubescens* Ehrh.; *B. oycoviensis* Besser; *B. papyrifera* Marsh.; *B. szechuanica* (C. K. Schneid.) C.-A. Jansson.

Серед досліджених видів переважна більшість представлена інтродуцентами, які поширені на території Далекого Сходу, у Приморському краї, Центральної і Східної Європи, на Кавказі, тоді як береза паперова (*B. papyrifera*) – представник флори Північної Америки, і два найпоширеніших з аборигенних видів – береза повисла (*B. pendula*) і береза пухнаста (*B. pubescens*), найпоширеніші види роду *Betula*. Дослідження вторинних метаболітів у листках рослин *Betula* показало, що різниця між вмістом загальних фенольних сполук у листках беріз була достовірною, за виключенням видів *B. ermanii* і *B. grossa*, *B. dahurica* і *B. papyrifera*, *B. pendula* та видами *B. platyphylla* і *B. oycoviensis*, а також *B. raddeana* і *B. pubescens* (табл. 2).

Таблиця 2

**Вміст загальних фенолів, флавоноїдів (мг/г сирової маси)  
та їхнє співвідношення у листка рослин роду *Betula* ( $\bar{x} \pm SE$ , n=4)**

Вид	2n	Фенольні сполуки	Флавоноїди	Відношення кількості флавоноїдів до загальних фенолів
<i>Секція Albae</i>				
<i>B. pendula</i>	28	81,3±2,64	14,4±0,42	0,18 <sup>a</sup>
<i>B. platyphylla</i>	28	87,0±2,92	9,8±0,65	0,11 <sup>b</sup>
<i>B. oycoviensis</i>	28	78,2±1,64	9,6±0,39	0,12 <sup>b</sup>
<i>B. papyrifera</i>	56, 70, 112	117,1±1,73	5,8±0,46	0,05 <sup>b</sup>
<i>B. pubescens</i>	56	58,7±2,05*	6,4±0,36	0,11 <sup>b</sup>
<i>B. szechuanica</i>	28	85,8±2,61	14,1±1,12	0,16 <sup>a</sup>
<i>Секція Costatae</i>				
<i>B. ermanii</i>	56, 112	140,2±3,52	7,6±0,40	0,05 <sup>b</sup>
<i>B. schmidtii</i>	28,56	199,6±1,83*	19,6±1,06*	0,10 <sup>b</sup>
<i>B. costata</i>	56	257,5±5,09*	23,0±0,46*	0,09 <sup>b</sup>
<i>B. grossa</i>	84	139,9±3,76	3,6±0,36*	0,03 <sup>b</sup>
<i>B. dahurica</i>	56, 84, 112	119,3±2,77	4,8±0,44*	0,04 <sup>b</sup>
<i>B. raddeana</i>	84	62,6±1,69	3,8±0,53*	0,06 <sup>b</sup>

Примітка. Різниця достовірна при рівні значущості  $p < 0,05$  (Т'юки-тест з поправкою Бонфероні)

Як показали результати фітохімічного профілювання фенольних сполук, у листках досліджених видів беріз якісний склад флавоноїдів, кумаринів і кон'югатів оксикоричних кислот доволі специфічний, що дозволяє використовувати їх для ідентифікації видів та вивчення потенційної ролі окремих індивідуальних сполук (фенів) у процесах адаптації до умов місцезростання.

Цікавий зворотній зв'язок ( $r=-0,91$ ) виявився між співвідношенням кількості флавоноїдів у листках до загального пулу фенолів і плоїдністю рослин, яка визначена для відповідних видів (Pawlowska L., 1983; Keinanen M. et al., 1999). За хроматографічними профілями види секції *Albae* достатньо близькі (рис. 2). Наприклад, у шести видів цієї секції виділено три флавонолових глікозиди ( $R_f \sim 0,58; 0,63; 0,73$ ). Встановлено, що у листках видів із широким ареалом (*B. pendula* і *B. pubescens*) присутній флавонол із  $R_f \sim 0,63$ . Усього в листках рослин секції *Albae* виявлено 13 флавоноїдів, що підтверджується результатами інших дослідників (Keinanen M. et al., 1999). Якісний склад та співвідношення флавонолових глікозидів у рослин секції *Albae*, основними агліконами яких є кверцетин і кемпферол, характеризується високою подібністю.

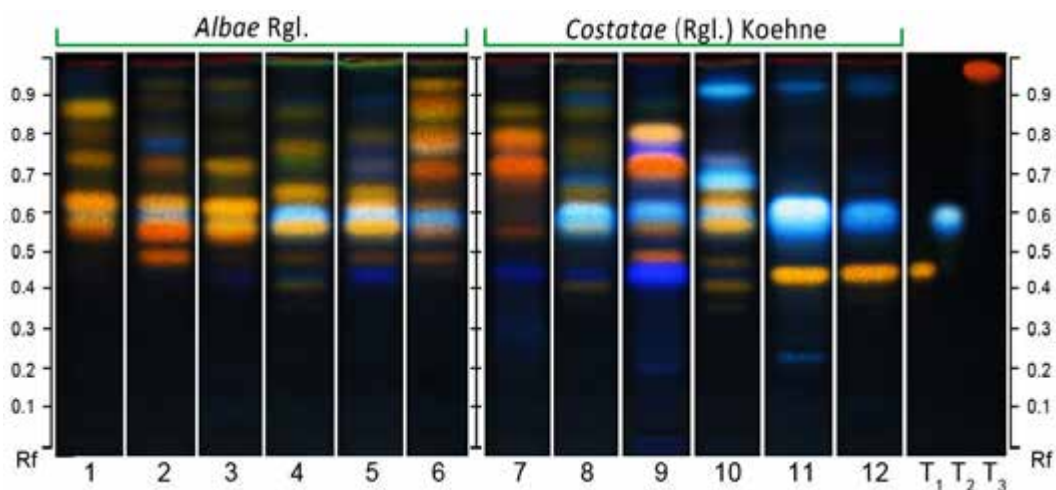


Рис. 2. Хроматографічні профілі екстрактів листків рослин роду *Betula*: 1 – *B. pendula*; 2 – *B. platyphylla*; 3 – *B. oycoviensis*; 4 – *B. papyrifera*; 5 – *B. pubescens*; 6 – *B. szechuanica*; 7 – *B. schmidtii*; 8 – *B. grossa*; 9 – *B. costata*; 10 – *B. ermani*; 11 – *B. dahurica*; 12 – *B. raddeana*; T<sub>1</sub> – рутин; T<sub>2</sub> – хлорогенова кислота; T<sub>3</sub> – кверцетин

За фітохімічними профілями у рослин *B. pendula* і *B. oycoviensis* визначено шість спільних фенів. Встановлена особливість пояснюється тим, що *B. oycoviensis* має гібридне походження від схрещування *B. pendula* і *Betula szaferi* Jent.-Szaf. ex Stasz. Вид поширений переважно у Південній Польщі та Північно-Східній Угорщині, проте його ареал поступово зменшується. Схожі профілі спостерігаються у рослин *B. platyphylla* та *B. szechuanica*. Ця спорідненість також має пояснення, оскільки за сучасною класифікацією останній розглядається як *B. platyphylla* з синонімічною назвою *Betula platyphylla*

var. *szechuanica* (Miq.) H. Nara. За комплексом фенольних сполук (9 флавоноїдів і хлорогенова кислота) ці види найближчі серед усіх досліджених.

За результатами аналізу головних компонент з'ясовано, що індивідуальні сполуки флавоноїдного комплексу є високоінформативними показниками варіабельності досліджених представників роду *Betula*, що визначають їх біохімічну гетерогенність. Оскільки внесок окремих фенольних сполук у загальну дисперсію ознак різний, то найінформативніші серед них видоспецифічні сполуки. Варто також зауважити, що види підроду *Betula* і *Betulaster* (за de Jong P. C., 1993) монофілетичні. За головними компонентами вони виокремлюються групою за виключенням *B. papyrifera*, яка за біохімічним профілем близька до *B. grossa* (рис. 3). На рисунку досліджені види розташовані парами: *B. schmidtii* і *B. costata* найближчі до підроду *Betula*; найвіддаленіша пара: *B. dahurica* і *B. raddeana*.

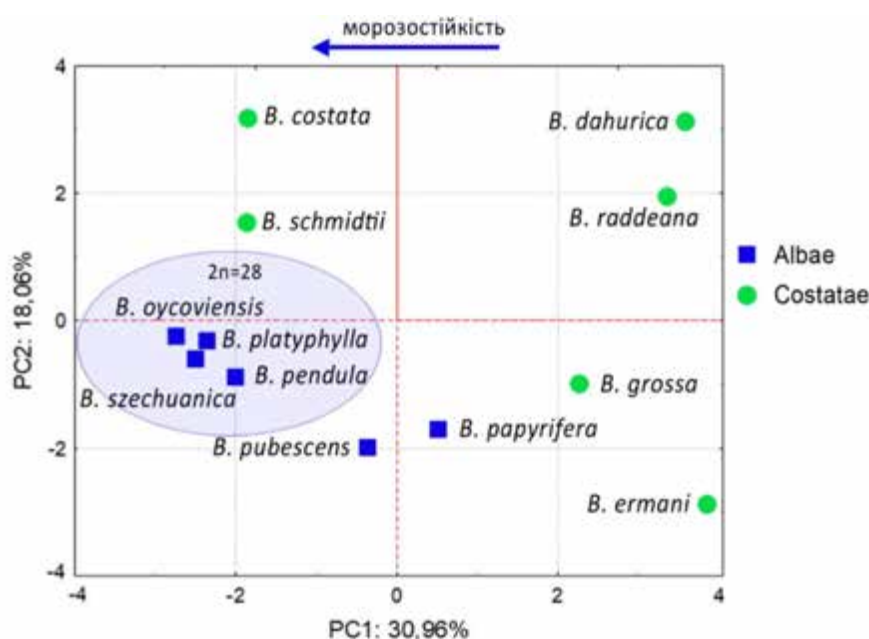


Рис. 3. Результати аналізу фітохімічного складу вторинних метаболітів листків *Betula* методом головних компонент

Отже, досліджені види згруповані за рівнем плоїдності, стійкістю до низьких температур і вибагливістю до світла. За одержаними результатами якісний склад фенолів виявив певні взаємозв'язки між наявністю окремих метаболітів і плоїдністю рослин, які пов'язані з їхньою фізіологічною стійкістю. До того ж кластера включено *B. pendula*, що також поширена на територіях Хабаровського і Приморського краю, Північно-Східного Китаю і Кореї, та *B. ermani* і *B. schmidtii*, що є представниками флори Приморського краю, Північно-Східного Китаю, Кореї. Остання трапляється у листяних лісах на гірських схилах Японії. Більшість із цих видів переважно ростуть на добре дренованих ґрунтах, у помірно холодному вологому кліматі.

У цілому дослідження показали, що фітохімічні профілі фенольних комплексів слугують додатковим інструментом ідентифікації рослин на рівні родини, підроду, роду. Інваріантні компоненти фенольних комплексів

інтродуцентів за умов, достатніх для оптимального росту рослин дозволяють розрізняти їх на рівні секції включно.

Доволі інформативними були також профілі фенольних сполук у рослин роду *Acer* L. У листках 13 видів *Acer* виявлено 19 індивідуальних сполук, що за коефіцієнтами рухомості й специфіки автофлуоресценції в ультрафіолеті ( $\lambda=365$  нм) відносяться до класу фенолкарбонових кислот, їхніх кон'югатів та кумаринів. Найбільша кількість фенолів (11 сполук) встановлена для *Acer ukurunduense* Trautv. & C. A. Mey. Цей вид відноситься до секції *Microcarpa* і характеризується високою морозостійкістю, тіньовитривалістю, невибагливістю до ґрунтів. У *Acer tataricum* L. – також марозо- і посухостійкого, проте у напівтінно-витривалого виду секції *Trilobata* у листках визначено 8 сполук. Водночас по 6 індивідуальних сполук виявлено у листках *Acer platanoides* L. і *Acer laetum* C. A. Mey. секції *Platanoidea*.

Серед фенолкарбонових кислот у листках 9 видів *Acer* наявна кавова кислота. Водночас її кон'югат – хлорогенова кислота виділено з листків лише 6 видів. Значна кількість хлорогенової кислоти міститься в листках *Acer saccharum* Marshal. Для цього виду характерна висока концентрація флавонолів із  $R_f \sim 0,48$  і  $R_f \sim 0,53$ . Ці флавоноли наявні також у *Acer heldreichii* Orph. та *Acer mandshuricum* Maxim. Загалом, за результатами фотоденситометричного аналізу за наявністю і кількістю хлорогенової кислоти з досліджених 13 видів рослин виділено чотири групи (рис. 4). За отриманими біохімічними профілями досліджених рослин *Acer* визначена спорідненість видів, яка в основному збігається із сучасним поділом роду на секції. Варто зазначити, що рослинам із найвищим умістом хлорогенової кислоти (*Acer negundo* L., *Acer pseudosieboldianum* (Рах)Ком., *Acer pseudoplatanus* L.) притаманний високий адаптивний потенціал. Рослини *Acer laetum* (II група) і *Acer monspessulanum* L. (I група) недостатньо стійкі до низьких температур та іноді підмерзають в умовах м. Києва.

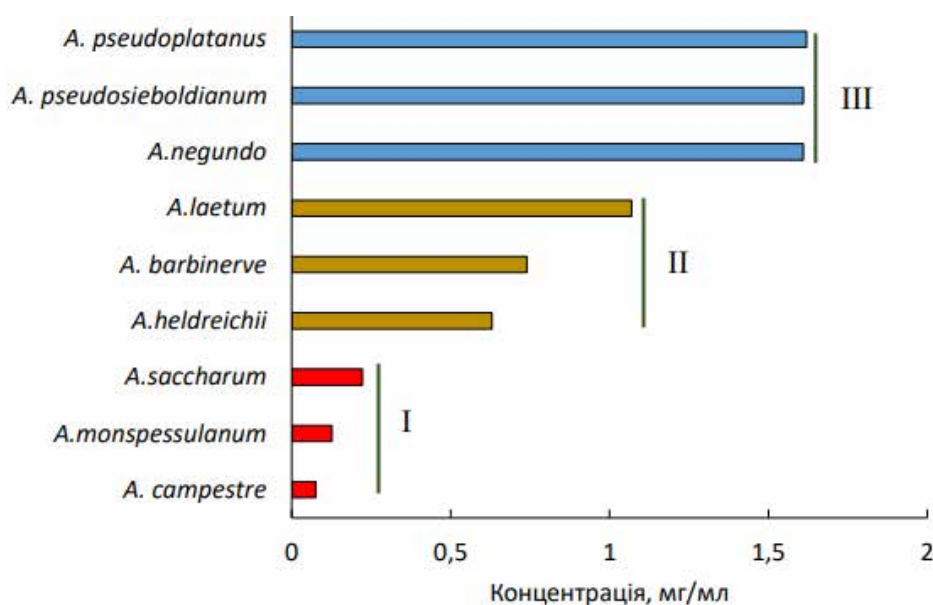


Рис. 4. Групи рослин роду *Acer* за вмістом хлорогенової кислоти у листках

До I групи також увійшли рослини з повільним ростом (*Acer campestre* L., *Acer saccharum*), що може свідчити про важливу роль хлорогенової кислоти в процесах росту і лігніфікації тканин, яка пов'язана зі стійкістю рослин до несприятливих погодних умов.

