

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Факультет водогосподарської інженерії та екології

Кафедра екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

В.о. завідувача кафедри екології

_____ доц. Вікторія КАЦЕВИЧ

« ____ » _____ 2023 р.

Пояснювальна записка
до дипломної роботи
освітній ступінь «Магістр»

на тему: «Стійкість штучних лісосмуг з робінії звичайної (*Robinia pseudoacacia* L.) до акацієвого мінера (*Paractopa robiniella* Clemens, 1863) в умовах Степової зони України»

Виконав: здобувач вищої освіти
2 курсу, групи Ем-1-22 спеціальність
101 «Екологія»

_____ Руслан ЗОЛОТУХІН

Керівник

д.б.н., проф. Кирило ГОЛОБОРОДЬКО

Рецензент:

к.б.н., с.н.с. Ірина ІВАНЬКО

Дніпро 2023

ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Факультет водогосподарської інженерії та екології
Кафедра екології

За спеціальністю 101 «Екологія»

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

В.о. завідувача кафедри екології

_____ доц. Вікторія КАЦЕВИЧ

« ____ » _____ 2023 р.

ЗАВДАННЯ

на дипломну роботу здобувачеві вищої освіти
Золотухіну Руслану Миколайовичу

1. Тема роботи «Стійкість штучних лісосмуг з робінії звичайної (*Robinia pseudoacacia* L.) до акацієвого мінера (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) в умовах Степової зони України» затверджена наказом по ДДАЕУ від «10» жовтня 2023р. № 3057.

2. Термін здачі студентом закінченого проекту (роботи):

« 8 грудня 2023 р. »

3. Вихідні дані до проекту (роботи): дані, отримані при проходженні виробничо-технологічної практики .

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, що їх належить розробити): 1. Огляд літератури. 2. Особливості впливу життєдіяльності акацієвого мінера на фізіолого-біохімічний стан рослин робінії звичайної різного віку. 3. Методи і метериали. 4. Результати досліджень та їх обговорення. Список літератури.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень)

Таблиць – 2 Рисуноків 7

6. Консультанти по роботі, із зазначенням розділів роботи, що стосуються їх

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання: „_____” _____ 2023 р.

Керівник проекту(роботи) _____ Кирило ГОЛОБОРОДЬКО

Завдання прийняв до виконання _____ Руслан ЗОЛОТУХІН

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів дипломного роботи	Термін виконання етапів	Примітка
1	ВСТУП		виконано
2	СУЧАСНІ ІНВАЗІЇ КОМАХ ТА ЇХ ЕКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ		виконано
3	ДОСВІД ДОСЛІДЖЕНЬ ВПЛИВУ ЖИВЛЕННЯ PARESTORA ROBINIELLA (CLEMENS, 1763) НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИЙ СТАН РОБІНІЇ		виконано
4	МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ		виконано
5	ОСОБЛИВОСТІ ЗАСЕЛЕННЯ PARESTORA ROBINIELLA CLEMENS, 1863 ШТУЧНИХ ЛІСОСМУГ З РОБІНІЇ ЗВИЧАЙНОЇ		виконано
6	ВПЛИВ АКАЦІЄВОГО МІНЕРА НА СИСТЕМУ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ДЕРЕВ РОБІНІЇ		виконано
7	ВИСНОВКИ ТА СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ		виконано

Здобувач вищої освіти _____ Руслан ЗОЛОТУХІН

Керівник роботи _____ Кирило ГОЛОБОРОДЬКО

РЕФЕРАТ

Дипломна робота присвячена з'ясуванню особливостей стійкості штучних лісосмуг з робінії звичайної (*Robinia pseudoacacia* L.) до життєдіяльності акацієвого мінера (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) в умовах Степової зони України.

Робота містить 61 сторінку тексту, 2 таблиці, 7 рисунків, 65 літературних джерел. Структура роботи містить 5 розділів, у яких розкрито зміст та отримані результати проведених досліджень.

Об'єкт досліджень штучні лісосмуги з робінії звичайної.

Предмет досліджень стійкість штучних лісосмуг з робінії звичайної до життєдіяльності акацієвого мінера.

Метою роботи було визначити особливості стійкості штучних лісосмуг з робінії звичайної до життєдіяльності акацієвого мінера.

Для досягнення поставленої мети сформульовані наступні задачі:

1. Проаналізувати досвід сучасних наукових досліджень з обраної проблематики досліджень.
2. Опанувати стандартні біохімічні методи досліджень визначення стійкості організму дерева до стрес-факторів викликаних життєдіяльністю акацієвого мінера.
3. Встановити екологічні особливості заселення нових територій акацієвим мінером.
4. Дослідити основні фізіолого-біохімічні реакції робінії звичайної на живлення її листям акацієвого мінера.
5. Узагальнити отримані результати та сформулювати висновки.

Методи дослідження: ентомологічні, біохімічні, статистичні.

Ключові слова: стійкість до фітофагів, *Robinia pseudoacacia*, *Parectopa robiniella*, екологія інвазійних видів, Степова зона України.

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ІНВАЗІЇ КОМАХ ТА ЇХ ЕКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ	7
1.1. Екологічні особливості інвазій комах-мінерів	7
1.2. Інвазійні лускокрилі у Європі	9
1.3. Економічний та екологічний вплив інвазій мінерів	14
РОЗДІЛ 2. ДОСВІД ДОСЛІДЖЕНЬ ВПЛИВУ ЖИВЛЕННЯ PARESTORA ROBINIELLA (CLEMENS, 1763) НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИЙ СТАН РОБІНІЇ ЗВИЧАЙНОЇ	19
2.1. Сучасні екологічні особливості життєдіяльності робінії звичайної в новому ареалі	19
2.2. Вплив живлення гусені на антиоксидантну захисну систему листя	23
2.3. Вплив живлення гусені на процеси фотосинтезу	26
РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	31
3.1. Методи польових досліджень	31
3.2. Методика здійснення обліків мін акацієвого мінера	33
3.3. Біохімічні методи досліджень	34
3.4. Техніка безпеки роботи у науково-дослідній лабораторії	35
РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ ЗАСЕЛЕННЯ PARESTORA ROBINIELLA CLEMENS, 1863 ШТУЧНИХ ЛІСОСМУГ З РОБІНІЇ ЗВИЧАЙНОЇ	37
РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ PARESTORA ROBINIELLA CLEMENS, 1863 НА СИСТЕМУ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ДЕРЕВ РОБІНІЇ ЗВИЧАЙНОЇ РІЗНОГО ВІКУ	42
5.1. Особливості реакції пероксидазної системи робінії звичайної на живлення гусені робінієвого мінера	42
5.2. Вплив живлення гусені робінієвого мінера на ізоферментний склад бензидин-пероксидази	47
ВИСНОВКИ	52
ЛІТЕРАТУРА	54

ВСТУП

Північноамериканський вид робінія звичайна (псевдоакація) (*Robinia pseudoacacia* L.) в даний час є найбільш поширеним адвентивним деревним видом в Європі. Це посухостійкий, швидкозростаючий вид із широкою екологічною амплітудою у відношенні ґрунтових умов, насадження з якого відіграють важливу роль в економіках багатьох країн і виконують велику кількість необхідних екосистемних функцій: секвестрація вуглецю, збагачення ґрунтів азотом, захист ґрунтів від ерозії, полезахисні функції, оптимізація мікроклімату, виробництво біоенергії та деревини, тощо.

Раніше вважалося, що одна з основних причин тривалого періоду існування стійких популяцій робінії у вторинному ареалі може бути відсутність природних ворогів поза межами природного ареалу. Але на початку XXI ст., як і для інших масово інтродукованих дерев, для *R. pseudoacacia* на території України почали фіксуватись переважно спеціалізовані фітофаги, інвазії яких почали викликати фіто-санітарну загрозу для нормального існування.

Дослідження на території України показали, що в першу чергу два види з родини молей-строкаток (*Lepidoptera: Gracillariidae* Stainton, 1854) наразі є головним фіто-санітарним ризиком існування робінії звичайної в українському ареалі. Серед комплексу фітофагів-інвайдерів *R. pseudoacacia* найбільшими масштабами інвазії в Україні характеризується акацієвий мінер (*Parectora robiniella* (Clemens, 1863)).

Отже, метою роботи було визначення особливостей впливу життєдіяльності акацієвого мінера на стійкість штучних різновікових насаджень з робінії звичайної.

1. СУЧАСНІ ІНВАЗІЇ КОМАХ ТА ЇХ ЕКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

1.1. Екологічні особливості інвазій комах-мінерів

Комахи є одними з найчисленніших інвазивних класів у всьому світі, і кількість нових вторгнень зростає експоненціально (Seebens et al. 2018), що представляє глобальну загрозу для економіки та навколишнього середовища (Aukema et al. 2011).

Тільки в Європі близько 20 нових чужорідних комах виявляється щороку, тобто приблизно вдвічі більше як чотири десятиліття тому (Aukema et al. 2011). У Північній Америці, понад 450 чужорідних комах заселили ліси та міста дерев і 14% цих комах завдають значної шкоди деревам.

Більшість з інвазійних фітофагів - це травоядні тварини, які подорожували як забруднювачі на рослинах-господарях, і хоча фітосанітарні правила стали суворішими торгівля живими рослинами, зокрема для декоративного призначення, залишається основним шляхом інвазії для комах (Shupranova et al. 2019).

Серед інвазійних травоядних комах представлені мінери - важлива група. Багато мінерів відомі як важливі економічні шкідники сільськогосподарських культур, тоді як інші загрожують лісам і міським рослинам. Личинкимінерів живуть всередині листка тканини, що живляться паренхімою або епідермісом, будуючи порожнини, які називаються мінами (Shupranova et al. 2019).

Таки спосіб існування відомий для чотирьох рядів комах, тобто для лускокрилих, перетинчастокрилих, твердокрилих та двокрилих, що нараховує понад 10 000 видів у всьому світі (Aukema et al. 2011). Міни

часто видоспецифічні й можуть надати діагностичний інструмент для ідентифікації виду (Seliutina et al., 2020).

У той час як багато видів проводять всю свою личинкову стадію, викопуючи тканину листя та живучи в мінах, личинки інших видів мінерів виключно в молодих стадіях, а потім продовжують свій розвиток зовні прихований у корпусках, конструкціях листя або вільно на поверхні листка. Завдяки їх ендofільному способу життя, мінери, як правило, специфічні для них рослини-господарів, переважно, на рівні роду, але, звісно, є винятків (Seebens et al. 2018).

Останніми роками мінери привернули велику увагу через збільшення кількості вторгнень. Багато інвазійних мінерів колонізували важливі лісові, декоративні та садові дерева та кущі, спричиняючи тривалий спалахи та серйозні економічні та екологічні наслідки.

Деякі інвазійні мінери дуже швидко поширилися по всій території континенту (Seliutina et al., 2020). Крім того, занепокоєння широкої громадськості викликають мінери оскільки вони легко помітні, особливо коли вони впливають на високоцінні декоративні та міські дерева (Seliutina et al., 2020).

Переважає більшість відомих видів є інвазивними або в Європі, або в Північній Америці. Це географічне упередження відображає той факт, що більшість наукових робіт з інвазійних видів виконано в цих двох континентах.

Незрозуміло, стан справ з інвазій листових мінерів на деревних рослинах інших континентів, зокрема в Африці, Азії та Південній Америці, чи справді результати через відсутність вторгнень інвазійних видів або через те, що інвазійні мінери не були помічені в цих регіонах.

1.2. Інвазійні лускокрилі у Європі

Більшість листомінуючих комах належать до *Lepidoptera*. Ці види утворюють комплекс з близько 40 родин й відрізняються великою різноманітністю мінування листя (De Prins, De Prins 2018). Більшість листомінуючих інвазійних молей на деревних рослинах належать *Gracillariidae*. Нижче ми проаналізуємо шість прикладів інвазій молей що належать до *Gracillariidae*.

Мінер кінського каштана *C. ohridella* є однією з найкращих відомих інвазійних молей в Європі завдяки швидкому розповсюдженню та вражаючій шкоді каштану кінського, високо цінване і поширене тіньове дерево в Європі, що походить з Балкан.

Вид описано з Македонії у 1980-х роках (Deschka and Dimić 1986). Відтоді *C. ohridella* швидко поширилася більшою частиною країни Європі, і в даний час зустрічається від Великобританії до заходу Росії і від Фінляндії до Італії та Іспанії (De Prins J, De Prins 2018).

Його походження залишалося неясним більше двох десятиліть. Гіпотези припускали, що *C. ohridella* може бути реліктом льодовикового періоду, як дерево-господар (Deschka and Dimić 1986), неєвропейський мінером (Seliutina et al. 2020), або видом, який нещодавно перейшов від видів клена, *Acer spp.*, які є випадковими господарями.

Молекулярний дослідження остаточно показали значне зменшення генетичного різноманіття цього виду в більшій частині Європи порівняно з природними насадженнями кінського каштана в Балканських горах, що свідчить про балканське походження.

Спостереження гербарного матеріалу підтверджено наявність виду у природних насадженнях кінського каштана в Албанії та Греції на принаймні з 1879 року (Lees et al. 2011). Проте причина для його

нещодавнє і швидке поширення з Балкан на решту Європи залишається загадкою. *Cameraria ohridella* поширюється через пасивне транспортування уражених фрагментів листя та імаго молі на автомобілях, вантажівках та інших транспортних засобах, а також через переміщення заражених саджанців.

Мінер пошкоджує деякі, але не всі види роду *Aesculus*, тоді як пошкодження *Acer* spp. є незначним (De Prins J, De Prins, 2018). Зазвичай генерує два-три покоління на рік і зимує на стадії лялечки в опалому листі. *Cameraria ohridella* досяг щільності спалахів у багатьох країнах Європи незабаром після його вторгнення, завдаючи серйозної естетичної шкоди кінського каштана.

Багатовольтність, висока плодючість і низький вплив природних ворогів можуть пояснити стійкість високого рівня населення в Європі (De Prins J, De Prins, 2018). Однак у молі мінімальний вплив на силу дерева-господаря. Крім того, естетичні пошкодження хутра влітку можна запобігти видалення мертвого листя попередньої осені (Shupranova et al. 2019). Застосовують стеблову ін'єкцію системних інсектицидів деякі країни охороняють високоцінні дерева.

Липовий мінер (*Ph. Issikii*), походить зі Східної Азії (Японія, Південна Корея, Далеке Росія) (De Prins J, De Prins 2018), який нещодавно поширився на західну Палеарктику.

Вперше він з'явився в 1980-х роках на плантаціях у Москві (Kirichenko et al., 2013) і швидко поширився всюди Європи до Бельгії (Kirichenko et al., 2017). Філогеографічні дослідження виявили високу генетичну різноманітність у Європі порівняно до Східної Азії, що передбачає численні інтродукції (Kirichenko et al., 2017).

Дослідження історичних гербарних колекцій підтверджує гіпотезу про недавню появу *Phyllonorycter* у західній Палеарктиці та її

довгострокову присутність у Східній Азії, зокрема в Китаї, звідки комаха раніше не було відомо.

Комаха монофаг на листі роду *Tilia* spp. Гусінь розвивається від одного до трьох поколінь, личинки живуть і заляльковуюється в плямові міни. Дорослі особини пересуваються лише на невеликі відстані до 1 км (САВІ 2018). Розсіювання на великі відстані найбільше ймовірно, через рослинний матеріал або через транспортування дорослі особини, які зимують у щілинах та інших укриттях і можуть легко транспортувати в контейнерах (De Prins J, De Prins 2018).

Phylloryster issikii завдає переважно естетичної шкоди до лип у міських парках і садах. Це може також впливають на природні насадження, зменшуючи ріст. У Західному Сибіру шкідник загрожує вразливим третинним реліктовим липовим гаям, пам'яткам природи та зони управління середовищем існування/видами (Kirichenko et al. 2017).

Методи управління для популяцій цього шкідника не розроблені. Пестициди не підходять, оскільки в основному комахи вражає міські дерева або насадження, які використовуються для виробництва меду. У в ареалі інвазії відомо принаймні 43 види паразитоїдів проти 13 у рідному ареалі, але останнього було значно менш вивчені (De Prins J, De Prins 2018).

Мінер *Ph. leucographella*, є видом родом із Середземноморської Європи та Західної Азії. Оскільки у 1970-х роках воно поширилося на Північ, Захід і Центр Європа аж до Швеції та Великобританії, швидше за все через торгівля декоративними рослинами.

Хоча личинки можуть добувати багато видів всередині сімейства *Rosaceae*, основним хазяїном якого є терен, *Rugosanthia coccinea*, популярний декоративний кущ у Європі.

Личинки утворюють плямисту міну, в якій вони зимують. Зазвичай відбувається два покоління на рік. Пошкодження від молі в основному

естетична. Екологія інвазії *Ph. leucographella* була виявлена особливо добре вивчені у Великобританії. Його поширення відбулося на швидкість 10,3 км на рік, частково за рахунок транспорту рослини-господарі (Na De Prins J, De Prins 2018). Менш ніж за десять років молі набрано 16 місцевих видів паразитоїдів, які забезпечили значний контроль.

Розмір скупчення паразитоїдів було неможливо відрізнити від місцевих споріднених видів. Найважливішими паразитоїдами *Ph. leucographella* були пов'язана з мінуючими, які мали екологічні особливості в спільне з загарбником.

Macrosaccus robiniella, раніше відомий як *Phyllo porycter robiniella*, є північноамериканським листовертом, який інвазивні в Європі. Вид вперше був помічений у Швейцарії в 1983 році і зараз знайдений у 23 країнах Європи (De Prins and De Prins 2018).

Комаха є монофагом щодо *Robinia* spp. Його основним господарем є північноамериканська сарана, *R. pseudoacacia*, яка є широко поширені в Європі (De Prins і De Prins 2018). Шлях інтродукції до Європи невідомий; однак, можливо, він прибув із Північної Америки через торгівля рослинами. У межах Європи моль, ймовірно, поширилася себе, в тому числі через пасивне розсіювання вітром, оскільки робінія звичайна поширена вздовж доріг.

Однак, поширюється через транспортування живих рослин влітку або через випадкове перевезення дорослих у транспортних засобах також ймовірно. Зимівля відбувається на дорослій стадії, тому лялечки не можуть транспортуватися в мертвому листі, як в інших *Gracillariidae* (Kirichenko et al, 2013).

Macrosaccus robiniella має два-три покоління на рік в Європі, утворюючи плямисті шахти, в яких заляльковується. При високій щільності пошкодження молі може призвести до передчасного опадання листя або в середині літа.