У листках рослин роду *Acer* було також встановлено 16 флавоноїдів. Серед видів із широким спектром сполук цього класу виділяються *Acer heldreichii* (представник Балканської флори), *Acer monspessulanum* (природний ареал – Середземномор'я), *Acer mandshuricum*. Рутин містять 11 видів із 13 досліджених. Значна кількість рутину виявлена у листках *Acer saccharum*, *Acer heldreichii* і *Acer mandshuricum* (рис. 5). Цей флавонол достатньо поширений серед вищих рослин, проте у листках *Acer campestre* і *Acer laetum* він був відсутнім або містився в мінорних кількостях. У профілі *Acer ukurunduense* наявний флавоноїд із  $R_f \sim 0,38$ , який також спостерігали у листках *Acer campestre*, *Acer pseudoplatanus* та *Acer saccharum*.

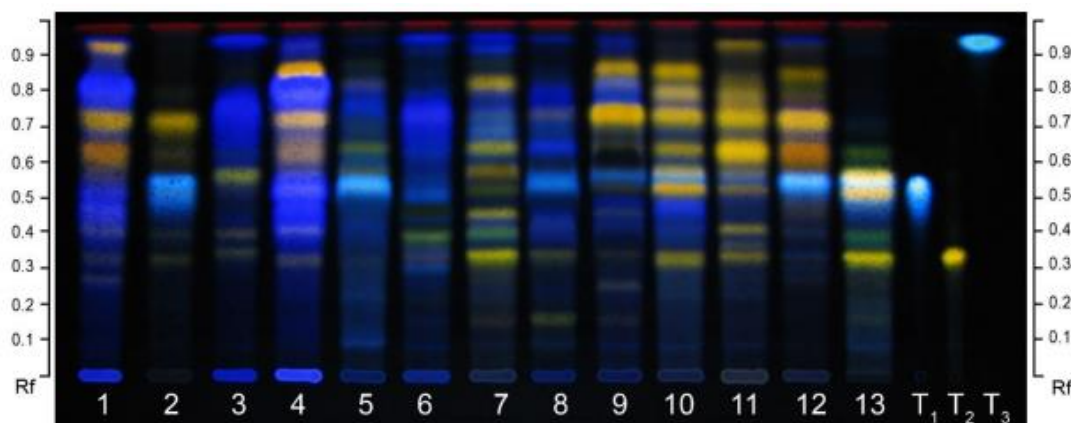


Рис. 5. Хроматограма кумаринів, фенолкарбонових кислот і флавоноїдів у листках рослин роду *Acer*: 1 – *Acer tataricum*; 2 – *Acer pseudoplatanus*; 3 – *Acer campestre*; 4 – *Acer platanoides*; 5 – *Acer pseudosieboldianum*; 6 – *Acer ukurunduense*; 7 – *Acer mandshuricum*; 8 – *Acer barbinerve*; 9 – *Acer negundo*; 10 – *Acer heldreichii*; 11 – *Acer monspessulanum*; 12 – *Acer laetum*; 13 – *Acer saccharum*; T1 – хлорогенова кислота; T2 – рутин; T3 – кавава кислота; обробка хроматограми 0,5 % NP реагентом і 1 % ПЕГ 400 із наступним нагріванням (5 хв за температури 105 °C)

Варто зауважити, що в цій групі видів *Acer ukurunduense*, *Acer campestre* і *Acer saccharum* вирізняються виключно високою тіньовитривалістю. Останній поступається в цьому лише перед *Fagus sylvatica* L.

В аспекті просторового розподілу фенольних сполук показано, що у досліджених деревних рослин катехіновий профіль має виражений градієнтний характер розподілу за висотою крони. Водночас, концентрація флавоноїдів у тканинах листків розподілена відносно рівномірно. Отже, звідси, синтез останніх меншою мірою залежний від змін умов середовища, як-то освітленість і вологість.

Флавоноїди пов'язані з внутрішньоклітинними і тканинними процесами, функціонуванням транспортних білків. Вони також впливають на стан

клітинних мембран через здатність інтегруватися в фосфоліпідні шари, що змінює їхню проникність для іонів. Оскільки флавоноїди підтримують баланс клітинної системи, а у разі її пошкодження залучаються до репарації клітин, логічно, що флавоноїдний профіль листків досить стабільний. Проте в аспекті адаптації рослин до лабільних чинників середовища ця група речовин може виявитися менш чутливою.

З огляду на поліфункціональність флавоноїдів і різноманітність функцій, які вони виконують у рослинному організмі, для багатьох видів їх можна розглядати як фактор стабільності на клітинному, тканинному і організменному рівнях. Водночас, катехіни, а також гідролізовані й конденсовані таніни, значною мірою є захисними фенолами, які завдяки вираженим антиоксидантним властивостям і здатністю поглинати ультрафіолетові промені забезпечують стабільність фотосистем в умовах інтенсивної інсоляції. Це пояснює підвищений пул цього класу речовин у верхніх частинах крони. Виходячи з того, що кожна нова біохімічна сполука є продуктом послідовних метаболічних ланцюгів, можна припустити, що з точки зору еволюції рослин до молодших у секціях відносяться види, для яких характерний широкий спектр флавоноїдних сполук та їхніх кон'югатів. На це вказує доволі різноманітний склад флавоноїдів еволюційно молодшої секції *Albae* роду *Betula*, також видів секції *Juglans* і *Rhysocaryon* роду *Juglans* із порівняно широкими спектрами флавоноїдів у пагонах і листках.

Таким чином, тенденція до збільшення частки флавоноїдів у тканинах еволюційно молодших видів деревних рослин може свідчити про тенденцію до посилення ролі внутрішньоклітинного гомеостазу через ускладнення системи регуляції клітинного метаболізму і збільшення різноманітності молекулярних комбінацій, які забезпечують стабільність внутрішніх процесів незалежно від умов зовнішнього середовища.

**Розділ 4 «Регуляторні функції фенолкарбонових кислот у процесі культивування рослин в умовах *in vitro*».** З'ясовано, що оксикоричні й оксибензойні кислоти у концентрації 1 мМ/л активно впливають на фенілпропаноїдний синтез рослин *in vitro* та виконують функції неспецифічних регуляторів росту. Варто зазначити, що чутливість різних видів рослин до оксибензойних і оксикоричних кислот відрізняється. Серед рослин-регенерантів виділялися рослини з ознаками пригніченого росту і з ростовими показниками, які в 1,3–1,5 раза перевищували контрольні рослини.

Фізіологічна активність оксибензойних і оксикоричних кислот залежить від кількості та положення замісників. Електронодонорні замісники першого роду (метильні і гідроксигрупи) посилюють калюсогенез у рослин *in vitro*. Ферулова та сирінгова кислоти, до складу яких входять відповідно одна і дві метоксигрупи, стимулюють синтез фенольних сполук, а збільшення кількості гідроксигруп у структурі ароматичного кільця (галола кислота), навпаки, уповільнюють фенольний синтез, що особливо актуально для культури *in vitro*. Галола кислота у складі ЖС МС викликала пробудження сплячих бруньок і стимулювала ріст пагонів *Salix alba* L. у культурі *in vitro* (рис. 6). У концентрації 1 мМ/л сприяла розвитку і росту бічних коренів.

Галова кислота сприяла зниженню ефекту апікального домінування, що пов'язано з вертикальним градієнтом концентрації ауксинів. Формування бічних коренів і бічних пагонів слугує підтвердженням суттєвих змін у транспорті та розподілі фітогормону в тканинах (рис. 6, б – показано стрілками), водночас різні ростові показники свідчать про індивідуальну чутливість рослин до негормональних стимулів, які можуть бути цікавими в аспекті виявлення особливо чутливих генотипів. Подібні процеси спостерігалися під час культивування *in vitro* різних сортів *Corylus avellana* L. (рис. 6, в, г). Галова кислота стимулювала пробудження бічних бруньок, а також ріст пагонів рослин-регенерантів на початкових стадіях культивування.

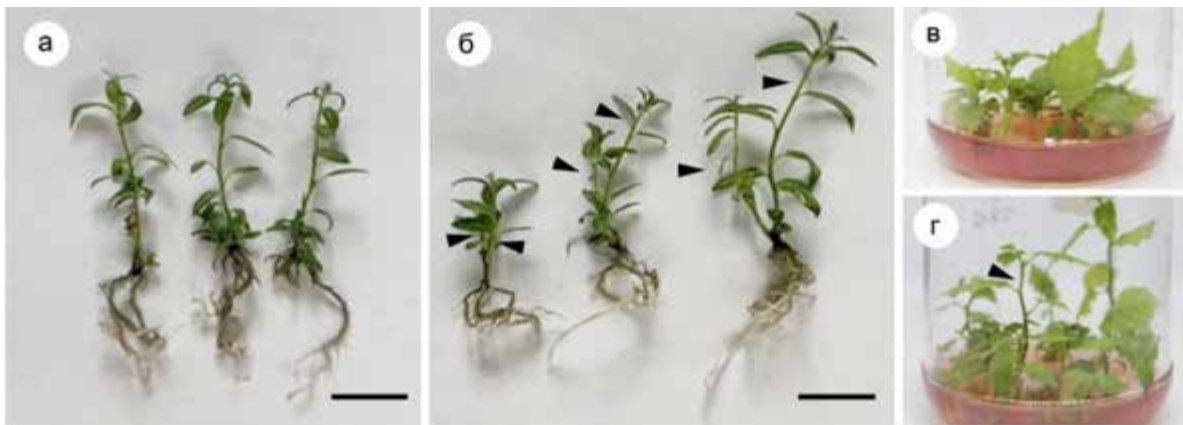


Рис. 6. Рослини-регенеранти *Salix alba* (а, б) і *Corylus avellana* (в, г) *in vitro*: а, в – контроль; б, г – галуження пагонів на живильному середовищі, модифікованому галовою кислотою (1 мМ/л); лінійка – 10 мм

Доведено, що у листках *Vitis vinifera* L. ферулова кислота стимулює синтез стильбеноїдів, які виконують функції фітоалексинів і захищають рослинний організм проти фітопатогенів.

Експериментально встановлено, що за умов ферментативного гідролізу клітинних стінок листків відбувається вивільнення ферулової кислоти і запускаються процеси, які призводять до підвищення в рослинних тканинах концентрації резвератролу та інших стильбеноїдів.

**Розділ 5 «Спеціалізовані клітини, просторова організація і поліфункціональність секреторних систем рослин».** Одним із важливих функціонально активних елементів тканин і органів рослин визнано секреторні системи, для яких характерна просторова неоднорідність розподілу вторинних метаболітів. Під час детального вивчення гістохімічної й анатомічної будови листків рослин *Aesculus hippocastanum* L., які найбільше уражувалися каштановою мінуючою міллю, акцентували увагу на формуванні специфічних клітин, які у подібних дослідженнях вже описувалися як олійні клітини. Їхня форма і склад суттєво відрізняються від інших клітин мезофілу. Просторово ці клітини розташовані групами і знаходяться на межі стовпчастої і губчастої паренхіми, ближче до нижнього епідермісу (рис. 7).

Спеціалізовані клітини виявили інтенсивну автофлуоресценцію в блакитному (420–470 нм), дещо меншу в зеленому (505–555 нм) і жовто-

зеленому (546–575 нм) спектрах, що вказує на їхній неоднорідний склад, наявність, крім олій, фенольних сполук, а також білків і вільних амінокислот.

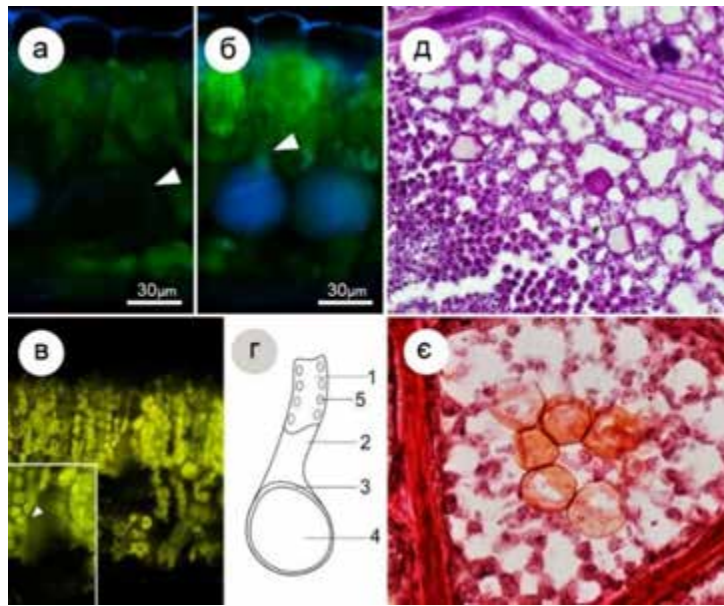


Рис. 7. Локалізація і будова секреторних клітин у листках *Aesculus hippocastanum*: незавантажена (а) і завантажена (б) секреторна клітина в мезофілі листка; в – автофлуоресценція пластид і внутрішньої клітинної стінки, яка розділяє паренхімну клітину на асиміляційну частину і порожнину, що завантажується секретом; г – схематичне зображення секреторної клітини: 1 – асиміляційна зона; 2 – транзитрна зона; 3 – клітинна стінка порожнини; 4 – секреторна порожнина; 5 – пластида, групи секреторних клітин у зоні губчастої паренхіми (д – PAS реакція на полісахариди, є – оксифільні сполуки, фарбування сафраніном)

У дослідженнях показано, що секреторні клітини у листках *Aesculus hippocastanum* виконують функцію резервуарів, де синтезуються і тимчасово накопичуються активні сполуки, які не пов'язані з механізмами стійкості рослини проти *Cameraria ohridella*. У цілому будова і функції внутрішніх секреторних систем листків і стебел синхронізовані з пластичним обміном рослинного організму, тоді як їхні функції залишаються недостатньо вивченими. Втім у просторовому розподілі вторинних метаболітів саме секреторні клітини і тканини відіграють ключову роль.

Для дослідження функцій внутрішніх секреторних систем як моделі використовували рослини з виткими (*Humulus lupulus* L.) і сланкими (*Lysimachia nummularia* L.) стеблами. На їх прикладі з'ясували, що секреторні клітини й канали вегетативних і генеративних органів активно накопичують вторинні метаболіти із регуляторною та антимікробною активностями, які стабілізовані полісахаридами (пектинами та геміцеллюлозами).

Визначено, що секреторні канали стебел *Humulus lupulus* і *Lysimachia nummularia* формуються на ранніх стадіях онтогенезу та пов'язані з просторовою орієнтацією метамерів через регуляцію процесів видовження і скручування стебел.