Robinia pseudoacacia – це важлива промислова порода дерев через швидкий ріст і деревину якості в деяких європейських країнах (Csóka et al. 2009). Це також є гарним джерелом нектару для медоносних бджіл і цінується декоративне дерево.

Таким чином, *M. robiniella* має здатність вплинути на естетичну цінність дерева та хронічна дефоліація може вплинути на продуктивність дерев. однак, у багатьох європейських країнах його господарське дерево також вважається як інвазійний вид, оскільки він випереджає місцеві рослини і змінює хімічний склад ґрунту (De Prins J, De Prins 2018).

Загалом проти цього мінера не використовується жоден метод управління. Відомо понад 30 європейських паразитоїдів від цього шкідника (Csóka et al. 2009). Паразитизм може мати й значний вплив на популяції мінерів, причому показники паразитування можуть сягати 60%, як в Італії (Csóka et al. 2009). Всі паразитоїди види, вирошені з *M. robiniella*, є загальними, розвиваються на місцевих *Gracillariidae*, пов'язаних з іншими деревними рослинами.

Цитрусова міль (*Ph. citrella*), забезпечує надзвичайний приклад глобального вторгнення. Цей вид, який походить з Південно-Східної Азії, почав своє поширення в 1990-х роках, коли він був першим знайдений у Флориді. Менш ніж за 20 років він заповнив усі цитрусові виробничі зони в усьому світі стали основним шкідником цитрусових (CABI 2018). Шляхи впровадження не є точними відомий, але мінер часто перехоплювався садовий інвентар, у тому числі на декоративних рослинах.

Личинки також може подорожувати у шкірці фруктів. *Phyllocnistis citrella* харчується переважно видами *Citrus*.. Змієподібні міни виникають переважно на нижній поверхні листя, рідко на шкірці плодів, що ростуть (Kirichenko et al., 2017). Личинки заляльковуються всередині міни.

Кількість поколінь змінюється залежно від кліматичних умов, але може досягати 13 у тропічному кліматі (CABI 2018). *Phyllocnistis citrella* є

важливим шкідником цитрусових фруктові сади та декоративні насадження по всьому світу (САВІ 2018). Сильне зараження призводить до некрозу листя та опадання, зниження фотосинтезу, росту та виробництва плодів (Csóka et al. 2009). Цитрусові розсадники уражені більше ніж дорослі насадження, тому що молоді дерева особливо вразливі (De Prins J, De Prins 2018).

Крім того, пошкодження викликані мінером, надає вхідний порт для збудника патогенів, включаючи інвазійні азіатські бактерії *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, які викликають рак цитрусових. Втрата доступу до міжнародних ринки через проблеми з карантинном також мали серйозні економічні вплив, але зараз він менший, оскільки має мінер захопили майже всі можливі зони виробництва цитрусових (САВІ 2018).

Як і для багатьох інвазійних шкідників, існує біологічний контроль який широко практикується. У всьому ареалі *Ph. citrella* може бути атаковано більш ніж 80 перетинчастокрилими паразитоподібними.

За останні два десятиліття декілька паразитоїди були завезені в різні частини світу, із задовільними результатами. Приклади успішного контролю включають ті, що надаються *Citrostichus phyllocnistoides* in Іспанія і *Ageniaspis citricola* в Флорида (De Prins J, De Prins 2018).

1.3. Економічний та екологічний вплив інвазій мінерів

У інвазійних комах шляхи інтродукції зазвичай точно не визначені (Aukema et al. 2010). В минулому, трансконтинентальні переміщення інвайдерів, швидше за все відбувались через транспортування рослин або рослинної продукції. Однак зараз посадковий матеріал зазвичай продають без листя і ґрунту.

Таким чином, кілька останніх трансконтинентальних інтродукцій мінуючих фітофагів, ймовірно, відбулося іншими шляхами. Наприклад, О.

fagi, можливо, прибув з Європи до Канади на фазі дорослих особин, які заховались у контейнерах. *Antispila oinophylla* імовірно потрапив із США до Європи на личинкових стадіях або у лялечках прикріплені до рослин, що продаються, або до інших субстратів.

У межах континенту розповсюдження може тривати набагато легше і може статися по-різному. По-перше, хоча більшість дорослих особин не залітають далеко, поширюватися повітряними потоками не повинно враховуватись, особливо з лускокрилими. Імаго також можуть перевозити транспортними засобами як у випадку з *C. ohridella* або *Ph. issikii* (Aukema et al. 2010).

Деякі види зимують в мертвому листі, що також може бути транспортується транспортними засобами (Kirichenko et al. 2013). Однак для багатьох видів основним засобом поширення на великі відстані є торгівля або переміщення рослин-господарів. Найбільш інвазійні види нападають на декоративні рослини, які зазвичай переміщувалися в межах континентів без контролю.

Кілька інвазійних видів деревних рослин мали серйозні наслідки впливу на економіку. Винятком є *Ph. citrella*, що загрожувала цитрусовій промисловості в усьому світі. Більшість інвазійних мінерів атакує декоративні рослини, а отже, і витрати зазвичай несуть контрольні заходи та заміну дерев муніципалітетами та садівниками.

Наприклад, на початку 2000-х років боротьба з *C. ohridella* у Німеччині коштує від 10,0 до 33,8 мільйонів євро на рік. Витрати на заміну усіх кінських каштанів становитиме 10,7 мільярдів, але цей сценарій є нереалістичним (Shupranova et al. 2019).

Слід зазначити, що такі дерева, як кінський каштан, мають високу культурну цінність, а їх прогресивна заміна має соціальну вплив, який не можна легко виміряти в грошовій формі. Деякі мінувальники, такі як *Ph.*

issikii, також може серйозно вплинути на виробництво меду зниження нектароутворення.

Оскільки навряд чи інвазивні мінувальники вбивають дерева-господарі, і більшість атакує переважно декоративні дерева, їх екологічність вплив, мабуть, досить обмежений. Однак *O. fagi* є а помітний виняток, оскільки важкі інвазії призводять до важких смертність дерев (Kirichenko et al. 2017). Потрібно здійснювати більше досліджень, які б змогли оцінити екологічні наслідки загибелі бука, у тому числі через каскадний вплив на біорізноманіття та екосистемні функції в екосистемах бука. Теоретично також можуть вплинути постійні спалахи чисельності інвазійних мінерів місцевої фауни через непрямі взаємодії, зокрема через очевидну конкуренцію через природних ворогів.

Réré та ін. (2010) показали, що щільні популяції *C. ohridella* мали негативний вплив на популяції місцевих мінерів в безпосередній близькості від кінського каштана, але наступного дослідження не змогло показати роль очевидної конкуренції спільні паразитоїди в цьому ефекті (Aukema et al., 2011).

Порівняно з іншими групами комах, інвазійні мінери добре засвоюються місцевими паразитоїдами в інтродукційному діапазоні. Це пов'язано з тим фактом, що більшість паразитоїдів мінерів зазвичай є загально спеціалізованими щодо личинок, які мають подібні екологічні ніші або на таксономічно споріднених господарях.

Коли близькоспоріднені мінери зустрічаються в інтродукційному діапазоні, паразитоїдна сукупність швидко перебудовується на утворений видовий комплекс, наприклад я у випадку із *Phyllonorycter leucographella* та *Phyllonorycter platani* у Великобританії або *M. robiniella* в Європі (Csóka et al., 2009).

У деяких випадках місцеві паразитоїди достатньо ефективні для підтримки інвазії мінер під контролем. Природний контроль може статися

дуже швидко після вторгнення, як це спостерігалось при ураженні листя *Phyllocnistis vitegenella* Clemens, північноамериканська мінуючи міль, яка вторглася у виноградники Європи на початку 1990-х і швидко потрапив під контроль місцевих паразитоїдів.

Однак це може статися і після кількох десятиліть серйозних пошкоджень, як у випадку з *P. thomsoni* в Канаді (Aukema et al. 2010).

В інших випадках паразитоїдного комплексу недостатньо для контролю інвайдерів. У Центральній і Західній Європі *S. ohridella* піддається нападів десятків паразитоїдів без будь-якого явного впливу на її популяцію (García et al. 2023). У Північній Америці, 28 місцевих видів паразитів атакують європейську *Fenusa rubra* принаймні іноді, але контроль був досягнутий лише введенням *L. nigricollis*, спеціалізованого паразитоїда з Європи.

В інших випадках, коли немає екологічно чи таксономічно близьких видів які зустрічається в інтродукційному ареалі, паразитоїдний комплекс залишається бідним. Наприклад, у Новій Зеландії, інвазія дубової молі мнера *Phyllonorycter messaniella* (Zeller) не була зустріти ніяким видом місцевого паразитоїда, тому що немає *Phyllonorycter* або близькоспорідненого роду у фауні в Новій Зеландії. Контроль досягався введенням двох паразитоїдів з Європи, які знизили середні рівні популяції від 40+мін на листок до 2,3 хв (García et al. 2023).

Класичний біологічний контроль був повністю або частково успішним з низкою інвазійних мінерів. Проте, останніми роками застосування його стало набагато суворіше, і лише природні вороги достатньо специфічні, щоб запобігти нецільовому впливу на місцеві фауни, у результаті чого, тепер багато видів дозволено для інтродукції (García et al. 2023).