Розділ 6 «Просторова ярусна мінливість нагромадження фенольних сполук у листках деревних видів рослин». Дослідження якісних і кількісних показників вторинного метаболізму підтвердили наявність у більшості деревних рослин консервативних і варіативних складових з ознаками видоспецифічності. Однак, на рівні родини, роду і навіть виду часто наявне переважання метаболітів певного класу або групи. У межах одного рослинного організму різниця якісного і кількісного біохімічного складу, зазвичай, має функціональне значення і пов'язана з тканинспецифічністю органів, або з певними умовами, що викликають у рослин відповідні фізіологічні реакції.

Вертикальна фітохімічна варіабельність деревних рослин розкриває їхню екологічну пластичність, яка в цілому реалізується в межах ареалу. Так, оптимізація світлового режиму листків у деревних рослин першого (1,5–2,5 м) і другого ярусів (2,5–3,5 м), окрім листової мозаїки, забезпечується складним комплексом фотосинтетичних і допоміжних пігментів, завдяки яким світлова енергія трансформується і переноситься на фотосистеми. Особливо це характерно для світлолюбних рослин. Із попередньо розглянутих – це переважна більшість видів *Betula*, деякі види родів *Acer*, *Aesculus* та *Juglans*.

Загальний стан рослинного організму характеризують кількісне і якісне співвідношення різних класів фенольних сполук у тканинах листків, які виступають динамічними показниками екологічно зумовленої спрямованості вторинного метаболізму. У рослин *Betula pendula* просторовий розподіл флавоноїдів у листках має обернену залежність, яка описується лінійною функцією. Різниця між максимальною і мінімальною кількістю становить до 25 % (табл. 3). Концентрація катехінів, навпаки, прямо залежала від висоти ярусу крони. На верхівці крони цей показник досягав 45,6 мг/г сирої маси, тоді як у нижній частині крони був майже удвічі меншим.

Виявлено обернений зв'язок між висотою ярусу крони і відношенням вмісту в листках флавоноїдів до катехінів, що вказує на перевагу у вторинному метаболізмі синтезу катехінів, які залежать від висоти положення метамерів у кроні. Катехіни (флаван-3-оли) відносяться до класу поліфенольних сполук, із надзвичайно високою антиоксидантною активністю і в метаболічних ланцюгах певною мірою виступають конкурентами за попередники з іншими класами фенолів. Підвищення кількості одного класу речовин за умов стабільного синтезу спільного субстрату для відповідних ферментних систем неодмінно викликати уповільнення утворення інших сполук.

Фенольні речовини активно поглинають ультрафіолетове світло, нейтралізують надмірне утворення вільних радикалів, полімеризуються за участю ферментів. Дефіцит вологи компенсується зменшенням розмірів клітин і формуванням товстіших шарів кутикули, міцних клітинних стінок, форма і розміри яких також залежать від швидкості включення фенолів, зокрема оксикоричних кислот у клітинні структури. За суттєвої різниці у вертикальному розподілі основних класів фенольних сполук у межах крони у разі їхньої безпосередньої участі у системі захисту рослин проти каштанової мінуючої молі повинна спостерігатися відповідна ярусна залежність ступеня пошкодження листків. Втім у реальних умовах цього не відбувається щонайменше з чітким

градієнтом. Дійсно, на початку вегетації рослин *Aesculus hippocastanum* у фазі активного льоту метеликів каштанового мінера ознаки ураження листків спочатку виникають у нижній і середній частинах крони, проте поступово однаково уражується вся крона.

Таблиця 3

**Ярусність розподілення вмісту і співвідношення вторинних метаболітів у листках деяких видів рослин ( $\bar{x} \pm SE$ , n=5)**

Вид	Висота, м	Феноли, мг·г <sup>-1</sup>	Флавоноїди, мг·г <sup>-1</sup>	Катехіни, мг·г <sup>-1</sup>
<i>Betula pendula</i>	1,5	60,9±1,83	6,4±0,13	20,1±0,60
	2,5	58,1±2,33	6,1±0,18	20,9±0,63
	3,5	62,2±2,49	5,6±0,17	32,7±0,98
	4,5	72,5±2,90	5,4±0,16	33,6±1,01
	5,5	74,0±2,22	4,8±0,14	45,6±1,83
Коефіцієнт кореляції, r	–	0,89±0,04*	-0,92±0,03	0,96±0,01*
<i>Acer platanoides</i>	1,5	83,2±4,16	3,3±0,10	19,6±0,39
	2,5	95,2±2,86	3,7±0,08	28,0±0,84
	3,5	112,5±4,50	4,2±0,13	45,3±1,81
	4,5	129,2±5,17	5,8±0,18	33,7±1,12
	5,5	128,7±4,40	4,4±0,13	65,8±2,63
Коефіцієнт кореляції, r	–	0,97±0,01	0,71±0,18	0,87±0,06
<i>Aesculus hippocastanum</i>	3,0	73,4±2,92	1,6±0,06	27,2±1,14
	4,0	87,4±3,53	1,8±0,07	30,8±1,23
	5,0	94,6±3,94	1,9±0,08	35,8±1,45
	6,0	99,9±3,34	1,7±0,06	41,5±1,72
	7,0	160,5±6,42	1,8±0,07	65,8±2,66
	8,0	158,0±6,61	2,1±0,08	74,5±2,93
	9,0	198,2±7,85	2,2±0,09	95,5±3,81
Коефіцієнт кореляції, r	–	0,95±0,01*	0,83±0,02	0,96±0,01*

Примітка. Коефіцієнт достовірний ( $p < 0,05$ )

Це свідчить, що фенольні сполуки здатні частково гальмувати трофічну активність гусениць мінера, але тільки за наявності значних поживних ресурсів. До того ж встановлено, що від *Cameraria ohridella* найбільшої шкоди зазнавали саме ті рослини, в яких порівняно з іншими у листках знаходилася найбільша кількість загальних фенолів.

Відповідно, це ще раз підтверджує припущення, що травній системі гусениць *Cameraria ohridella* притаманна здатність знешкоджувати токсичні фенольні сполуки, зокрема проантоціанидини, антифедантні властивості яких загальновідомі через їхню здатність зв'язуватися з білками. Проте, як виключення серед міських насаджень виявлено нетипові випадки ярусної стійкості дерев *Aesculus hippocastanum*, що не пов'язані з градієнтним розподілом фенолів у листках. Листки нижніх ярусів (1,5 м) цих дерев у значних обсягах пошкоджувалися гусеницями. На завершальних стадіях вегетації

загальна площа ураження листків досягала 70–80 %. Водночас, на рівні верхніх ярусів (3,5 м і вище) листки не уражувалися міллю зовсім. На поверхні листкових пластинок спостерігали ознаки інвазійного пошкодження. За їхнім розміром (0,7–1,2 мм) загибель гусениці після відродження відбувалася протягом кількох днів (рис. 8).

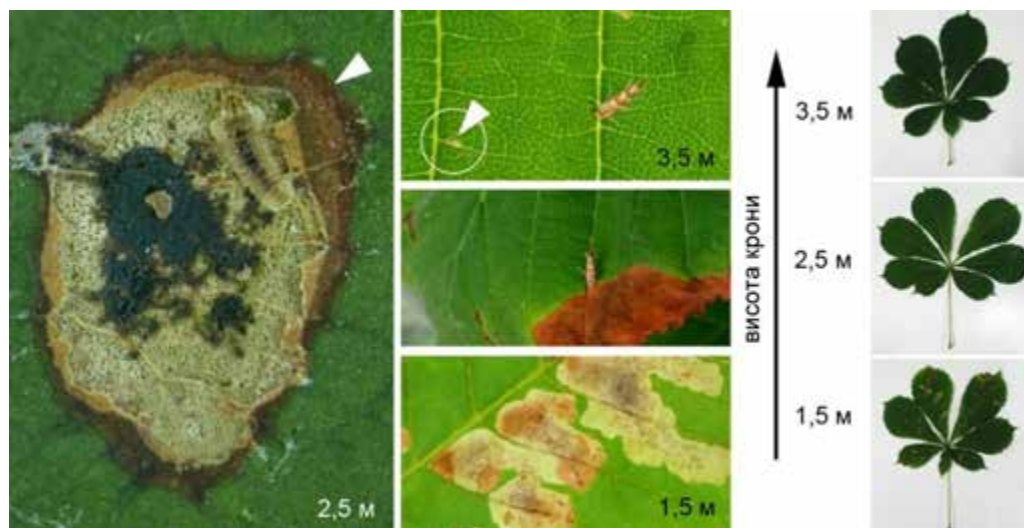


Рис. 8. Специфіка утворення мін *Cameraria ohridella* залежно від висоти крони *Aesculus hippocastanum*

Варто зауважити, що листки середнього ярусу також пошкоджувалися мінером. Однак, розмір і форма мін свідчили, що гусениці гинули досить швидко, не пройшовши повного циклу розвитку. При видаленні шару епідермісу над міною, зазвичай, знаходили загиблих гусениць розміром до 2,0–2,5 мм. У кишківнику деяких з них виявляли густу субстанцію бурштинового кольору. Очевидно, що вона була рослинного походження. Камідеподібна речовина з досить густою консистенцією повністю заповнювала кишківник, блокувала проходження рослинної біомаси й припиняла важливі життєві функції. При цьому мезофіл у зоні мін також перетворювався на камідеподібну субстанцію бурштинового кольору. Утворення каміди, як захисної реакції у пошкоджених тканинах, добре відоме для багатьох видів рослин. Вони ізолюють пошкоджені тканини і знижують ризики занесення та поширення інфекцій. Крім того, камеді здатні стримувати фітофагів. Утім для рослин *Aesculus* це явище маловивчене.

На листках середнього ярусу крони, навколо мін, чітко виділяється зона із темним забарвленням, що вказує на активну протидію рослини *Aesculus hippocastanum* фітофагу, яка супроводжується процесами окиснення за участю фенольних сполук і полісахаридів. Полімеризація полісахаридів (пектинів) і поліфенолів (оксикоричних спиртів) за участю оксидаз є одним зі способів формування гістохімічних бар'єрів, що виступає важливою складовою системи індукованого неспецифічного імунітету. Утім, утворення гістохімічних бар'єрів не єдиний механізм стійкості деревних рослин.

Враховуючи важливу роль вторинних метаболітів у регуляції метаболізму рослинного організму було проведено аналіз якісного і кількісного складу фенольних сполук у листках рослин – потенціальних фітоіндикаторів лісових

фітоценозів на прикладі Національного природного парку «Голосіївський». Для аналізу обрали типові види *Acer platanoides* L., *Carpinus betulus* L., *Sambucus nigra* L. Визначення пулу фенольних сполук у листках показало, що синтез такого класу метаболітів залежить від умов місцезростання рослин. Загальна концентрація фенолів, а також вміст окремих компонентів слугує достатньо інформативним маркером впливу на рослини негативних чинників (табл. 4).

Таблиця 4

**Вміст фенольних сполук і антиоксидантної активності речовин у листках рослин залежно від умов місцезростання ( $x \pm SE$ ,  $n=5$ )**

Індикатор	Компоненти	Дослідні ділянки			
		S <sub>1</sub> *	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>
<i>Acer platanoides</i>	Ф	45,3±4,6	23,1±1,8	31,8±3,2	29,5±3,0
	Фл	4,3±0,1	2,2±0,0	3,0±0,1	3,4±0,1
	Кт	15,4±3,2	4,9±1,0	10,8±2,2	9,2±1,9
	АОА	31,7±1,6	20,4±0,8	28,6±1,4	26,5±1,3
<i>Carpinus betulus</i>	Ф	56,6±2,6	46,2±3,5	64,0±2,9	49,2±2,5
	Фл	2,9±0,2	2,4±0,2	3,3±0,1	3,4±0,2
	Кт	19,3±1,0	19,6±1,0	21,6±1,1	20,4±1,0
	АОА	49,6±2,0	41,6±3,1	57,2±2,9	48,9±2,9
<i>Sambucus nigra</i>	Ф	37,8±1,9	30,2±1,8	39,8±2,1	32,8±1,4
	Фл	6,1±0,5	4,4±0,3	6,7±0,5	5,7±0,3
	Кт	5,1±0,3	4,9±0,4	5,4±0,3	4,6±0,2
	АОА	25,6±0,6	21,4±0,8	24,3±0,7	23,1±0,7

Примітка. S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub> – дослідні ділянки; Ф – феноли, мг/г; Фл – флавоноїди, мг/г; Кт – катехіни, мг/г; АОА – антиоксидантна активність, мМ·екв.

Порівняно високий пул фенольних сполук і фенольних антиоксидантів характерний для рослин *Carpinus betulus*. Серед досліджених дерев найбільший вміст фенолів визначено у листках рослин, що зростають на невеликих підвищеннях і схилах (ділянка S<sub>1</sub>). В умовах із відносно високим рівнем рекреаційного навантаження (ділянка S<sub>2</sub>) вміст фенолів, зокрема флавоноїдів і катехінів, дещо знижувався.

Достатньо чутливим у цьому аспекті виявився *Acer platanoides*. У його листках концентрація фенольних сполук, зокрема флавоноїдів, знижувалася майже вдвічі. Навпаки, у листках *Sambucus nigra* варіабельним виявився лише якісний і кількісний склад флавоноїдів. Різні групи фенольних сполук виконують неспецифічні та специфічні адаптивні функції. Для визначення індивідуальної адаптивної стратегії окремих рослин, підвиду або виду варто використовувати динаміку змін індексів співвідношення кількості певних класів вторинних метаболітів, синтез яких пов'язаний з різними ферментними системами. Так, методом хроматографічного профілювання показано, що найбільша кількість фенольних компонентів міститься в листках рослин на ділянках S<sub>3</sub> (зелена зона обмеженого користування) і S<sub>4</sub> (лісовий фітоценоз), що зазнають найменшого техногенного і рекреаційного впливу.

Закономірності просторового розподілу фенольних сполук визначаються реалізацією норми реакції рослин уздовж градієнта екологічного чинника. Широка амплітуда метаболічного відгуку на незначну різницю у параметрах середовища може свідчити про високу чутливість до нього рослинного організму. Навпаки – низька чутливість рослини за умов стабільності інших метаболічних ланок передбачає наявність ефективних компенсаторних реакцій, які забезпечують організму функціональну стабільність. Ця властивість може свідчити про високий інтродукційний потенціал рослини або здатність певного генотипу до поширення уздовж географічного градієнта лімітучого екологічного чинника.

Розділ 7 «Роль фенолів, полісахаридів та їх комплексів у стійкості рослин *Aesculus* проти *Cameraria ohridella*». Сучасні погляди на стійкість рослин пов'язані з особливостями їхньої метаболоміки. Переглядається положення щодо ролі фенольних сполук у системі захисту *Aesculus hippocastanum* проти каштанового мінера. Наприклад, для потовщення й зміцнення вторинних клітинних стінок потрібні фенольні сполуки, активний синтез яких відбувається у мезофілі. Очевидно, що епідермальні клітини над мезофілом міцніші за епідерміс, який сформований над жилками або у безпосередній близькості до них. Саме тут самки *Cameraria ohridella* відкладають яйця. Після відродження, процесу проникнення гусениці у середину клітини епідермісу сприяє будова її голови, яка має форму клина. Під час введення голови всередину епідермісу гусениця розпирає клітину та просувається глибше (рис. 9, а, б).

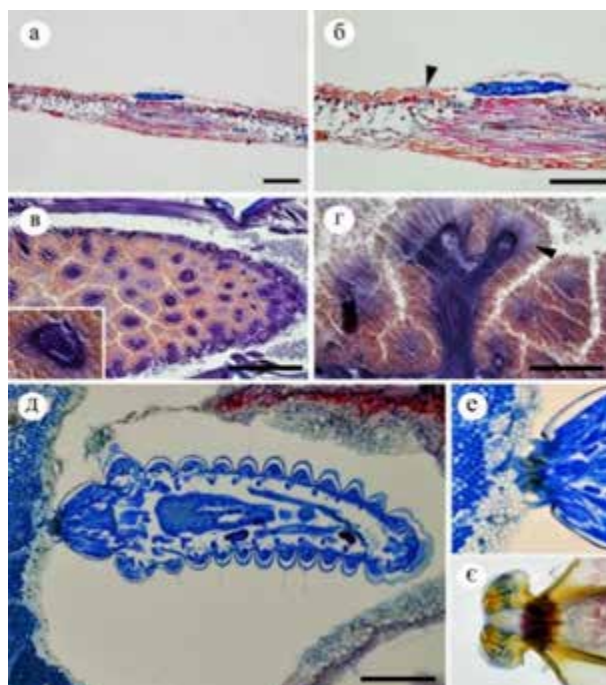


Рис. 9. Гусениця *Cameraria ohridella* в епідермісі стійкої форми *Aesculus hippocastanum*: а, б – гусениця першої стадії розвитку у мікротіах стійкої форми гіркокаштана звичайного в оточенні клітин, що заповнені густою нерозчинною субстанцією; в, г – внутрішня будова кишківника гусениці; гусениця (д) і ротовий апарат сисного (е) і гризучого (е) типів

Через механічне навантаження тонкі антиклінальні стінки верхнього епідермісу розриваються і гусениця просувається далі. Оскільки клітини розриваються по відносно тонких стінках, вакуолі можуть залишатися не пошкодженими. Гусениця висмоктує клітинний сік, майже уникаючи його окислення й ферментації, яка, зазвичай, відбувається внаслідок травматичних пошкоджень листків.

Високий вміст пектинових речовин, виявлений у клітинних стінках епідермісу нестійкої проти каштанової мінуючої молі форми *Aesculus hippocastanum*, забезпечує достатньо міцний зв'язок між клітинами. Внутрішня порожнина, що утворюється між залишками клітин покривної тканини, містить поживні речовини і захищає гусеницю від зовнішніх негативних чинників. У стійких форм гіркокаштана антиклінальні стінки верхнього і нижнього епідермісу значно товстіші. Інтенсивність автофлуоресценції клітинних стінок дозволила порівняти морфометричні показники клітин і рівень накопичення целюлози у клітинних стінках (рис. 10).

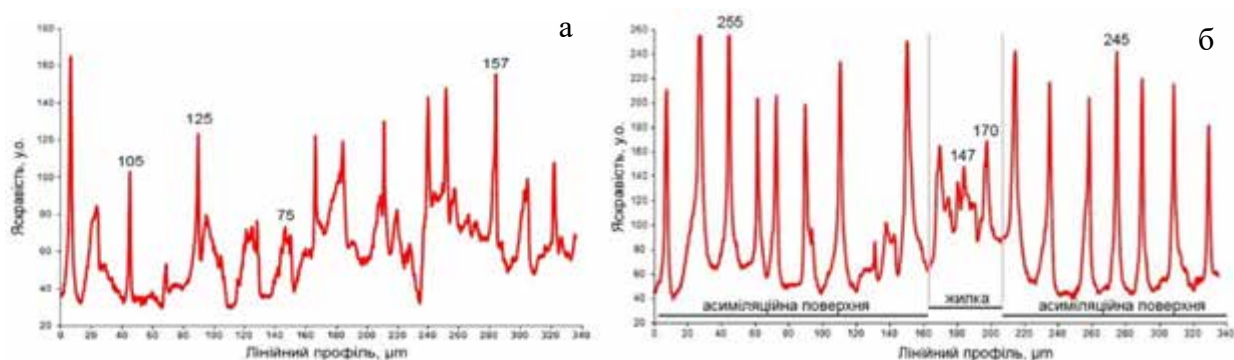


Рис. 10. Інтенсивність автофлуоресценції антиклінальних стінок верхнього епідермісу листків нестійкої (а) і стійкої (б) форм гіркокаштана (фільтр – 420–470 нм)

Так, інтенсивність автофлуоресценції клітинних стінок гібридної форми гіркокаштана була в середньому в 1,6 раза вищою за гіркокаштан звичайний, а порівняно з окремими клітинами – у 3,4 раза. Це пояснює пошкодження переважно мезофільних листків адвентивних пагонів. Така специфіка диференціації клітин і формування вторинних стінок слугує ознакою функціонально важливої мікроморфологічної відмінності епідермісу. У будові клітинних стінок різницю також виявлено у складі її полісахаридних компонентів (рис. 11).

З'ясовано, що клітинні стінки паренхіми калюсу нестійкої проти *Cameraria ohridella* форми гіркокаштана звичайного (3,0–3,3 мкм) містять більше пектину і геміцелюлози. Після ферментативного гідролізу інтенсивність гістохімічної реакції на ці полісахариди знижувалася в 1,7 і 1,5 раза й перевищувала різницю відповідної реакції у клітинних стінках (2,3–2,5 мкм) паренхіматозних тканин стійкої форми на 40 та 15 %. Водночас з'ясовано, що специфіка паренхіми стійкої проти *Cameraria ohridella* форми вирізняється відносно високим вмістом пектинових речовин у протопластах. Така відмінність у розподілі пектинів може бути пов'язана з уповільненням процесів їх введення

у полісахаридний матрикс. У свою чергу, це суттєво впливає на фізико-хімічні властивості, міцність і здатність клітинних стінок до розтягування, що залежить від структури вторинних клітинних стінок.

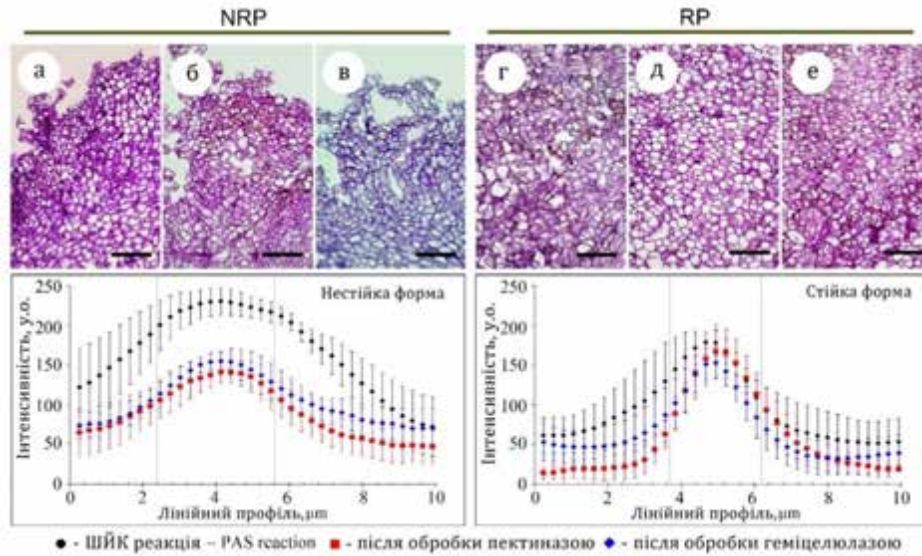


Рис. 11. Мікроморфологія та особливості відкладення полісахаридів у клітинних стінках калюсу нестійкої (а–в) і стійкої (г–е) проти каштанової мінуючої молі форм *Aesculus hippocastanum*: а, г – реакція на полісахариди (PAS) у паренхімі калюсу; б, д – PAS реакція після обробки калюсної тканини пектиназою; в–е – PAS реакція після обробки калюсної тканини геміцелюлазою; лінійка – 100 мкм; (n=30)

Так, встановлено, що активність пероксидаз, від яких залежить міцність клітин у черешках, листках і неморфогенних калюсах достовірно вища у стійкої (RP) форми (рис. 12).

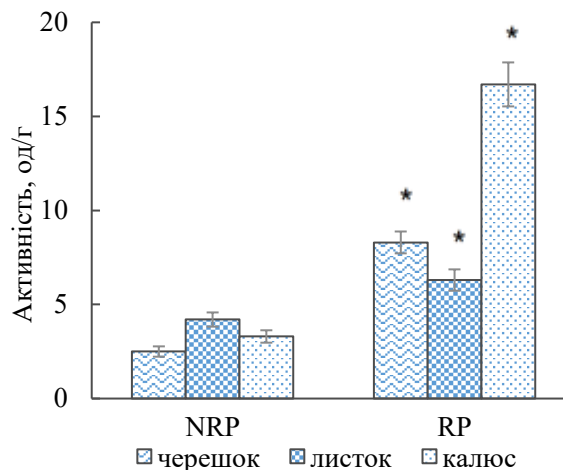


Рис. 12. Активність вільних і слабкозв'язаних аніонних пероксидаз у черешках, листових пластинках (із 0,5 % PVP) і неморфогенних калюсах нестійкої (NRP) та стійкої (RP) форм *Aesculus hippocastanum*; \*відмінність достовірна до NRP за  $p < 0,05$

За умов механічних пошкоджень тканин листових пластинок гусеницями *Cameraria ohridella* у клітинах розвиваються реакції окиснювального стресу.

Одним з його наслідків стає утворення в клітинах верхнього епідермісу за участю пероксидаз і фенольних сполук густого за консистенцією гелю, основу якого становлять полісахариди. Оскільки на першій стадії розвитку гусениці живляться виключно клітинним соком, їхні трофічні функції унеможливаються. Вони гинуть досить швидко, хоча встигають утворювати на поверхнях листків мікроміни завдовжки 0,7–1,5 мм. Для більшості фітофагів листки *Aesculus hippocastanum* не придатні для живлення через наявність значної кількості фенольних сполук і сапонінів. Однак, хроматографічний аналіз показав, що у кишківнику і тканинах гусениці *Cameraria ohridella* після голодування протягом 2 год таніни майже відсутні (рис. 13, б).

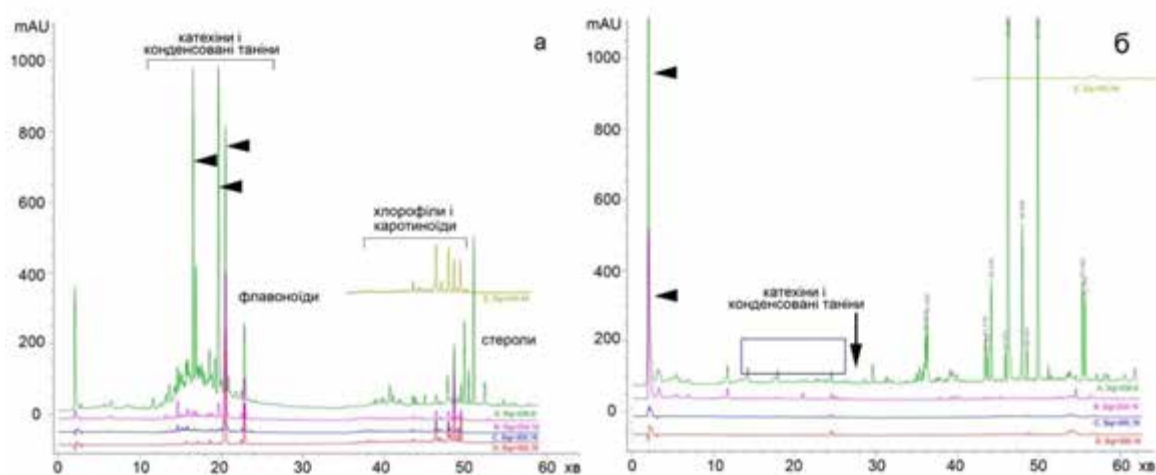


Рис. 13. Хроматограма екстракту листків *Aesculus hippocastanum* (а) і тканин гусениці *Cameraria ohridella* (б)

Водночас з'являються полярні сполуки і стероли. Це свідчить про достатньо активну біотрансформацію метаболітів у кишківнику гусениці.

Серед кількох видів грамнегативних ентеробактерій гусениць *Cameraria ohridella* виділено штами *Pseudomonas putida* і *Pseudomonas synxantha*. Методом сиквенування визначено нуклеотидну послідовність фрагмента гена 16S рРНК штаму PSS-HCLM-016, загальною довжиною 1279 нуклеотидів.

За допомогою програми BLAST визначено, що найбільша частка подібності, яка досягає 99,86 %, спостерігається між досліджуваним штамом і штамами виду *Pseudomonas synxantha*. Сиквеновані послідовності гена 16S рРНК задепоновано у GenBank як *P. synxantha* PSS-HCLM-016 із номерами MW282176 та MW282177. Приналежність штаму PSS-HCLM-016 до виду *P. synxantha* підтверджується дендрограмою філогенетичних зв'язків між типовими штамами роду *Pseudomonas*, яка побудована на основі послідовностей гена 16S рРНК (рис. 14). На дендрограмі кластер, утворений типовим штамом *P. synxantha* IAM 12356 і *P. synxantha* PSS-HCLM-016, достовірно віддалений від інших видів *Pseudomonas*. Ці штами здатні до активного гідролізу фенольних сполук. Швидкість розкладання рослинних фенолів виділеним штамом ентеробактерій залежав від показника рН. Встановлено, що за 6 год культивування ентеробактерій за рН 7,0 кількість фенольних сполук у живильному середовищі знижується на 27 %. Підвищення рН до 7,5

уповільнює гідроліз рослинних фенолів у 1,67 раза. Не виключено, що виділені ентеробактерії слугують основним джерелом ензимів для формування ферментних систем, необхідних для нормального травлення гусениць.

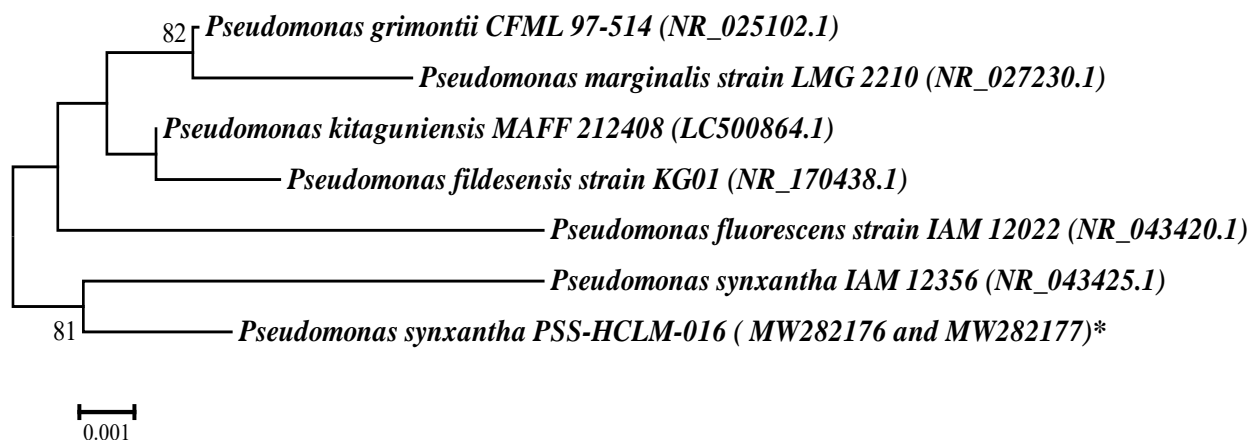


Рис. 14. Філограма генетичної подібності представників роду *Pseudomonas*. Досліджуваний штам позначено \*

Отже, узагальнюючи отримані дані щодо просторово детермінованих механізмів стійкості рослин *Aesculus* проти гусениць *Cameraria ohridella*, пропонується виділяти три основні типи стійкості та їхні варіації (рис. 15).