У деяких листовертках, зокрема *Gracillariidae*, пошук специфічних паразитоїдів може бути складним завданням. В інших, наприклад,

листомінуючих пильщиків, паразитоїдний комплекс часто ідентифікують спеціалісти. У будь-якому випадку біологічний контроль необхідно розглядати як варіант проти інвазійних мінерів, коли їх вплив особливо сильний, наприклад, *O. fagi* в Канаді.

Незалежно від статусу шкідників, мінери є чудовими моделями вивчати біологічні інвазії та перевіряти гіпотези інвазії в екології. Дійсно, мінери особливо легко відібрати і вони можуть бути ідентифіковані до морфовидового рівня на основі їх мін, навіть коли вони залишили свою господарську рослину. Їх парасітоїди також легко дістати та виростити. Крім того, мінери є хорошими моделями для громадянської науки, оскільки широка громадськість може легко спостерігати за їх життєдіяльністю, наприклад фотографувати.

Наприклад, протягом двох десятиліть *C. ohridella* активно використовувався для вивчення шляхів інвазії та філогеографії (García et al. 2023), механізмів поширення і моделей поширення, очевидні конкуренція та вплив на місцеві види, трофічні взаємодії між інвазивними видами і місцеві природні вороги.

2. ДОСВІД ДОСЛІДЖЕНЬ ВПЛИВУ ЖИВЛЕННЯ PARECTORA ROBINIELLA (CLEMENS, 1763) НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИЙ СТАН РОБІНІЇ ЗВИЧАЙНОЇ

2.1. Сучасні екологічні особливості життєдіяльності робінії звичайної в новому ареалі

Глобалізація господарської діяльності та пов'язана з нею інтенсифікація транспортних потоків полегшує проникнення чужорідних для регіональних фаун видів тварин, загострюючи багатогранну проблему біологічних інвазій (Koch et al., 2016). Розповсюдженню інвазій сприяє також інтродукція рослин, які є кормовими об'єктами для спеціалізованих фітофагів (Guo et al., 2022).

На території України досить широко присутня в зелених насадженнях звичайна або біла акація (*Robinia pseudoacacia* L.). Природний ареал проростання, робінії звичайної знаходиться у Північній Америці, звідки вид вперше був завезений до Франції в 1601, і потім інтродукований в багато країн Європи. Передбачається, що широка інтродукція білої акації на територію Білорусі здійснювалася наприкінці 40-х років. XX сторіччя (Luhová et al., 2002).

Робінія звичайна спочатку використовувалася для закріплення ґрунтів уздовж ерозійно небезпечних схилів. Вона досить невибаглива і росте на малопродатних для сільськогосподарських культур ділянках, що й сприяло успішній натуралізації даної рослини. В даний час вид широко представлений у різного типу зелених насадженнях, особливо у південних та центральних регіонах держави.

Успішно адаптувавшись до місцевих умов, робінія почала проникати в природні лісові масиви. Аналогічна ситуація спостерігається і в умовах

інших країн континенту, у зв'язку з чим ця рослина включена до списку 100 найнебезпечніших інвазивних видів Європи (McHale et al., 2006).

Північноамериканський вид робінія звичайна (псевдо акація) (*Robinia pseudoacacia* L.) в даний час є найпоширенішим адвентивним видом деревини в Європі і загальна площа його вторинного ареалу у світі оцінюється приблизно в $2,3 \times 10^6$ га (Vítková et al., 2020).

Це посухостійкий вид, що швидко зростає, з широкою екологічною амплітудою щодо ґрунтових умов (Vítková et al., 2020), насадження з якого відіграють значну роль в економіках багатьох країн і виконують велику кількість необхідних екосистемних сервісів: секвестрація вуглецю, збагачення ґрунту азотом, від ерозії, полезахисні функції, оптимізація мікроклімату, виробництво біоенергії та деревини (Środek, Rahmonov, 2020).

Однак, незважаючи на свою екологічну, соціальну та економічну значущість, *Robinia pseudoacacia* через активну популяційну стратегію та впровадження в різні типи екосистем у багатьох країнах світу визнана інвазійним видом (Vítková et al., 2020) і внесена до сучасного списку найгірших чужорідних видів у Європі, які мають найбільший негативний екологічний та соціально-економічний вплив.

Вплив насаджень *Robinia pseudoacacia* на зменшення видового багатства, уніфікацію та гомогенезацію лісової рослинності вже підтверджено для Центральної Європи (Šibíková et al., 2019; Montecchiari et al., 2020). Вважається, що акація має високий потенціал акліматизації у вторинному ареалі.

У Європі в умовах зміни клімату прогнозується зміщення її потенційних кліматичних ніш на схід з їх скороченням у Південній Європі та розширенням у Центральній та Північно-Східній Європі (Rušek et al., 2012), де в перспективі можливе нарощування її інвазійну активність.

Успішна натуралізація акації у вторинному ареалі та високий потенціал її інвазійності багато в чому визначається тим, що акація має успішні стратегії розмноження, серед яких пріоритетною є формування кореневої порослі (Vítková et al., 2020). Швидкість та інтенсивність колонізації порослю акації прилеглих біотопів багато в чому залежить від типу їхньої рослинності, наявності чи відсутності порушень ґрунтового та рослинного покриву, особливостей ведення сільськогосподарської діяльності.

Веgetативна активність акації з формуванням більшої кількості рамет збільшується в умовах високих значень освітленості на відкритих територіях і навпаки знижується при затіненні (Pitkin et al., 2019), що зменшує потенційну загрозу колонізації природних широколистяних лісів з непорушеним пологом але сприяє активному розселенню акації на прилеглих до насаджень освітлених ділянках лук, степів, узбіччя доріг тощо.

Визнано, що найчастіше і з найбільшою інтенсивністю колонізуються кореневою порослю акації кинуті сільськогосподарські землі (Vitkova et al., 2020).

Раніше вважалося, що однією з основних причин тривалого періоду існування спонтанних популяцій робінії у вторинному ареалі може бути відсутність природних ворогів поза природним ареалом (Zhu et al., 2014). Але на початку XXI ст., як і для інших масово інтродукованих дерев (Shupranova et al., 2019), для *R. pseudoacacia* на території України почали фіксуватися переважно спеціалізовані фітофаги, інвазії яких почали викликати фіто-санітарну загрозу її нормальному існуванню.

Донедавна робінія звичайна в Україні не пошкоджувалася спеціалізованими фітофагами-шкідниками (за винятком люцернової попелиці – *Aphis crassivora* Koch, 1854). Однак у XX – початку XXI

сторіччя на територію країни стали проникати чужорідні види комах – спеціалізованих фітофагів робиній.

До них відносяться білоакацієва листова галиця (*Obolodiplosis robiniae* Haldeman, 1847) (Vítková et al., 2020), білоакацієва нижньостороння мініуюча моль-пестрянкa (*Phyllonorycter robiniella* Clemens, 1859), акацієвий мінер *Paretopa robiniella* (Clemens, 1863) і білоакацієвий гомілий пильщик (*Nematus tibialis* Newman, 1837). Дані фітофаги становлять загрозу для білої акації в зелених насадженнях, оскільки при спалахах масового розмноження можуть призвести до значної втрати рослин декоративності (Holoborodko et al., 2021).

Природний ареал акацієвої молі знаходиться в Північній Америці. На території Європи вид вперше відзначається в Італії (неподалік м. Мілана) у 1970 р. В даний час *Paretopa robiniella* відзначається в Англії, Франції, Іспанії, Німеччині, Швейцарії, Австрії, Чехії, Польщі, Словенії, Словаччині, Угорщині, Хорватії, Румунії, Сербії, Болгарії, Македонії, Литві (Holoborodko et al., 2021).

Гусениці *P. robiniella*, харчуються мезофілом листових платівок білої акації. Яйце відкладається на нижню сторону листових пластинок. Після відродження личинка проникає у верхню частину листової пластинки, де відбувається її подальший розвиток.

Акацієвий мінер належить до найбільш небезпечних інвазивних видів і внесена до Чорної книги інвазивних видів тварин. Цим визначається актуальність та практична значущість вивчення особливостей біології та екології, і, зокрема, оцінки пошкодженості та заселеності гусеницями *P. robiniella* листових пластинок робинії звичайної.

Дослідження (Holoborodko et al., 2021) показали, що в першу чергу два види з родини молей-строкаток (*Lepidoptera: Gracillariidae* Stainton, 1854) наразі є головним фіто-санітарним ризиком існування *R. pseudoacacia* в українському ареалі. Серед комплексу фітофагів-інвайдерів

R. pseudoacacia найбільшими масштабами інвазії в Україні характеризується *Parectopa robiniella* (Clemens, 1863) (Holoborodko et al., 2021).

З моменту появи на території Європи *P. robiniella* є об'єктом багаточисельних екологічних і біологічних досліджень (Guo et al., 2022; Kirichenko et al., 2018). Відсутність природних ворогів і хвороб у межах нового ареалу, та майже необмежений кормовий ресурс сприяє їх швидкому і масштабному поширенню.

2.2. Вплив живлення гусені на антиоксидантну захисну систему листя

В Україні видовий склад степових лісів є обмеженим з огляду на екстремальні едафо-кліматичні умови. У зв'язку з цим важливу роль відіграє лісова інтродукція рослин, яка сприяє поліпшенню якісного складу та продуктивності лісів, створенню штучних лісових фітоценозів, які є стійкішими до несприятливих абіотичних і біотичних чинників, ніж місцеві (Gorban et al., 2020; Mathakutha et al., 2019; García et al., 2023).