Рис. 15. Детермінована модель стійкості рослин *Aesculus* проти гусениць *Cameraria ohridella*

Виражена ярусна мінливість метамерів виступає особливістю деревних рослин, яка може суттєво впливати на ефективність системи конституційної або індукованої стійкості рослини.

Система механічної конституційної стійкості показана на прикладі *Aesculus pavia* і *Aesculus hybrida*, які стійкі проти гусениць *Cameraria ohridella*. Надзвичайно товсті антиклінальні стінки клітин епідермісу цих видів не дають можливості гусениці після відродження розривати епідермальну тканину головною частиною і рухатися безпосередньо в епідермісі.

Наведена система надзвичайно ефективна, оскільки сама структура тканин несумісна з функціональними можливостями фітофага. Водночас товщина клітинних стінок – ознака досить варіабельна і в межах одного виду може суттєво вирізнятися на індивідуальному рівні. Для рослин *Aesculus pavia* ефективність системи захисту підкріплюється високим умістом в епідермісі полісахаридів, що здатні разом із фенольними сполуками утворювати досить в'язку субстанцію, яка ускладнює живлення гусениці, навіть якщо вона все таки потрапляє всередину епідермальної тканини. Отже, як з'ясувалося, існує мінімум чотири механізми захисту рослин *Aesculus* проти *Cameraria ohridella*.

Розділ 8 «Захисні і бар'єрні функції вторинних метаболітів сільвантів у стресових умовах». Просторова неоднорідність й інтенсивне відкладення фенольних сполук може призводити до побуріння деревини, яка розглядається як вада. Інтенсивне забарвлення деревини *Quercus robur* викликається поліконденсацією фенольних сполук, зазвичай, катехінів, з утворенням флабофенів, що відкладаються на внутрішніх поверхнях трахеальних елементів ксилеми. За умов підвищення загальної кількості окислених поліфенолів клітинні стінки також забарвлюються. У такому стані побуріння деревини визначається візуально. Насамперед, це негативно впливає на її декоративні якості і, відповідно, на комерційну вартість продукції. Причина виникнення такої вади остаточно не з'ясована. Однак, під час детального дослідження тканин ксилеми було виявлено ознаки часткового порушення цілісності клітинних стінок. Такі дефекти, зазвичай, характерні для життєдіяльності ксилотрофів, які гідролізують компоненти клітинних стінок екзоферментами. Відкладання на внутрішній поверхні і просочування клітинних стінок фенольними сполуками створює певні перешкоди для патогена та уповільнює руйнацію клітин.

У процесі досліджень визначено, що загальний пул фенолів у листках дерев із побурінням деревини збільшувався порівняно з контролем у 1,6 раза (табл. 5).

Таблиця 5

**Вміст основних класів фенольних сполук у листках *Quercus robur* за наявності прихованих вад деревини ( $\bar{x} \pm SE$ , n=5)**

Зразок	Концентрація, мг/г			АОА, мМ·екв
	феноли	флавоноїди	катехіни	
К	155,1±9,8	6,4±0,4	6,8±0,5	65,8±3,3
ПП	247,4±12,4**	7,5±0,7*	9,3±0,6*	66,3±3,3
ГН	108,8±5,4*	6,8±0,3	12,8±0,7**	63,8±3,2
Індекс співвідношення				
ПП/К	1,6±0,3	1,2±0,2	1,4±0,1	1,0±0,1
ГН/К	0,7±0,1	1,1±0,1	1,9±0,3	1,0±0,1

Примітка. К – контроль; ПП – дерево з побурінням деревини; ГН – дерева з ознакою бурої гнилі; дисперсійний аналіз проведено методом ANOVA; \*різниця порівняно з контролем достовірна за  $p < 0,05$ , \*\*різниця порівняно з контролем достовірна за  $p < 0,01$  (із поправкою Бонфероні)

Зростає також уміст флавоноїдів і катехинів. При цьому загальна антиоксидантна активність фенольних сполук достовірно не змінювалася.

Біохімічні профілі дерев із побурінням й ознаками брурої гнилі відрізнялися від контролю за складом середньополярних сполук. Так, на хроматограмах не виявлено піків № 3 і № 4 на 13,40 і 13,71 хв (рис. 16, показано стрілками).

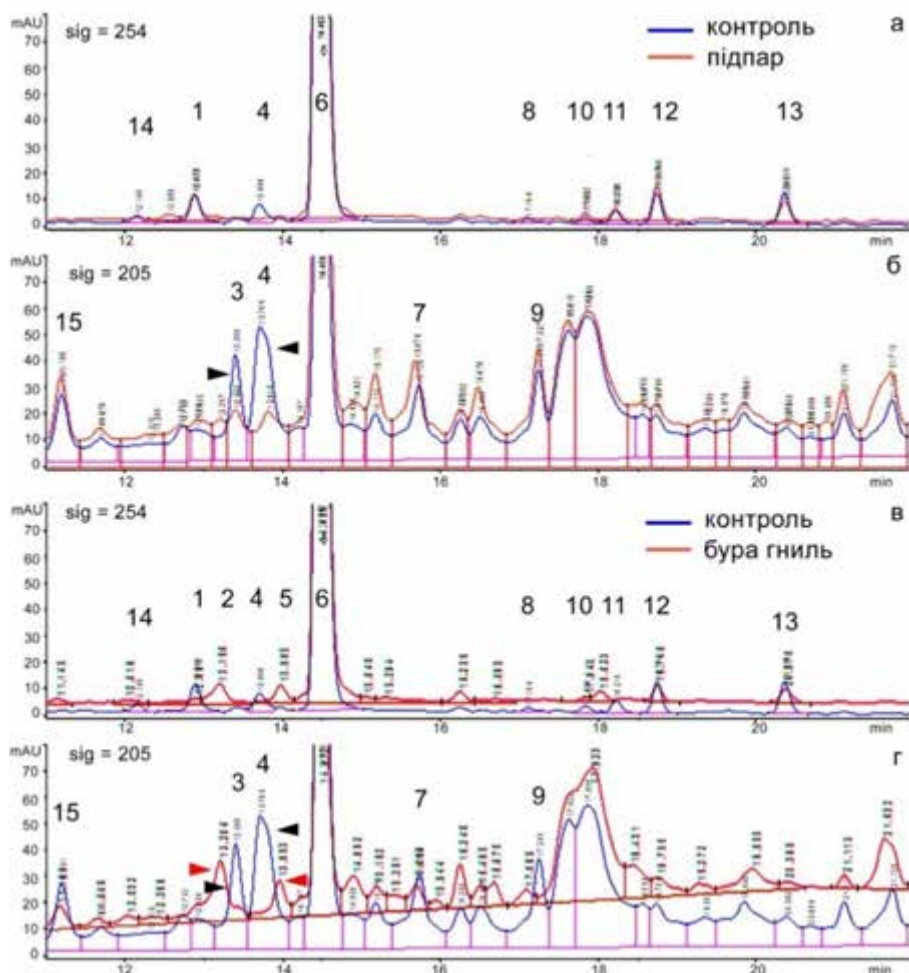


Рис. 16. Профілі піків малополярних речовин деревини *Quercus robur* в екстрактах із різними вадами (сигнал детектора – 205 нм і 254 нм)

Відсутність окремих індивідуальних фенольних сполук слугує маркерною ознакою, на яку варто звернути увагу. Ефективність захисних функцій елаготанінів вища, ніж галотанінів. Це пояснюється здатністю елаготанінов утворювати о-хінони з вираженими електрофільними властивостями. Антифедантна активність танінів також заснована на осадженні білків. Вона посилюється їх прооксидантною активністю особливо в слабколужних умовах (Salminen J. P. et al., 2011).

У синтезі танінів першими в клітинах утворюються полігалоілглюкози з відносно невисоким прооксидантним потенціалом. Подальше перетворення галотанінов у елаготаніни призводить до підвищення загальної прооксидантої активності клітин.

Елагова кислота утворюється в результаті лактонізації гексаоксидифенової кислоти, яка вивільняється за гідролізу елаготанінів. Збільшення загального

пулу елагової кислоти компенсує утворення токсичних агентів, які накопичуються в клітинах у процесі інтенсивного окислення.

Оскільки за умов інфікування фітопатогенними грибами в рослинах відбувається утворення елагової кислоти (Запрометов М. Н., 1993), збільшення її концентрації у деревині може свідчити про підвищення еліситорної активності глюкозамінів (олігосахаридних залишків клітинних стінок грибів) з активацією відповідних гідролаз. Кількісні зміни концентрації елаготанінів у деревині дуба у відповідь на дію грибів також пов'язані з активацією відповідних ферментних систем, які призводять до їх гідролізу в тканинах рослин (Klumpers J., Scalbert A., Janin G., 1994). Збільшення загального пулу елагової кислоти передбачає посилення інтенсивності окислювальних процесів у тканинах рослин, що запропоновано використовувати як маркер бурої гнилі та прихованих вад деревини. За наявності ознак руйнування деревини рослини *Quercus robur* через дальньодистантний транспорт продуктів патогенезу (зокрема тих, що вивільняються в процесі гідролізу деревини ферментами дереворуйнівних грибів) призводять до певних змін у вторинному метаболізмі листків. Окремі його продукти можуть бути використані як маркери прихованого патогенезу деревини.

Таким чином з'ясовано, що просторовий розподіл фенольних сполук у листках рослин має тканинспецифічну градієнтну структурованість, яка зумовлена бар'єрними функціями і забезпечує захист тканин від патогенів і надлишкової інсоляції. У репродуктивних органах нагромадження вторинних метаболітів також виступають біохімічним елементом тканинних бар'єрів. На основі серії досліджень розроблено функціональну модель роботи тканинних бар'єрів, що створюють ендометаболіти перикарпіїв, біологічне значення яких залежить від концентрації та їхнього просторового розподілу в тканинах плодів і за їх межами.

Показано, що водні екстракти плодів *Betula pendula* Roth., *Acer platanoides* L., *Fraxinus excelsior* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Gleditsia triacanthos* L. володіють вибірковою біоцидною та інгібуючою діями відносно потенційно небезпечних для них фітопатогенів і конкурентів для важливих симбіотів.

Встановлено селективну бактеріостатичну дію екзометаболітів перикарпіїв різних видів деревних рослин на бактеріальні ізоляти. Так, щодо ізолятів *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms 7750) виражену бактеріостатичну дію виявляли метаболіти рослин *B. pendula*, дещо повільніший ріст колоній спостерігався за дії екстрактів *R. pseudoacacia* та *F. excelsior*. Екзометаболіти *G. triacanthos* також виявили бактерицидну дію до цих бактерій, хоча їхня активність була меншою. Пролонговане (протягом 5 діб) уповільнення росту ізолятів *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc 8982) встановлено під дією екстрактів із перикарпіїв *F. excelsior*, *G. triacanthos* та *A. platanoides*, а метаболітів *R. pseudoacacia* на ізолятах *Pectobacterium* (PP-25 та PP-21) (рис. 17).

Вибірковість дії рослинних метаболітів визначена й щодо збудників фітопатогенних мікроміцетів. Так, речовини *R. pseudoacacia* затримували ріст

міцелію ізоляту 3251 *Sclerotinia* spp., що спричиняло повну або часткову втрату схожості насіння окремих видів деревних культур та їхню муміфікацію. Найвищу активність щодо фітопатогенних мікроміцетів показали метаболіти *B. pendula* (особливо проти *Sclerotinia* spp. та *Cladosporium* spp.). Дещо поступалися перед ними екстракти перикарпіїв *R. pseudoacacia* (але найактивніші проти *Fusarium* spp.). Виражена антибактеріальна дія виявлена у екстрактів *G. triacanthos*, дещо менша – у *F. excelsior*. У цілому метаболіти вказаних видів були стабільно активними. Менш активними до цих фітопатогенів виявилися екстракти з перикарпіїв *A. platanoides*.

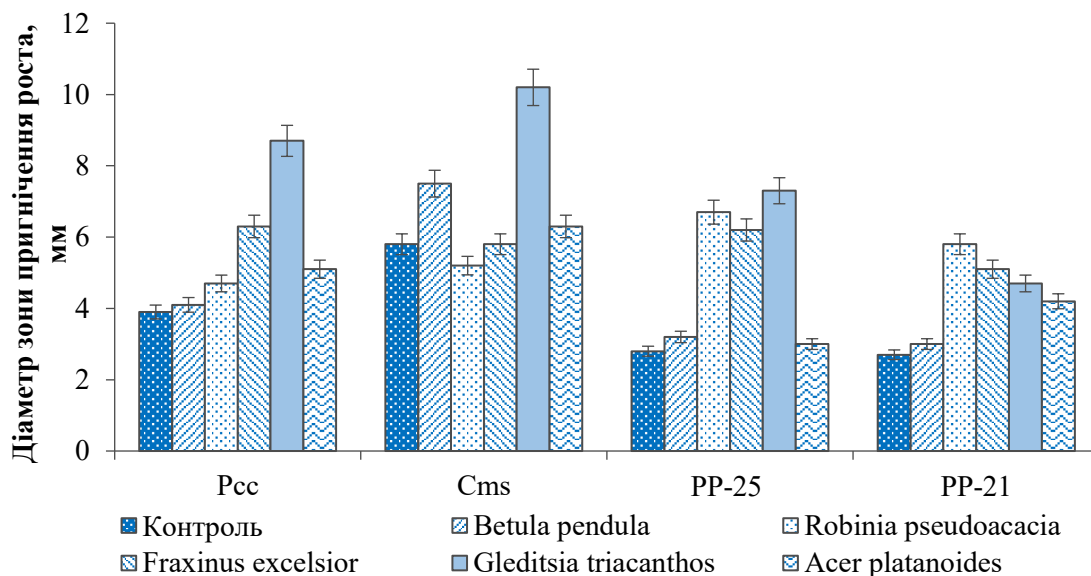


Рис. 17. Антибактеріальна дія екстрактів перикарпіїв видів деревних рослин

Таким чином, у випадку недостатньої зволоженості ґрунту зародок захищають тканинні фітохімічні бар'єри, які перешкоджають розвитку фітопатогенів, а також гальмують передчасну ініціацію проростання насіння. Крім того, метаболіти перикарпіїв пригнічують ріст міцелію деяких ендосимбіотичних грибів-симбіотів, які, зазвичай, знаходяться у тканинах плодів у період дозрівання й зберігання насіння.

**Розділ 9 «Динаміка вилуговування та алелопатичні властивості вторинних метаболітів едифікаторів лісових екосистем».** Показано, що вилуговування фенольних сполук з листового опаду відбувається досить швидко, а сам процес описується ступеневою функцією. З'ясовано, що алелопатична дія речовин, які потрапляють з листового опаду в ґрунт може значно підвищуватися внаслідок взаємодії різних видів рослин-едифікаторів. Функціонально прояв адитивності алелопатичних зон залежить від просторового розташування рослин-донорів, синтезу й динаміки надходження колінів до едафотопу, а також їхньої здатності до адитивної або синергічної взаємодії. Запропоновано модель, яка описує процеси створення синфітогенних алелопатичних зон.

Установлено, що явне уповільнення процесу формування синузії трав або мертвопокровності на значній території монодомінантних букових

насаджень у Національному природному парку «Голосіївський» головним чином зумовлено складним комплексом чинників, проте не лише через нестачу світла за рахунок зімкненості крон, як вважається, а за тривалої дії біотичної складової. Останнє є наслідком підкислення ґрунту продуктами вилугування листового опаду і корневими виділеннями, що посприяли домінуванню у ґрунті мікроміцетів, які виділяють надзвичайно токсичні для корневих систем екзометаболіти (рис. 18).

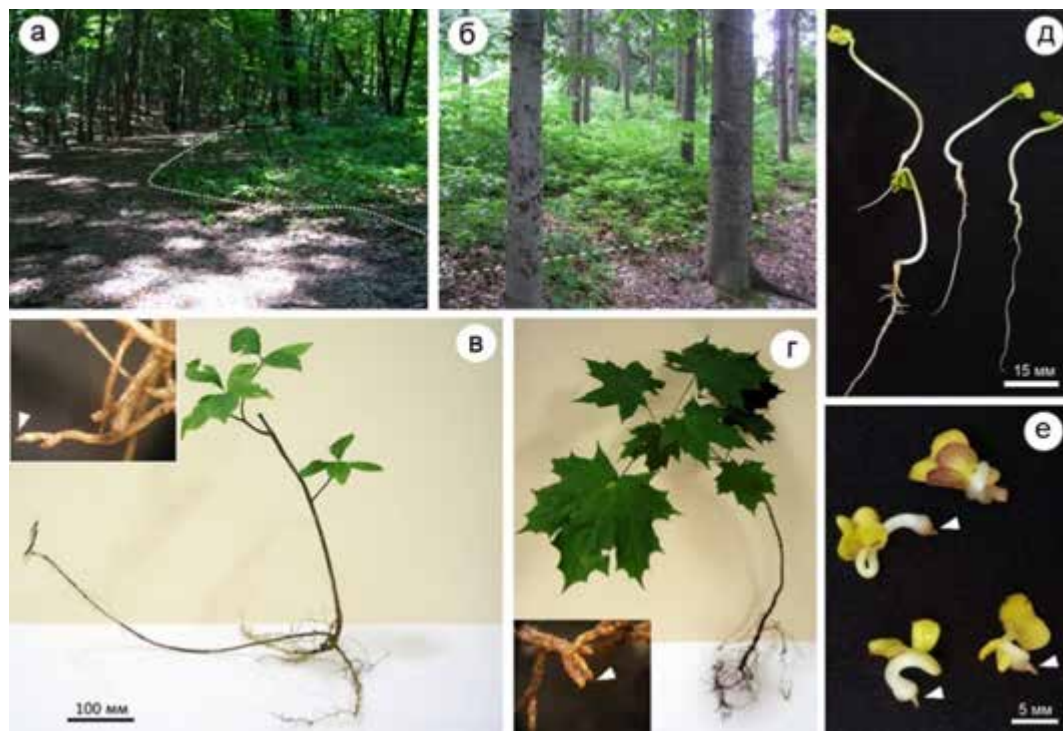


Рис. 18. Формування трав'янистого покриву за фітоценотичним контуром між штучно створеними буковими насадженнями (б) та дубово-грабового лісу (а); некротизація апексів бічних коренів бруслини європейської (в) і клена гостролистого (г) під впливом фітотоксинів; вплив екзометаболітів *Penicillium canescens*, виділеного з ґрунту букового насадження, на корені *Raphanus sativus* var. *radicula*: д – контроль; е – фітотоксична дія метаболітів мікроміцета

Як засвідчив аналіз ферментативної активності ґрунту грабових дібров і штучно створеної бучини, у верхньому прошарку ґрунту (0–5 см) активність  $\beta$ -глюкозидаз в умовах насаджень бука в 2,0 рази перевищує аналогічний показник ґрунту непорушеного природного біогеоценозу. На глибині 5–15 см активність цього ферменту в ґрунтах бучини зменшувалася незначно, водночас в діброві цей показник зменшувався в 1,7–1,8 рази. Висока глюкозидазна активність характерна для мікроміцетів. Фермент бере участь у біодеградації целюлози і геміцелюлози, що створює передумови для доволі швидкої деструкції опаду.

Отже, висока активність ферменту свідчить про наявність значної кількості продуцентів, субстратом для яких слугує целюлоза. На фітоконтурі та на межі бучини в поверхневому прошарку ґрунту активність  $\beta$ -глюкозидаз дещо зменшувалася, втім порівняно з дібровою залишалася достовірно високою.

Водночас у горизонті 5–15 см активність ферменту значно знижувалася. Подібне свідчить про відсутність необхідних умов для синтезу ферментів, яка може бути пов'язана зі зменшенням загальної біомаси продуцентів відповідної гідролази. Варто зауважити, що у місцях відбору зразків ґрунту спостерігалось збільшення видового різноманіття рослин і загального проективного покриття. Фенольні сполуки хімічно трансформуються бактеріями та мікроміцетами ґрунту (Билай В. И., 1982). Деякі продукти біотрансформації перетворюються на токсичні сполуки (Keromnes J., Thouvenot D. 1985). Це створює передумови для виникнення біоценотичних бар'єрів, які обмежують видовий склад фітоценозів.

У досліджених букових насадженнях до моменту повної зімкнутості крон основним лімітуючим фактором, який пригнічує ріст і розвиток рослин, викликає елімінацію нестійких видів, виявилися компоненти мікоценозу (насамперед, представники роду *Penicillium*), які в умовах затінення на кислих ґрунтах швидко розвиваються, трансформують продукти вторинного метаболізму листкового опаду та синтезують надзвичайно токсичні для інших рослин і мікроорганізмів сполуки.

На твердих поживних середовищах колонії ізольованих ґрунтових мікроміцетів виділяли екsudати, що містять до 40 індивідуальних сполук. Одним з основних компонентів серед них виділено гризеофульвін, який широко використовується в медичній практиці для лікування мікозів. Кількість гризеофульвіну в екsudатах, порівняно з іншими метаболітами, була значною. Цей антибіотик пригнічує мітоз грибних клітин, порушуючи їх поділ у метафазі. Також, як показали проведені дослідження, він здатний порушувати поділ клітин у рослин. На фоні високої кислотності ґрунту підвищується концентрація вільного алюмінію, до якого бук європейський досить толерантний. Утім, для багатьох рослин його надмірна концентрація слугує лімітуючим чинником.

За обмеженою освітленістю впродовж 30–40 років створювалися несприятливі едафічні умови, які знаходяться за межами толерантності для більшості типових для грабових дібров сільвантів. Вторинні метаболіти, зокрема фенольні сполуки (конденсовані й гідролізовані таніни), за умов надходження з листкового опаду в ґрунт у значній кількості на площі понад 3 га здатні за короткий термін трансформувати біотоп і створити передумови для суттєвого зменшення біорізноманіття в лісовій екосистемі.

Отже, дослідження таких складних проблем стає ефективнішим за умов застосування системних підходів. Оскільки вторинні метаболіти виконують доволі різноманітні функції, а їхній синтез у межах окремого виду для переважної більшості рослин специфічний, екстраполяція функцій індивідуальних сполук, або навіть цілого класу може призводити до хибних висновків та необґрунтованих упереджень. Немає сумніву, що від розуміння функціональності окремих вторинних метаболітів і в комплексі залежить оцінка інтродукційного потенціалу рослин, їхньої життєздатності в умовах змін клімату. Звідси доцільно досліджувати їх у безпосередньому зв'язку з середовищем, у тому числі з мікроорганізмами і фітофагами, які знаходяться з ними у контакті.

Поєднання мікробіологічних, ентомологічних, екофізіологічних і біохімічних методів дозволяє не тільки оцінювати загальний стан рослини і виявляти потенційну небезпечність мікроорганізмів і комах, а й виокремлювати перспективних симбіонтів, продуцентів біоактивних сполук, що становлять надзвичайний теоретичний і практичний інтерес для розвитку лісової і сільсько-господарської галузей (рис. 19).

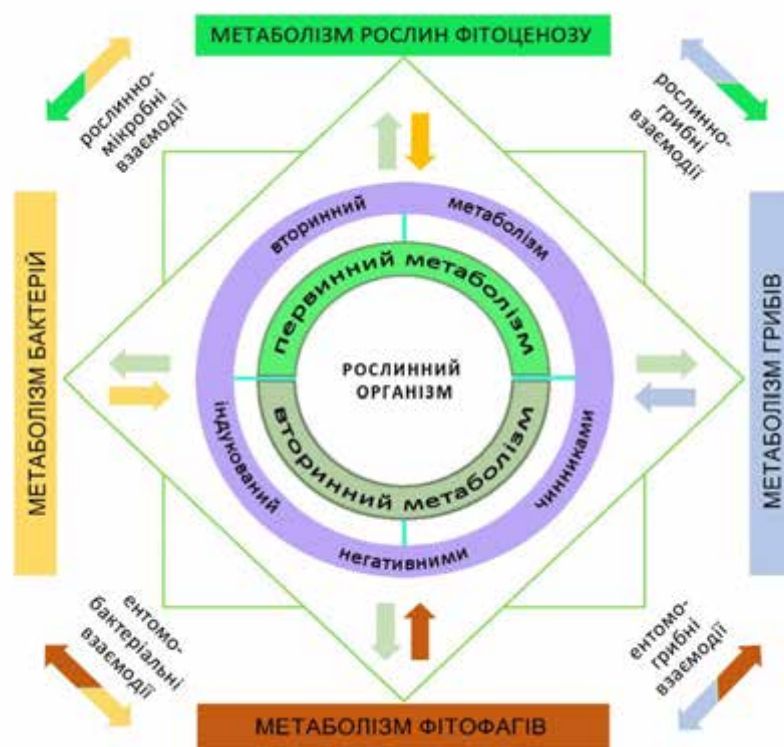


Рис. 19. Системний підхід до вивчення вторинних метаболітів деревних рослин з визначенням їхньої ролі у процесах адаптації й системі захисту проти несприятливих чинників і фітофагів

Таким чином, показано ефективність використання системного міждисциплінарного підходу, який дозволяє встановлювати міжвидові зв'язки і визначати роль окремих класів вторинних метаболітів у формуванні стійкості деревних рослин.

## ВИСНОВКИ

У дисертації розроблено теоретичні й науково-практичні основи системних досліджень адаптаційних, захисних та едифікаційних функцій вторинних метаболітів деревних рослин. Розкрито закономірності просторового розподілу і співвідношення в рослинних тканинах окремих класів і груп вторинних метаболітів відповідно до їхнього функціонального призначення.

1. На прикладі 12 видів *Betula* L., 13 видів *Acer* L., 12 видів і гібридів *Aesculus* L., 14 видів і міжвидових гібридів *Juglans* L. доведено, що фітохімічні профілі фенольних комплексів слугують надійним інструментом ідентифікації рослин на рівні родини, підродини, роду. Інваріантні компоненти фенольних

комплексів перидерми і кори однорічних пагонів видів деревних рослин дозволяють розрізняти їх на рівні секції включно.

2. Установлено тісний зв'язок між плоїдністю видів *Betula* і комплексом флавоноїдів та кон'югатів оксикоричних кислот у листках з екологічною валентністю рослин (стійкістю до низьких температур і вибагливістю до світла).

3. З'ясовано, що в процесі міжвидової гібридизації рослин роду *Juglans* кількісний вміст флавоноїдів у вегетативних органах життєздатних гібридів від 2,8 до 5,1 раза нижче відповідних показників у високофлавоноїдних батьківських видів (*J. regia* або *J. nigra*), що впливає на екологічну валентність, стійкість і швидкість поширення гібридних форм.

4. Показано, що фізіологічна активність оксибензойних і оксикоричних кислот у концентрації 1 мМ/л залежить від кількості і положення замісників у структурі молекул. Електронодонорні замісники першого роду (метильні і гідроксигрупи) посилюють калюсогенез у рослин *in vitro*. Ферулова і сириngoва кислоти, до складу яких входять відповідно одна і дві метоксигрупи, стимулюють синтез фенольних сполук, а збільшення кількості гідроксигруп у структурі ароматичного кільця (галова кислота) уповільнює фенілпропаноїдний синтез.

5. Амплітуда вертикальної (ярусної) мінливості вмісту фенольних сполук у листках деревних рослин виступає показником чутливості рослинного організму до градієнта екологічних чинників та/або їхньої адитивної дії. Індекс співвідношення вмісту флавоноїдів до загальних фенолів і катехинів у листках рослин *Aesculus hippocastanum*, *Acer platanoides*, *Betula pendula* має обернену залежність до висоти ярусу крони, що забезпечує рослинам захист від надлишкової інсоляції, перепадів вологості повітря і температури. Для інтродуцентів за умов стабільно активного росту і розвитку в межах оптимуму, характер ярусної мінливості розподілу вторинних метаболітів слугує показником адаптаційного потенціалу виду.

6. Доведено, що секреторні клітини у мезофілі листків *Aesculus hippocastanum* не впливають на стійкість рослин проти *Cameraria ohridella*. Показано, що фенольні сполуки з фотопротекторними, антиоксидантними, регуляторними й антимікробними властивостями, які накопичуються у тканинах вегетативних і генеративних органів рослин, зазвичай, стабілізовані полісахаридами (пектинами та геміцелюлозами).

7. Визначено просторово детерміновані і недетерміновані механізми конституційної та індукованої стійкості рослин роду *Aesculus* проти гусениць *Cameraria ohridella*. Доведено, що основною ознакою стійкості рослин *Aesculus* є підвищена міцність антиклінальних стінок клітин верхнього епідермісу, а також у разі пошкодження утворення в епідермальних клітинах камедеподібної субстанції, що унеможливорює живлення гусениць *Cameraria ohridella*.

8. З'ясовано, що флавоноїди в листках деревних рослин виконують регуляторні та репараційні функції у випадку порушення цілісності тканин і органів. У разі пошкодження в листках активізується синтез флавоноїдів. Відповідна адаптивна реакція описується логнормальною залежністю і має п'ять стадій: метаболічної інерції (I), повільного (II) і активного (III) зростання

кількості флавоноїдів, стадії насичення (IV) і повільної стабілізації з поверненням кількості флавоноїдів у травмованому органі до відповідного базового рівня (V), детермінованого генотипом, а також внутрішніми та зовнішніми чинниками.