У зоні Північного Степу України однією з найпоширеніших і екологічно пластичних інвазійних деревних порід є робінія звичайна (*Robinia pseudoacacia* L., Fabaceae), яка походить зі східної частини Північної Америки (Guo et al. 2018; Vítková et al., 2017). Вона вважається одним з найбільш агресивних інвазійних неофітів у Центральній Європі завдяки її пристосованості до посухи, швидкому вегетативному розповсюдженню і фіксації нітрогену, що представляють собою показники інвазійності рослин (Daehler, 2003; Rušek et al., 2012; Vuković et al. 2013). Добре себе почуває цей вид і в промислових районах міст (Samecka-Symerman et al., 2009; Serbula et al., 2012; Tzvetkova & Petkova, 2015).

Lazzaro et al. (2018) зазначають, що робінія звичайна зменшує біорізноманіття в основному через обмеження доступу світла до рослин, що ростуть під пологом, а також через зміну мікроклімату або стану ґрунту (нітрифікація та підкислення).

Усуваються типові для лісів оліготрофні та ацидофільні асоціації, починають переважати асоціації нейтрофільних бур'янів, таким чином зменшуючи різноманіття рослин (Benesperì et al. 2012; Boer 2013; Kutnar and Kobler 2013). Тим не менш, її насадження виконують багато позитивних, з точки зору надання екосистемних послуг, функцій: меліоративну, ґрунтозахисну, середовищевірну, декоративну та як добрий медонос і лікарська рослина (Vítková et al., 2017; Yang et al. 2019; Li et al. 2021).

У теперішній час велике занепокоєння викликає широке розповсюдження мінерів, роль яких підвищується серед інших фітофагів у зв'язку з високою здатністю пристосовуватись до достатньо високого рівня забруднення, дефіциту вологи, дії інсектицидів, а також значної кількості поколінь за рік (Голобородько та ін., 2020; Мешкова та ін., 2014).

Основу сучасного комплексу інвайдерів складають дальні вселенці, які проникли з Північної Америки, Південно-Східної Азії і Далекого Сходу, серед них – акацієвий мінер (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) з родини *Graciilariidae*, виявлений в усіх географічних зонах країни на *R. pseudoacacia*.

Гусінь цієї молі живиться мезофілом листків та утворює білуваті міни складної форми розміром близько 1,4 см². Серед факторів, що визначають ніші акацієвого мінера, найважливішими є умови, пов'язані з температурою, яка сприяє поширенню та натуралізації шкідника. В Україні поява молі збіглася з підвищенням середньорічних температур (Tytar et al., 2022).

У межах свого природного ареалу *P. robiniella* є олігофагом, який пошкоджує листя декількох деревних видів роду Fabaceae: *Robinia pseudoacacia* L., *Robinia hispida* L., *Robinia viscosa* Vent., *Amorpha fruticosa* L., *Desmodium* sp., *Galactia volubilis* (L.) Britt. і *Meibomia* sp. (Davis and De Prins, 2011).

За останні роки накопичені відомості, які вносять корективи в уявлення про систему "рослина-комаха" як про взаємодію двох організмів (Mithöfer & Boland 2012). Взаємодія між рослинами та комахами складна і включає багато факторів. Характеристики листя тісно пов'язані з реакцією рослин на навколишнє середовище, зокрема, на атаки комах-інвайдерів, та можуть надати важливу інформацію про адаптацію до стресів біотичного походження (Liu et al., 2017).

Зміни факторів навколишнього середовища, зокрема, напад рослиноїдних комах, впливають на первинний метаболізм, такий як швидкість фотосинтезу, поглинання азоту, вміст білків, антиоксидантна активність, тривалість життя дерева. Так, пошкодження листя знижує розмір фотосинтетичної поверхні і таким чином порушує весь продукційний процес рослини (Meinzer et al., 2011; Turfan et al., 2018; Zhang et al., 2018; Shupranova et., 2019).

Захисні механізми, ініційовані рослинами при інвазії трав'яїдних комах, включають розвиток морфологічних структур, будовання механічних бар'єрів з калози, суберину, лігніну, синтез токсичних вторинних метаболітів (феноли, алкалоїди, хінони тощо) і летких речовин, а також ензимів-антиоксидантів (Pentelyuk et al., 2016; Paterska et al., 2017; Seliutina et al., 2020).

Посилення синтезу останніх і підвищення їх активності є одним із найважливіших процесів захисту рослин. Вони часто зустрічаються в багатьох ізоформах і беруть участь у синтезі захисних речовин або мають

пряму антимікробну дію (Acevedo et al., 2015; Luhová et al., 2002; Zhu et al., 2014).

У теперішній час уявлення про бар'єри імуногенетичної системи рослин: морфологічних, інгібіторних та інших, доповнюються даними біохімії, генетики і молекулярної біології (Smith & Clement, 2012). Так, участь білків рослин у формуванні стійкості до патогенів добре вивчена (McHale et al., 2006).

Що стосується фундаментальних механізмів імунітету рослин по відношенню до комах, то це розуміння ще тільки формується (Wiley et al., 2017; Wang et al., 2020; Shupranova et al., 2022). Захисні реакції рослин на атаку комах-шкідників і патогенів у більшості подібні на молекулярному рівні передачі сигналу і запуску відповідних реакцій. Вважається, що жасмонова кислота керує захисними механізмами проти переважно гризучих комах (Ray et al., 2015).

Багато уваги приділяється дослідженню реакції вторинних метаболітів (феноли, хінони тощо) на ураження листя фітофагами, у той час як даних з вивчення механізму відповіді ензимної системи захисту рослин на ураження мінерів недостатньо.

2.3. Вплив живлення гусені на процеси фотосинтезу

Фотосинтез є вирішальним процесом для виживання рослини; він забезпечує необхідні елементи для росту і розмноження. Збудження хлорофілу фотонами ініціює транспорт електронів у генерації НАДФН і АТФ, які згодом споживаються рослиною для підтримки їх ріст і розвиток. Баланс може відносно легко порушитися, коли рослини піддаються впливу несприятливих екологічних умов, у тому числі біотичних стресів. Несприятливий вплив комах на фотосинтез можна пояснити теоретичною основою, заснованою на аргументі, що багатий на ресурси

фотосинтетичний апарат можна принести в жертву для забезпечення метаболічних попередників та енергію, необхідну для належного використання ресурсу (Canbolat, 2012).

Оскільки фотосинтез є основою формування енергетичного потенціалу рослин, його реакцію на інтенсивність будь-якого впливу можна вважати найважливішою характеристикою стійкості рослин до цього фактора. Причини порушення процесів первинного фотосинтезу зміни у флуоресценції хлорофілу, які з'являються довго-тривалими перед видимим погіршенням проявляється співвідношення фізіологічного стану рослини.

При фізіологічно оптимальних температурах, флуоресценція випромінюється головним чином реакційними центрами фотосистеми II хлорофілу «а» в діапазон довжин хвиль 670–750 нм (Fernández-García et al., 2004). Рівень флуоресценції залежить обернено від інтенсивності фотохімічних реакцій; отже, чим менше фотохімічна робота, тим вище флуоресценція.

Для життєздатної фотосистеми II характерна слабка флуоресценція, а сильна – сильна для ослабленої або пригніченої фотосистеми II фотосинтез є одним із процесів, найбільш вразливих до біотичних стресових факторів, тому це дуже цінна інформація.

Вплив на стан фотосинтетичного апарату рослини під дією фітофага живлення можна отримати за допомогою флуоресцентного аналізу. Швидке вимірювання фотоіндукції флуоресценції хлорофілу є одним із найефективніших методів, призначених для виявити вплив комах-фітофагів на фізіологічний стан деревних рослин (Paterska et al., 2017).

Дослідження індикаторів флуоресценції хлорофілу дозволяють отримати інформацію про зміни в процесах фотосинтезу як пов'язаних з розвитком адаптаційного синдрому, так і з необоротним пошкодженням фотосинтетичного апарату рослин. Таким чином, це дозволяє нам

отримати об'єктивну характеристику стабільності досліджуваних видів рослин (Canbolat, 2012).

Дослідження інтенсивності флуоресценції хлорофілу є сучасним інформативним методом застосовні до біомоніторингу (Zhao et al., 2016).

Відомо, що діяльність комах-фітофагів також може змінювати розвиток рослинні тканини. Petanovic і Kielkiewicz (2010) показали, що ранній розвиток галу кліща викликає інтенсивна проліферація клітин епідермісу і дедиференціація клітин з паренхіми в меристематичні клітини; проліферація зменшилася з дозріванням жовчі, і відбулася лігніфікація (Yang et al., 2010). Проте гали листя, викликані кількома організмами, часто залишаються зеленими, містить хлорофіл і, можливо, може сприяти фотосинтезу листя.

Було навіть припущення, що зелені гали можуть бути самопідтримуваними і не обов'язково такими вплив на фотосинтез листя рослини-господаря (Yang et al., 2010; Usha et al., 2010; Zhao et al., 2016). Підтримання активного фотосинтезу при фізіологічному стресі зазвичай відбувається пов'язані з розвитком стійкості рослин до несприятливих біотичних факторів середовища, таких як діяльність видів комах. Значне зниження фотосинтезу та продигової провідності були зареєстровані в *Tilia cordata* Mill. листя, заражені кліщами, що утворюють галл і ерінеум (Yang et al., 2010).