9. Приховані вади деревини *Quercus robur* через дальньодистантний транспорт продуктів біодеструкції, зокрема елагової кислоти, викликають зміни у вторинному метаболізмі листків, специфічні компоненти якого можуть бути використані як маркери патогенезу деревини.

10. Розроблено функціональну модель формування ендо- і екзогенних бар'єрів ендометаболітами перикарпіїв, ефективність яких залежить від концентрації і просторового розподілу речовин у тканинах плодів. Показано, що водні екстракти плодів *Betula pendula*, *Acer platanoides*, *Fraxinus excelsior*, *Robinia pseudoacacia*, *Gleditsia triacanthos* володіють селективною антибактеріальною й антифунгальною активністю щодо потенційно небезпечних для рослин фітопатогенів і конкурентів за екологічну нішу.

11. Доведено, що вилуговування фенольних сполук із листкового опаду описується ступеневою функцією, а їхня алелопатична активність залежить від видового складу і просторової взаємодії рослин-еdifікаторів. Запропоновано модель, яка описує процеси створення синфітогенних алелопатичних зон у лісових фітоценозах.

12. Суттєве уповільнення процесів формування синузії трав'янистого ярусу або виникнення мертвопокривності на значній території монодомінантних насаджень *Fagus sylvatica* (на прикладі Національного природного парку «Голосіївський») відбувається переважно не через нестачу світла, а внаслідок кумулятивної дії складових лісового біоценозу. Тривале вимивання вторинних метаболітів з листкового опаду сприяє підкисленню ґрунтів, підвищенню вільних форм алюмінію і марганцю, а також домінуванню в ґрунті мікроміцетів, які виділяють екзометаболіти, надзвичайно токсичні для корневих систем сільвантів.

## СПИСОК ОПУБЛКОВАНИХ 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 Dimic). К., 2017. 160 с. (Здобувачем проаналізовано й узагальнено результати морфо-анатомічних, фітохімічних і фізіологічних досліджень рослин роду *Aesculus* L., розроблено математичні моделі, визначено й описано механізми стійкості рослин роду *Aesculus* проти каштанової мінуючої молі).

### Статті у наукових фахових виданнях України

2. Мельничук М. Д., Григорюк І. П., Ліханов А. Ф., Ключаваденко А. А., Дрозд П. Ю. Алелопатичний потенціал листкового опаду рослин дуба звичайного (*Quercus robur* L.) та граба звичайного (*Carpinus betulus* L.). Біоресурси і природокористування. 2011. Т. 3. № 3–4. С. 5–14. (Здобувачем

проведено експериментальні дослідження та їх узагальнення, визначено вміст фенольних сполук у листковому опаді, розроблено математичну модель, написано статтю).

3. Мельничук М., **Ліханов А.**, Григорюк І., Антипов І., Оверченко В., Шульга, В., Ключащенко А. Влияние вирусной инфекции на цитогистологическое состояние хмеля (*Humulus lupulus* L.). Вестник Киевского национального университета имени Тараса Шевченко. Серия: Биология. 2012. № 62. С. 64–69. (Здобувачем проведено анатомічні дослідження листків за використання світлової і флуоресцентної мікроскопії, проаналізовано специфіку автофлуоресценції рослинних клітин за умов вірусної інфекції, виведено та графічно представлено відповідні закономірності, написано статтю).

4. Мельничук М. Д., Якубенко Б. Є., **Ліханов А. Ф.** Будова, розвиток і функції секреторної системи *Humulus lupulus* (Cannabaceae). Український ботанічний журнал. 2013. Т. 70. № 3. С. 342–350. (Здобувачем підготовлено постійні мікропрепарати рослинних тканин, проведено анатомічні й цитологічні дослідження вегетативних органів хмелю звичайного, визначено та описано типи секреторних каналів, проведено аналіз результатів, написано статтю).

5. Ліханов А. Ф. Оцінка міжсорткової спорідненості рослин малини (*Rubus idaeus* L.) за біохімічними профілями фенольних сполук. Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2014. № 7. URL: [http://nd.nubip.edu.ua/2014\\_7/9.pdf](http://nd.nubip.edu.ua/2014_7/9.pdf).

6. **Ліханов А. Ф.**, Пентелюк О. С., Григорюк І. П., Ілленко О. О. Варіативність складу вторинних метаболітів кори однорічних пагонів рослин роду *Aesculus* L. Інтродукція рослин. 2016. № 3. С. 102–109. (Здобувачем сформульовано робочу гіпотезу, проведено фотоденситометричну обробку даних хроматографії, виконано обробку даних методами непараметричного аналізу, сформовано узагальнення, що увійшли в матеріали статті).

7. Пентелюк О. С., **Ліханов А. Ф.**, Григорюк І. П. Динаміка вмісту поліфенолів у листках рослин гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) Біоресурси і природокористування. 2016. Т. 8. № 1–2. С. 5–12. (Здобувачем розроблено й описано математичну модель фізіологічної реакції рослин гіркокаштана звичайного на травматичний стрес та на її основі сформульовано теоретичні положення щодо стадій травматичного стресу рослин).

8. **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 сформульовано робочу гіпотезу, проведено статистичну обробку і аналіз результатів фітохімічних досліджень, зроблено основні висновки та взято участь у написанні статті).

9. Олексійченко Н. О., **Ліханов А. Ф.**, Костенко С. М. Фізіологічний стан асиміляційних органів рослин роду липа (*Tilia* L.) в умовах м. Києва. Науковий вісник Національного лісотехнічного університету України. 2016. Вип. 26 (7).

С. 30–38. (Здобувачем визначено вміст фенольних сполук, флавоноїдів і пластидних пігментів у листках, досліджено якісний склад фенольних сполук методом високоефективної тонкошарової хроматографії, проведено аналіз результатів, написано статтю).

10. Олексійченко Н. О., Ліханов А. Ф. Варіабельність морфологічних і біохімічних ознак листків рослин роду *Tilia* L. в урбосередовищі. Наукові праці Лісівничої академії наук України. 2016. Вип. 14. С. 23–30. (Здобувачем методами непараметричного, кореляційного і регресійного аналізів досліджено морфометричні показники листків, проведено фотоденситометричний аналіз якісного складу фенольних сполук рослин, сформульовано висновки і написано статтю).

11. Likhanov A. F., Overchenko O. V., Kostenko S. M., Subin O. V. Specificity of cytodifferentiation in calluses in vitro of *Aesculus hippocastanum* form resistant to horse-chestnut leaf miner. Физиология растений и генетика. 2017. Т. 49. № 6. С. 495–505. (Здобувачем виконано гістохімічні дослідження та підготовлено постійні мікропрепарати калюсних тканин, проведено біотехнологічні й цитологічні дослідження калюсогенезу, а також хроматографічне розділення вільних амінокислот у калюсних тканинах різних форм гіркокаштана звичайного, проведено узагальнення отриманих результатів, написано статтю).

12. Олійник О. О., Ліханов А. Ф., Мельничук М. Д. Вплив оксикоричних і оксибензойних кислот на метаболізм та регенераційні процеси в експлантатах троянди ефіроолійної у культурі *in vitro*. Біологічні системи. 2017. Т. 9. Вип. 1. С. 33–38. (Здобувачем сформульовано робочу гіпотезу, проведено аналіз впливу оксибензойних і оксикоричних кислот на синтез пластидних пігментів і фенольних сполук у рослинах в культурі *in vitro*, проаналізовано дані методами непараметричного аналізу і сформульовано висновки).

13. Ліханов А. Ф., Серeda О. В., Кляченко О. Л., Мельничук М. Д. Вплив оксикоричних і оксибензойних кислот на синтез пластидних пігментів і фенольних сполук у листках винограду (*Vitis vinifera*) *in vitro*. Физиология растений и генетика. 2018. Т. 50. № 4. С. 331–343. (Здобувачем сформульовано робочу гіпотезу, підібрано склад живильного середовища для культури *in vitro*, проведено фітохімічні дослідження рослинних тканин, виявлено залежність синтезу резвератролу в листках винограду від наявності у живильному середовищі окремих оксикоричних і оксибензойних кислот, сформульовано висновки, написано статтю).

14. Likhanov A. F., Kolesnichenko O. V., Grigoryuk I. P., Grakhov V. P., Dubchak M. Yu., Strashok O. Yu. The influence of horse-chestnut grafting on characteristics of resistance to chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić. Біоресурси і природокористування. 2019. Т. 11. № 5–6. С. 5–14. (Здобувачем проведено фітохімічні дослідження рослин гіркокаштана звичайного до і після щеплення, проаналізовано вплив проантоціанидинів листків на життєздатність гусениць каштанової мінуючої молі, здійснено аналіз даних, сформульовано висновки та підготовлено матеріал до друку).

15. **Ліханов А.Ф.**, Білоус С. Ю., Бородай В. В. Антимікробна активність вторинних метаболітів перикарпіїв деяких видів деревних рослин. Лісове і садово-паркове господарство. 2019. № 15. 13 с. *(Здобувачем сформульовано робочу гіпотезу, проведено екстракцію вторинних метаболітів перикарпіїв, проведено оцінку їхньої антимікробної активності, проаналізовано дані, сформульовано висновки та підготовлено матеріал до друку).*

16. **Ліханов А.Ф.**, Шевчук М. О., Дубчак М. Ю. Фітохімічний поліморфізм рослин роду *Acer* L. в умовах Правобережного Лісостепу України. Лісове і садово-паркове господарство. 2019. № 16. 15 с. *(Здобувачем сформульовано робочу гіпотезу, проведено екстракцію й аналіз якісного складу вторинних метаболітів листків, за допомогою кластерного аналізу визначено філогенетичну спорідненість досліджених видів рослин, сформульовано висновки та підготовлено матеріал до друку).*

17. **Ліханов А. Ф.**, Мірошник Н. В., Шевчук М. О., Дубчак М. Ю., Мазура М. Ю. Ярусна мінливість морфометричних і фітохімічних ознак листків *Betula pendula* Roth. Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2020. № 4 (86), С. 1–13. *(Здобувачем сформульовано робочу гіпотезу, проведено аналіз якісного складу вторинних метаболітів листків, сформульовано висновки та запропоновано розглядати показники ярусної мінливості листків як показник інтродукційного потенціалу рослин, який дозволяє робити певні прогнози щодо їхнього поширення).*

**Статті у наукових виданнях,  
включених до міжнародних наукометричних баз даних  
Scopus/Web of Science**

18. **Likhanov A. F.**, Sereda O. V., Gryb V. M., Melnyk V. I., Yuskevych T. Biochemical markers of vital biodestruction in common oak (*Quercus robur* L.) wood. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2019. Vol 11. № 27 (4). P. 314–321. *(Здобувачем підготовлено мікропрепарати і виконано анатомічні дослідження деревини, проведено фітохімічні дослідження листків і деревини, проаналізовано результати, визначено потенційні біохімічні маркери прихованих вад деревини, сформульовано висновки та взято участь у написанні статті).*

19. Броварська О. С., Варбанець Л. Д., **Ліханов А. Ф.** Характеристика ліпополісахариду *Pseudomonas putida*. Мікробіологічний журнал. 2020. Т. 82. № 1. С. 23–32. *(Здобувачем виділено ентеробактерії з кишківника гусениці каштанової мінуючої молі, отримано чисту культуру та проведено її ідентифікацію).*

20. **Likhanov A. F.**, Burda R. I., Koniakin S. N., Kozyr M. S. Identifying species and hybrids in the genus *Juglans* by biochemical profiling of bark. Modern Phytomorphology. 2020. Vol. 14. P. 27–34. *(Здобувачем проведено екстракцію вторинних метаболітів з рослинних тканин, визначено вміст флавоноїдів і виконано фітохімічні дослідження рослинних тканин методом хроматографії, проаналізовано результати непараметричними методами аналізу, сформульовано висновки, взято участь у написанні статті).*

### Статті у наукових виданнях інших держав

21. Radchenko V., **Likhanov A.**, Matyashuk R. Histochemical heterogeneity of secretory structures in the flowers of *Lysimachia nummularia* L. Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. 2017. Vol. 1. P. 383–387. (Здобувачем підготовлено мікромомні препарати і виконано гістохімічні дослідження насінних зачатків та секреторної системи генеративних органів, проаналізовано результати, сформульовано висновки та взято участь у написанні статті).

22. Klyachenko O., **Likhanov A.**, Grakhov V. Tissue and biochemical barriers of sugar beet (*Beta vulgaris* L. Provar. Altissima Doell.) pericarp. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2018. Vol. 8 (1). P. 663–667. (Здобувачем сформульовано і перевірено робочу гіпотезу, виконано фітохімічні дослідження вторинних метаболітів, що містяться в перикарпіїх та взято участь у підготовці статті до друку).

### Стаття в іншому науковому виданні

23. Ліханов А. Ф. Фітотоксичні властивості ґрунтів за інтродукції *Fagus sylvatica* L. в умови Голосіївського лісу м. Києва. Вісник Львівського національного аграрного університету. 2013. № 17 (1). С. 57–63.

### Патенти України на корисну модель

24. **Ліханов А. Ф.**, Середа О. В., Ключаваденко А. А. Костенко С. М. Спосіб активізації синтезу резвератролу в листках винограду (*Vitis vinifera* L.) в культурі *in vitro*. Патент на корисну модель № 115376 Україна, МПК (2016.11) А01Н 4/00. № у 2016 11649; заявлено 18.11.2016; опубліковано 10.04.2017. Бюл. № 7. (Здобувачем підібрано склад живильного середовища, визначено концентрацію основного активатора синтезу резвератролу та виконано теоретичне обґрунтування ефективності його використання для синтезу резвератролу в листках винограду в культурі *in vitro*).

25. Гриб В. М., **Ліханов А. Ф.**, Василюшин Р. Д. Спосіб діагностування вад деревини твердолистяних порід. Патент на корисну модель № 137595 Україна, МПК (2006). № у 2019 04452; заявлено 24.04.2019; опубліковано 25.10.2019. Бюл. № 20. (Здобувачем проведено біохімічний аналіз листків і деревини рослин з прихованими вадами деревини, виділено фітохімічні маркери та запропоновано спосіб їхнього використання для діагностування вад деревини).

### Науково-методичні рекомендації

26. **Ліханов А. Ф.**, Мельничук М. Д., Антіпов І. О., Ключаваденко А. А. Методики анатомічних, гістологічних та цитологічних досліджень рослин з симптомами вірусних уражень: науково-методичні рекомендації. К., 2012. 32 с. (Здобувачу належить ідея, запропоновано новий спосіб ідентифікації поліфенольних сполук у рослинних тканинах, здійснено узагальнення експериментальних та теоретичних даних щодо стану тканин за умов вірусної інфекції, взято участь у написанні науково-методичних рекомендацій).

27. Григорюк І. П., Костенко С. М., Оверченко О. В., Пентелюк О. С., Ключаваденко 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 проаналізовано результати експериментальних досліджень, визначено оптимальних склад живильного середовища для калюсогенезу, взято участь у написанні науково-методичних рекомендацій).*

#### Тези наукових доповідей

28. Демчук Т. Л., **Ліханов А. Ф.**, Коломієць Ю. В., Григорюк І. П. Морфо-анатомічна структура листків гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.), ураженого каштановою мінуючою міллю (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić.). Актуальні проблеми ботаніки та екології: Міжнародна конференція молодих учених, м. Сімферополь, 21–25 вересня 2010 року: тези доповіді. Сімферополь, 2010. С. 199–200. *(Здобувач підготовлено мікротомні зрізи, досліджено морфо-анатомічну структуру рослин гіркокаштана звичайного і проаналізовано результати).*

29. Демчук Т. Л., **Ліханов А. Ф.**, Григорюк І. П., Мельничук М. Д. Пероксидаза як маркер стійкості рослин роду Гіркокаштан до каштанової мінуючої молі. Рослини та урбанізація: II Міжнародна науково-практична конференція, м. Дніпропетровськ, 29–30 листопада 2011 року: тези доповіді. Дніпропетровськ, 2011. С. 87–90. *(Здобувачем визначено активність пероксидази в листках рослин роду Aesculus L. і проаналізовано результати).*

30. Демчук Т. Л., **Ліханов А. Ф.**, Григорюк І. П., Ключаваденко А. А. Антибіоз рослин гіркокаштана червоного, або павії (*Aesculus pavia* L.) до каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić). Дендрологія, квітникарство та садово-паркове будівництво: Міжнародна наукова конференція, присвячена 200-річчю Нікітського ботанічного саду, м. Ялта, 5–8 червня 2012 року: тези доповіді. Ялта, 2012. Т. 2. С. 100. *(Здобувачем сформульовано робочу гіпотезу антибіозу рослин гіркокаштана червоного до каштанової мінуючої молі, проведено морфо-анатомічні дослідження листків).*

31. Грахов В. П., Ільєнко О. О., Клименко Ю. О., **Ліханов А. Ф.** Вторинні метаболіти листків гіркокаштанів *Aesculus* L. та їх еколого-біохімічний зв'язок з каштановою мінуючою міллю (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić). Інтродукція рослин, збереження та збагачення біорізноманіття в Ботанічних садах та дендропарках: Міжнародна наукова конференція. К., 2015. С. 60–62. *(Здобувачем взято участь у формулюванні основної гіпотези щодо ролі фенольних сполук у стійкості гіркокаштанів проти каштанової мінуючої молі на основі виконаного ним кількісного визначення вмісту фенольних сполук у листках).*

32. Троханяк 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 визначено у листках вміст флавоноїдів, проаналізовано отримані дані та розроблено математичну модуль відповідної реакції рослин на травматичний стрес).*

33. Пентелюк О. С., **Ліханов А. Ф.**, Григорюк І. П. Ярусна мінливість накопичення катехинів 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 сформульовано робочу гіпотезу, визначено вміст катехинів і проаналізовано отримані результати).*

34. **Likhanov A. F.**, Voloshchuk N. M., Kovtun S. V., Sedykh O. Y. Differential screening of potential producers of biologically active substances. II International scientific conference Microbiology and immunology – the development outlook in the 21<sup>st</sup> century, April 14–15, 2016. Kyiv, 2016. P. 166. *(Здобувачем проведено польові дослідження, проаналізовано отримані результати, сформульовано робочу гіпотезу, досліджено біологічно активні речовини ґрунтових мікроміцетів і взято участь у підготовці тез до друку).*

35. **Likhanov A.**, Bilyera N., Sedykh O., Melnychuk M. The biotransformation of soil biocenosis by micromycetes under introduction of *Fagus sylvatica* L. to oak-hornbeam forest. 19<sup>th</sup> EGU General Assembly, EGU 2017, proceedings from the conference held 23–28 April, 2017. Vienna, Austria, 2017. P. 9523. *(Здобувачем проведено польові дослідження, проаналізовано отримані результати, сформульовано робочу гіпотезу і взято участь у підготовці тез до друку).*

36. **Likhanov A.**, Melnychuk M., Kliuvadenko A. Parthenogenesis and its role in increasing the capacity of hop (*Humulus lupulus* L.). Proceedings of the Scientific Commission: St. Stefan am Walde, Austria 25–29 June 2017. P. 105–107. *(Здобувачем проведено ембріологічні та гістохімічні дослідження рослин хмелю та підготовлено тези до друку).*

37. **Likhanov A. F.**, Burda R. I., Koniakin S. M. Biochemical profiling of shoot bark for identifying species and hybrids in the genus *Juglans*. XII International Conference «Synanthropization of Flora and Vegetation». Book of Abstracts. Uzhhorod, 2018. P. 41. *(Здобувачем виконано біохімічне профілювання рослин роду *Juglans*, проаналізовано отримані результати та сформульовано висновки).*

38. Klyachenko O., **Likhanov A.**, Miroshnyk N., Teslenko I. Biochemical stress markers of plants in conditions of forest and park ecosystems. X International Scientific Agriculture Symposium «Agrosym 2019», Jahorina, October 03–06, 2019: book of proceedings. Jahorina, 2019. P. 741–750. *(Здобувачем сформульовано робочу гіпотезу, проведено польові дослідження, виконано фітохімічне профілювання рослин, сформульовано висновки і взято участь у підготовці тез до друку).*

## АНОТАЦІЯ

**Ліханов А. Ф. Поліфункціональна організація і трансформація вторинного метаболізму деревних рослин у лісових та урбофітоценозах.** На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук зі спеціальності 06.03.01 «Лісові культури та фітомеліорація». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2021.

Дисертацію присвячено виявленню інформативних фізіолого-біохімічних маркерів і просторовому розподілу вторинних метаболітів, які пов'язані з реалізацією адаптивного потенціалу рослин. Показано, що вторинні метаболіти перидерми і кори однорічних пагонів рослин роду *Aesculus* L., *Betula* L., *Juglans* L. за якісним й кількісним складом дозволяють виявляти окремі кластери, які за таксономічними і екологічними характеристиками співпадають з секціями, що виділені за морфологічними і молекулярно-генетичними ознаками. Також визначено, що гібридні форми, які спорадично виникають у процесі натуралізації інтродукованих видів родового комплексу *Juglans*, характеризуються зниженим вмістом флавоноїдів, що може суттєво впливати на їхню індивідуальну стійкість та інвазійний потенціал. З'ясовано, що просторовий розподіл фенольних сполук у листках рослин має тканино-специфічну і градієнтну залежність та забезпечує захист тканин від фітопатогенів і надлишкової інсоляції. Визначено просторово детермінований і недетермінований механізми конституційної та індукованої стійкості рослин роду *Aesculus* проти гусениць *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic.

Виявлено біохімічні маркери, які свідчать про деструктивні процеси в деревині *Quercus robur* L.

Розроблено функціональну модель тканинних бар'єрів перикарпіїв деревних видів рослин, біологічне значення яких залежить від концентрації і просторового розподілу ендометаболітів у тканинах плодів.

Доведено, що у насадженнях *Fagus sylvatica* L. відсутність трав'янистого ярусу зумовлена переважно біогенною трансформацією едафічних умов едифікатором через тривале підкислення ґрунтів продуктами листового опаду і створення комплексу умов для домінування мікроміцетів, які виділяють у ґрунт фітотоксичні сполуки.

**Ключові слова:** адаптація, біохімічний профіль, вторинні метаболіти, деревні рослини, калюсогенез, мінливість, морфогенез, ризогенез, фенолкарбонові кислоти, флавоноїди.

## АННОТАЦИЯ

**Лиханов А. Ф. Полифункциональная организация и трансформация вторичного метаболизма древесных растений в лесных и урбофитоценозах.** На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.03.01 «Лесные культуры и фитомелиорация». Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины. Киев, 2021.

Диссертация посвящена выявлению наиболее информативных физиолого-биохимических показателей реализации адаптивного потенциала растений. Показано, что вторичные метаболиты перидермы и коры однолетних побегов аборигенных и интродуцированных видов рода *Aesculus* L., *Betula* L., *Juglans* L. по их качественному и количественному составу позволяют выделять отдельные кластеры, которые по таксономическим и экологическим характеристикам совпадают с секциями, сформированными по морфологическим и молекулярно-генетическим признакам. Разработана новая система подвижной фазы для хроматографического разделения продуктов вторичного метаболизма, позволяющая выявлять специфические биохимические маркеры гибридных форм растений рода *Aesculus*. С помощью методов биохимического профилирования перидермы и коры зимующих однолетних побегов у видов и гибридов *Juglans* обнаружены консервативные и вариативные составляющие вторичного метаболизма. Впервые показано, что гибридные формы, которые возникают вследствие натурализации интродуцированных видов родового комплекса *Juglans*, характеризуются пониженным содержанием флавоноидов, что способно существенно влиять на их индивидуальную устойчивость, экологическую пластичность и инвазивный потенциал. Для эволюционно более молодых видов растений в пределах рода *Betula* секции *Albae*, а также видов рода *Juglans* секций *Juglans* и *Rhysocaryon* характерен широкий спектр флавоноидных соединений и их конъюгатов. Тенденция к увеличению доли флавоноидов в тканях древесных растений может свидетельствовать об общей тенденции к усложнению системы регуляции клеточного метаболизма с увеличением разнообразия молекулярных комбинаций низкомолекулярных регуляторов, обеспечивающих стабильность внутриклеточных процессов независимо от условий внешней среды.

Показано, что физиологическая активность оксibenзойных и оксикоричных кислот в концентрации 1 мМ/л зависит от количества и положения заместителей в структуре молекул. Электронодонорные заместители первого рода (метильные и гидроксигруппы) усиливают каллюсогенез у растений *in vitro*. Установлено, что увеличение количества гидроксигрупп в структуре ароматического кольца (галловая кислота) замедляет фенольный синтез, что особенно актуально для микрклонального размножения растений.

Установлено, что амплитуда вертикальной (ярусной) изменчивости содержания фенольных соединений в листьях древесных растений является показателем чувствительности растительного организма к градиенту экологических факторов. Так, индекс соотношения содержания флавоноидов к общим фенолам и катехинам в листьях *Aesculus hippocastanum* L., *Acer platanoides* L., *Betula pendula* Roth. имеет обратную связь с высотой их расположения в кроне, что обеспечивает растениям защиту от избыточной инсоляции, перепадов влажности воздуха и температуры. Показано, что для растений-интродуцентов ярусная изменчивость распределения вторичных метаболитов в листьях является информативным показателем адаптационного потенциала вида.

Определены пространственно детерминированные и недетерминированные механизмы конституционной и индуцированной устойчивости растений рода *Aesculus* к гусеницам *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic. Доказано, что основной системой устойчивости этих растений к филофагу является прочность антиклинальных стенок эпидермиса, а также способность образовывать в клетках камедеподобные субстанции. Показано, что гусеницы *Cameraria ohridella* нейтрализуют токсичные фенольные соединения листьев *Aesculus hippocastanum* преимущественно благодаря энтеробактериям, которые имеют для этого соответствующие ферментные системы.

Установлено, что скрытые пороки древесины *Quercus robur* L. сопровождаются накоплением специфических продуктов биодеструкции древесины, в частности елаговой кислоты, которые посредством дальнедистантного транспорта перемещаются по растению и вызывают изменения во вторичном метаболизме листьев, которые могут быть использованы при диагностике патогенеза.

Разработана функциональная модель формирования метаболитами перикарпиев эндо- и экзогенных барьеров, эффективность которых зависит от концентрации и пространственного распределения веществ в тканях плодов. Показано, что водные экстракты плодов *Betula pendula*, *Acer platanoides*, *Fraxinus excelsior* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Gleditsia triacanthos* L. обладают селективной антибактериальной и антифунгальной активностями по отношению к потенциально опасным для растений фитопатогенам и к конкурентам за экологическую нишу.

Предложена модель, описывающая формирование синфитогенных аллелопатических зон, активность которых аддитивно растет в результате смешивания листового опада нескольких растений эдификаторов. Установлено, что существенное замедление процессов формирования синузидов трав, а также мертвопокровности на значительной территории монодоминантных буковых насаждений в Национальном природном парке «Голосеевский» (г. Киев) обусловлено сложным комплексом абиотических и биотических факторов, степень влияния которых меняется в результате длительного действия компонентов лесного биоценоза. Последнее приводит к подкислению почвы и превышению в ней допустимых концентраций ионов свободного алюминия и марганца, а также доминированию в почве микромицетов, выделяющих чрезвычайно токсичные для корневых систем экзометаболиты.

**Ключевые слова:** адаптация, биохимический профиль, вторичные метаболиты, древесные растения, изменчивость, каллюсогенез, морфогенез, ризогенез, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды.

## ANNOTATION

**Likhanov A. F. Polifunctional Organisation and Transformation of the Secondary Metabolism of Woody Plants in the Forest and Urbophytocenoses. The Manuscript.**

Thesis for a Doctor of Biology degree by specialty 06.03.01 «Forest Plantations and Phytomelioration». The National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2021.

The thesis is dedicated to the identification of informative physiological and biochemical markers and the spatial distribution of secondary metabolites, which are associated with the realisation of the adaptive potential of plants. The qualitative and quantitative composition of the secondary metabolites of the periderm and bark of annual shoots of *Aesculus* L., *Betula* L., *Juglans* L. plants allow identifying individual clusters, which in taxonomic and ecological characteristics coincide with sections isolated by morphological and molecular genetic traits. The study also revealed that hybrid forms arising spontaneously during naturalisation of introduced species of the genus complex of *Juglans* L. are characterized by a reduced content of flavonoids, which can significantly affect their individual stability and invasive potential. It was found that the spatial distribution of phenolic compounds in plant leaves has a tissue-specific and gradient dependence and protects tissues from phytopathogens and excessive insolation. Spatially determined and undetermined mechanisms of constitutional and induced resistance in plants of the genus *Aesculus* against caterpillars of *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic were defined.

Biochemical markers related to destructive processes in the wood of *Quercus robur* L. have been identified.

A functional model of pericarp tissue barriers has been elaborated, the biological significance of which depends on the concentration and spatial distribution of endometabolites in fruit tissues

It was proved that the absence of grass layer in the *Fagus sylvatica* L. plantations is mainly caused by the biogenic transformation of edaphic conditions by edicator due to long-term acidification of soils by leaf fall decomposition products and creation of conditions for domination of micromycetes releasing phytotoxic compounds into the soil.

**Key words:** adaptation, biochemical profile, secondary metabolites, woody plants, callusogenesis, variability, morphogenesis, phenolcarboxylic acids, flavonoids.

Підписано до друку 23.02.2021 року.      Формат 60x84\16  
Ум. друк. арк. 1,9                                      Обл.-вид.арк. 1,9  
Наклад 130 прим.                                      Зам. № 210078

Віддруковано у редакційно-видавничому відділі НУБіП України  
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, тел.: 527-81-55, e-mail: nubip\_druk@ukr.net  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4097 від 17.06.2011