У клена цукрового спостерігається пригнічення фотосинтезу, спричинене веретеноподібним кліщем. Клен цукровий болотний. дерева вже мають дуже низький (1% площі листя) рівень жолоблення (Yang et al., 2010). Це узгоджується з результатами наших досліджень, які показують статистично значуще зниження всі типи флуоресценції хлорофілу під впливом комах-фітофагів *P. robiniella*.

У старих дерев різниця в цьому коефіцієнті між еталонним і пошкодженим деревом груп була менш вираженою. Подібна тенденція

була продемонстрована в деяких роботах (Usha et al., 2010), де зниження цього коефіцієнта під впливом середовища факторів було показано.

В результаті досліджень впливу *Cameraria ohridella* Desch. & Dim. на фотосинтез *Aesculus hippocastanum* L. (Seliutina et al., 2020), отримано дані, що підтверджують зниження квантової ефективності ФС II у листках різних частин крони дерева, що свідчить про руйнівну дію живлення гусениць на фотосинтетичний апарат.

За умови, коли всі реакційні центри фотосистеми II здійснюють фотохімічні процеси фотосинтетичні канали переносу електронів відкриті, максимальна енергія збуджених електронів становить витрачається на процес фотосинтезу, а флуоресценція хлорофілу мінімальна.

Беручи до уваги дослідження ряду науковців (Smith, Clement, 2012; Zhao et al., 2016), можна припустити, що вміст хлорофілу є показовим короткочасним індикатором стану деревних видів через його безпосередню роль у фотосинтетичному процесі.

Вміст хлорофілу тісно пов'язаний з фотосинтетичним функціонуванням рослин і що ця здатність змінюється в діапазоні ґрунтово-екологічних чинників (Smith, Clement, 2012). На основі отриманих нами результатів, з урахуванням впливу на фотосинтетичний апарат різних факторів, зафіксовано ефект на концентрацію хлорофілів за дії сонячної радіації та ґрунтових умов, що узгоджується із даними багатьох авторів.

У той же час не спостерігається чіткої відповіді рослин на дію фітофагів, однак відповідно до інформації, наявної в літературі (Smith, Clement, 2012), подібного роду реакція буде змінюватись у залежності від виду рослини, а також виду шкідливого агента, що спричиняє стрес.

Повне розуміння впливу функції *R. pseudoacacia* на лісові екосистеми досягається балансом між безпекою екосистеми та натуралізацією робіни звичайної і має вирішальне значення. Для

досягнення цих цілей вивчають особливості основних фізіологічних процесів дерев робінії в регіонах її інтродукції є важливою передумовою, яка залишається маловивченим.

Ефективна неінвазивна оцінка флуоресценції хлорофілу є важливою особливістю оцінки пошкоджених фітофагами деревних порід та оздоровлення програм лісовпорядкування. Зміни у флуоресценції хлорофілу відбулися під час індукція піків вже давно придатна для виявлення відмінностей у фотосинтетичному реформування між рослинами (Zhao et al., 2016).

Процес фотосинтезу вважається надійним індикатором дії різноманітних стресові фактори, у тому числі впливу живлення комахам-фітофагів (Holoborodko et al, 2021). Для дослідження впливу *Parectora robiniella* (Clemens, 1763) на робінію звичайну можна застосувати метод флуоресцентного аналізу живлення фітофагів фотосинтетичним апаратом (Holoborodko et al, 2021).

Для цього потрібно інтерпритувати зміни параметрів флуоресценції хлорофілу, які свідчать про вплив фітофагів на фотосинтетичний апарат рослини.

3. МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Методи польових досліджень

Дослідження особливостей заселення акацієвим мінером штучних лісосмуг з робінії звичайної проходило у Дніпровському районі Дніпропетровської області (балка Майорка, окол. с. Майорка) (рисунок 3.1.). Дослідження тривало протягом 3-х років (2019-2022 рр.).

Клімат у цьому районі помірно континентальний із спекотним та сухим літом з частими зливами. За багаторічними даними у с. Майорка переважають вітри північного, північно-східного та західного напрямів. Для території с. Майорка характерне переважання чорноземів звичайних та лучно-чорноземних ґрунтів, рідше зустрічаються лучно-болотні та болотні ґрунти. Чорноземи звичайні мають нейтральну реакцію ґрунтового розчину, вміст гумусу становить 4,3 – 6 %. Однією з особливостей клімату території є значні коливання погодних умов з року в рік. Помірно вологі роки чергуються з різко посушливими, нерідкі суховії.

Обрання саме цієї штучної лісосмуги з робінії звичайної обумовлено її подвійним функціональним призначенням, адже вона чинить протиерозійний та полезахисний вплив.

Вибір саме цього варіанту штучних насаджень був ще продиктований можливістю саме у цих умовах відстежити адвентивний вплив на прилеглі сільськогосподарські угіддя самої робінії. Адже протягом 20-ти останніх років за рахунок кореневої порослі штучна лісосмуга з робінії поступово заходить на покинуте прилегле поле (рис. 3.2).



Рисунок 3.1. Місце знаходження модельної штучної лісосмуги (червона смужка – моніторинговий профіль, що репрезентує різновікові насадження робінії звичайної)



Рисунок 3.2. Модельна штучна лісосмуга з робінії звичайної

Об'єктом дослідження слугували штучні насадження *Robinia pseudoacacia* L. різного віку: I – молодняк (до 15 років); II – підріст (15-25 років) і III – власне насадження під час створення лісосмуги (50-70 років).

3.2. Методика здійснення обліків мін акацієвого мінера

Матеріалом для дослідження стали збори пошкоджених листових пластинок робінії звичайної з попередньо обраних дерев з кожної з трьох виділених вікових груп. Зокрема, 30 листових пластинок (складного листя) було рандомізовано відібрано з рослин, наприкінці періоду вегетації після досягнення сезонного максимуму.

Пошкоджене листя гербаризували та постачали етикетками. Надалі гербаризований матеріал сканували з використанням планшетного сканера Epson Perfection 4180 Photo (дозвіл 300 dpi). Для визначення площ поверхні листових пластинок робінії звичайної, а також площі самих мін *P. robinella* використовували програму ImageJ.

Для характеристики пошкоджень використовували такі параметри:

- площа міни (площа кожної пошкодженої ділянки на верхній стороні листової пластинки);
- відношення площі мін до загальної площі простого листочка (%);
площа всіх пошкоджень на складній листовій пластинці;
- відношення площі всіх мін на складному аркуші до площі всього складного аркуша (%).

Для оцінки заселеності окремих листових пластинок та їх частин було вирішено розрахувати такі показники: середня кількість мін на

простий листочок (кількість мін характерних певному листочку до загального числа листочків одного положення: у нашому випадку – 30), відносна заселеність простих листочків від загального числа пошкоджених листочків (кількість пошкоджених простих листочків до загального числа пошкоджених листочків), середня кількість мін на різних частинах простого листочка (кількість мін на певній ділянці простого листочка до загального числа пошкоджених листочків).

У нашій роботі ми наводимо середні значення (\bar{x} \pm SE) зі стандартною помилкою ($\pm SE$). Обробка даних проводилася засобами RStudio.

3.3. Біохімічні методи досліджень

Для біохімічних аналізів листочки робінії промивали водою і одразу використовували для екстракції ензимів. Для виділення ферментного препарату прості листочки робінії (0.3 г) гомогенізували в 6 мл 0.05 М трис-HCL буфері, рН 7.4 з 0.5% полівінілпіролідом (PVP).

Екстракцію здійснювали при $+4^{\circ}C$ протягом 1 год та центрифугували 15 хв при 14000 об/хв. Супернатант відбирався для визначення процесу активності та ізоферментного складу бензидин-пероксидази (ВРх), гваякол-пероксидази (GRх) і каталази (САТ).

Активність ВРх (ЕС 1.11.1.7) вимірювали «при 490 нм у реакційній суміші (0.8 мл Na-оцтовий буфер, рН 5.4; 1 мл розчину бензидину і 0.2 мл ферментного препарату) після додавання 1% H_2O_2 ». Розрахунок активності здійснювався через інтервали часу 1 хв, за якої спостерігалась максимальна швидкість реакції (Gregory, 1966). Результат виражали в опт.од./г сирої речовини \cdot хв.

Ізоферментний склад ВРх визначали «методом ізоелектричного фокусування (IEF) в 5% горизонтальному поліакриламідному гелі (ПААГ) на приладі Ultrophor (LKB, Bromma, Sweden), діапазон рН 3.5-6.5 при

+10°C. Для виявлення ферментативної активності в ПААГ використовували бензидиновий метод». Забарвлені гелі сканували та аналізували за комп'ютерною програмою 1D Phoretix.

Для визначення активності GPx (EC 1.11.1.7) «як донор водню використовували гваякол, як субстрат - перекис водню». До складу інкубаційного середовища входили 50 мМ Трис-НСІ буфер (рН 5,4), 2,6 мМ перекис водню і 21,5 мМ гваякол. Час спостереження тривав 2 хв. Активність визначали за утворенням продукту реакції - тетрагваякола (ТГ) за рахунок підвищення оптичної густини при 470 нм. Кількість ТГ розраховували з урахуванням коефіцієнта екстинкції $\epsilon = 0,0266 \text{ мкМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

Активність виражали в $\mu\text{М}$ утвореного ТГ на мг білка за 2 хв ($\mu\text{М}$ ТГ/мг білка). Активність каталази (CAT) аналізували згідно Goth (1991), результати виражали в $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 / \text{min} \cdot \text{g FL}$. Концентрацію розчинних білків (LP) визначали за методом Bradford (1976).

Результати досліджень активності ферментів представляли «як середнє значення \bar{x} , SD (стандартне відхилення)». «Після перевірки даних на нормальність, відмінності у змінних активності ферментів і вмісту протеїну між різними віковими групами дерев перевіряли за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) відповідно до пакета Statistica версії 8, StatSoft, Inc. (USA)».

Для визначення достовірної різниці групових середніх застосовували критерій Tukey (Honestly Significant Difference). Значні статистичні відмінності були встановлені за допомогою тесту Tukey при $p < 0,05$.

3.4. Техніка безпеки виконання робіт у науково дослідній лабораторії

Наукові лабораторні дослідження із впливу життєдіяльності гусені акацієвого мінера на робінію звичайну, виконані у науково дослідній

лабораторії фізіології та молекулярної біології рослин Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара.

У науково дослідній лабораторії фізіології та молекулярної біології рослин наявні інструкції встановленого зразка із забезпечення проведення робіт та застосування хімічних реактивів, їх використання та зберігання.

Перед початком проведення експериментальних робіт у науково дослідній лабораторії за стандартною процедурою відбувається первинний, поточний та запланований інструктаж із охорони праці та безпеки життєдіяльності.

Допуск студентів та аспірантів до роботи в науково дослідній відбувається лише після проведення первинного інструктажу та покладається на уповноваженого наукового співробітника та/або старшого лаборанта з числа штатних працівників науково дослідної лабораторії. Самостійна робота у науково дослідній лабораторії студентам заборонена.

У приміщенні науково дослідної лабораторії, де відбуваються маніпуляції із хімічними речовинами, категорично заборонено приймати їжу та напої, палити.

Кількість студентів та інших працівників, що одночасно можуть працювати у приміщенні науково дослідної лабораторії не повинна перевищувати кількість відповідно обладнаних робочих місць.

Відповідно до встановлених технічних вимог, у приміщенні науково дослідної лабораторії повинні бути у справному стані пожежне обладнання, електрощити, рубильники, водопровідні крани, вогнегасники, перелічене устаткування повинно бути доступним у будь-який час.

4. ОСОБЛИВОСТІ ЗАСЕЛЕННЯ ПАРЕСТОРА ROBINIELLA CLEMENS, 1863 ШТУЧНИХ ЛІСОСМУГ З РОБІНІЇ ЗВИЧАЙНОЇ

У межах модельної лісосмуги яка знаходилась у Дніпровському районі Дніпропетровської області в околицях с. Майорка відзначається досить щільне заселення робінії звичайної акацієвим мінером.

Як відомо, серед штучного лісорозведення у Степовій зоні України провідну роль відіграють насадження робінії звичайної, саме тому такий варіант насаджень нами було обрано для дослідження. Експансія адвентивного акацієвого мінера відбувається не рівномірно. Вважається, що головною передумовою цього процесу є вік кормових рослин мінера.

В умовах обраної нами лісосмуги було виокремлено три вікові групи дерев робінії звичайної:

I група – стара посадка (дерева віком від 60 років);

II група – порослеві дерева (дерева віком від 15 до 25 років);

III група – молодняк (дерева віком до 15 років).

Наші дослідження показали різний ступень заселення акацієвим мінером різних вікових груп дерев робінії звичайної (рис. 4.1.). Виявилось, що акацієвий мінер, віддає перевагу для заселення листкам дерев III групи (до 15 років) (рис. 4.1.).

Так, заселеність окремих рослин оцінюється в 20–50%, що відповідає значній втраті декоративних якостей рослинами. Проведений аналіз вибірки показує значний розкид значень площ окремих мін (рисунок 4.2), що пов'язано з формуванням ушкоджень личинками різного віку, а також з поєднанням кількох мін в одну, на що вказує знаходження кількох личинок в одній міні, що виявляється при скануванні матеріалу.

У зв'язку із значним розкидом значень у межах вибірки, найкраще характеризує її репрезентативність – медіана (0,53). Таким чином, на листових пластинках відзначено найбільшу кількість одиночних

ушкоджень гусеницями різного віку, на що вказує медіана та середнє значення вимірних площ мін.

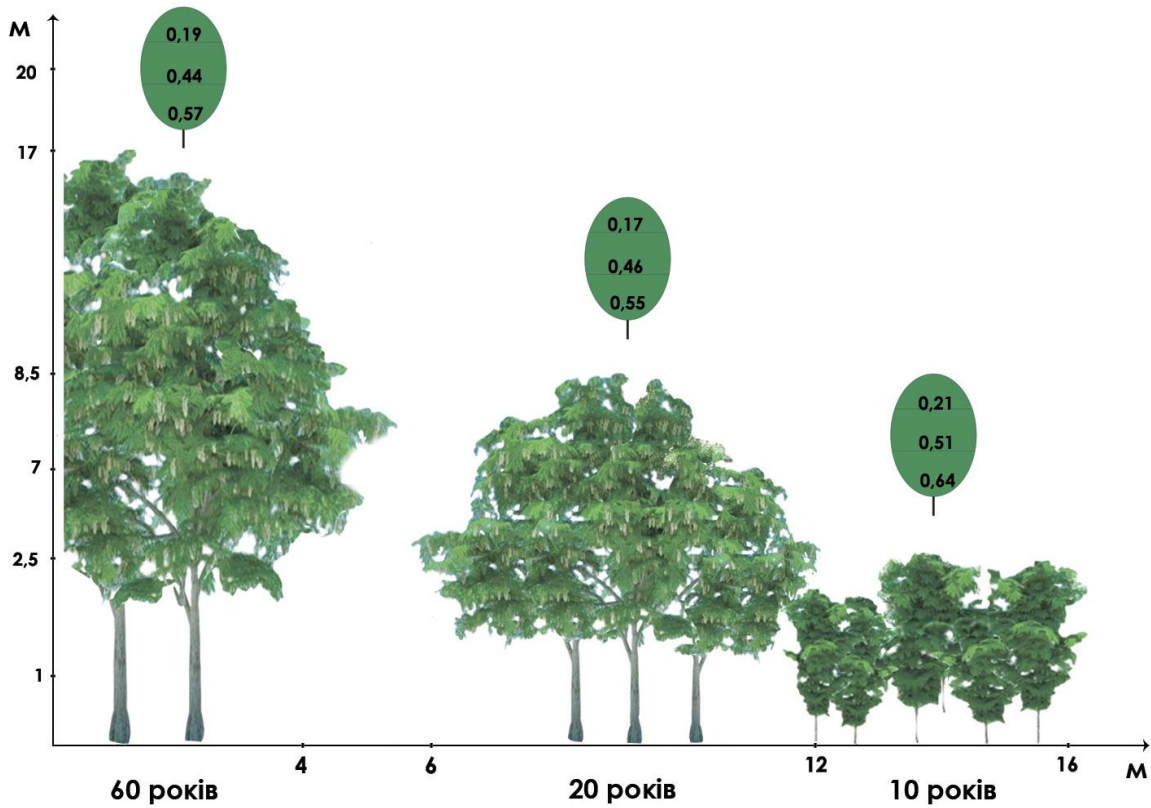


Рисунок 4.1. Особливості заселення акацієвим мінером лісосмуги: над кожною віковою групою дерев візуалізовані результати аналізу топічного розміщення міни на простому листочку

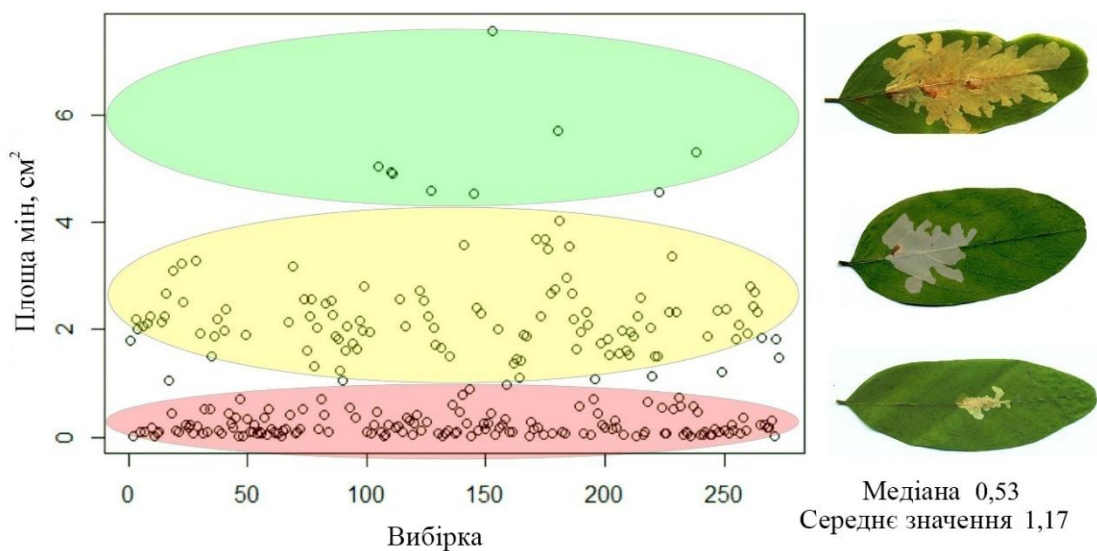


Рисунок 4. 2. Площа окремих мін акацієвого мінера на листових пластинках робінії звичайної в межах модельної лісосмуги

Середня площа одиничних мін склала $1,17 \pm 0,08$ см², що відповідає $15,18 \pm 0,92\%$ площі простого листочка. У той же час усі міни на складній листовій пластинці займали площу рівну $10,64 \pm 1,64$ см², що відповідає $6,32 \pm 0,72\%$ площі всього листа. За такого рівня заселеності декоративні властивості рослин втрачаються, оскільки пошкодження локалізовані на верхній стороні листових пластинок і добре помітні стороннім спостерігачам.

За результатами підрахунків середньої кількості мін, що припадає на простий листочок, та визначення відносної заселеності простих листочків від загального числа пошкоджених листочків виявлено, що заселеність складної листової пластинки найбільша в положеннях: А, G, I, J, K, L (рисунок 4.2: I, II).

Встановлено, що найбільш «ураженою» ділянкою простого листка виявився його причерешковий (нижній) сегмент (рисунок 4.2: III).

Такі особливості заселення листя *P. robiniella* можна пояснити різними темпами зростання листової пластинки та якісними характеристиками тканин. Топічна специфічність фітофага-інвайдера спричинена особливостями дивергентного розвитку листка та акропетального розвитку листочка робінії звичайної.

За даними Г.П. Яковлєва та В.А. Челомбітько (1990) листя інтенсивніше наростає в області основи листової пластинки. Значить, імаго акацієвого мінера відкладають яйця на рослинну тканину у фізіологічному відношенні молодшу. Листочки ростуть завширшки за рахунок поділу меристеми по краях листової осі, вздовж якої гусениця акацієвого мінера формує міну.

Таким чином зафіксований характер локалізацій мін ілюструє особливості розміщення фітофага-інвайдера на рослинах, що забезпечують харчування гусениць клітинною паренхімою ділянок листових пластинок робінії звичайної, що активно зростають.

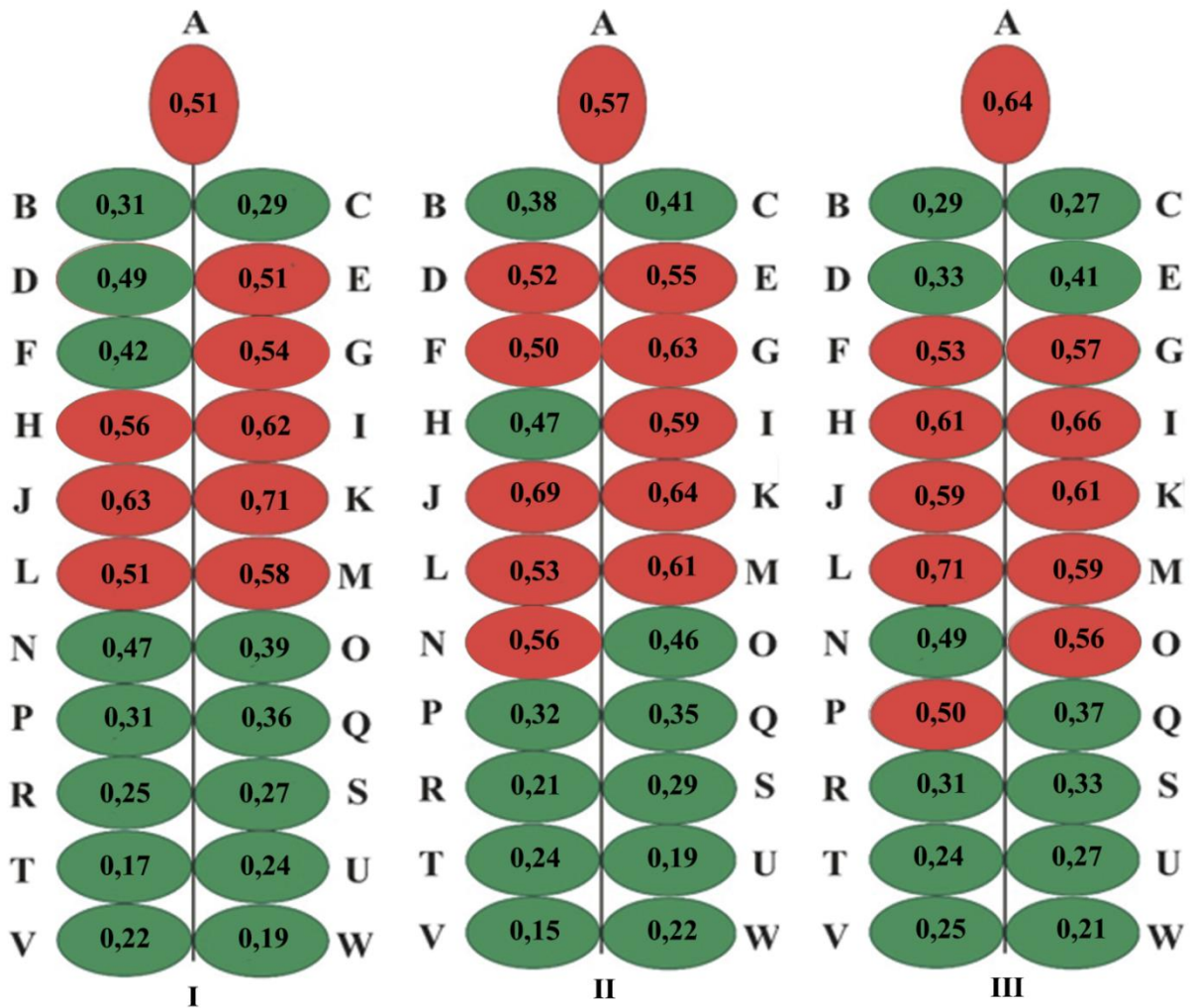


Рисунок 4.2 Особливості заселення гусеницями акацієвого мінера листочків складного листа та окремих частин листових пластинок робінії звичайної: I – заселення лісосмуги (насадження 60-ти річного віку), II – заселення порослі (вік дерев 15-25 р.), III – особливості заселення молодняку (вік дерев до 15 р.)

За результатами проведених досліджень було зазначено, що середня площа одиничних мін склала $1,17 \pm 0,08 \text{ см}^2$, що відповідає $15,18 \pm 0,92\%$ площі простого листочка. У той же час усі міни на складній листовій

пластинці займали площу рівну $10,64 \pm 1,64 \text{ см}^2$, що відповідає $6,32 \pm 0,72\%$ площі всього листа.

За такого рівня заселеності декоративні властивості рослин втрачаються, оскільки ушкодження локалізовані на верхній стороні листових пластинок і добре помітні стороннім спостерігачам.

Заселеність складної листової пластинки найбільша в положеннях: А, G, I, J, K, L. Найбільш ушкодженою ділянкою простого листа є його причерешковий (нижній) сегмент, що, очевидно, пов'язане з інтенсивним зростанням в області основи листової пластинки та знаходженням тут у фізіологічному відношенні наймолодших тканин листа.

5. ВПЛИВ PARECTOPA ROBINIELLA CLEMENS, 1863 НА СИСТЕМУ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ДЕРЕВ РОБІНІЇ ЗВИЧАЙНОЇ РІЗНОГО ВІКУ

5.1. Особливості реакції пероксидазної системи робінії звичайної на живлення гусені робінієвого мінера

Детальний аналіз впливу інвазії *P. robiniella* на біохімічні показники листя робінії звичайної представлено в таблиці 4.1. показано, що дерева трьох вікових груп по-різному реагують на напад інвайдера. Відзначається підвищення вмісту протеїну в листі дерев робінії I вікової групи на 7%, а у II - зниження на 9,1% ($p < 0.001$) при живленні гусені.

Відсутня різниця у вмісті протеїну між контрольним і ураженим листям у III віковій групі (табл. 4.2). Рисунок 4.2 показав підтвердження цього результату, в якому значення вмісту білків листя робінії звичайної III віку були далеко віддалені від значень I і II вікових груп. Коефіцієнт варіації в межах вікових груп виявився низьким (0,4-1,5%), а між групами склав 17,1%.

Не зареєстровано значимих відмінностей між середніми значеннями активності бензидин-пероксидази контрольних і дослідних зразків I і II вікових груп дерев робінії (табл. 4.2). Спостерігається тенденція до підвищення активності ензиму. Старші дерева виявили істотну різницю цього параметру між ураженим і не ураженим інвайдером листям, а саме: підвищення активності ВРх на 68,6% (табл. 4.1).

Варіабельність значень у межах вікових груп виявилась дуже низькою (1,2-2,6%), а між групами високою і складала 41,3% ($p < 0.001$). Слід зазначити, що різниця між середніми значеннями активності ензиму

Таблиця 1 Описова статистика зміни концентрації білка та активності ферментів у залежності від віку дерев робінії звичайної

Вікові групи	Протеїн, mg/g FL, $F = 312892, p < 0.001$			BPOD, U/min g FL, $F = 95407, p < 0.001$			GPOD, $\mu\text{mol TG} / \text{min} \cdot \text{g FL},$ $F = 81347, p < 0.001$			CAT, mM H ₂ O ₂ / min g. FL $F = 9483, p < 0.001$		
	Mean \pm st.dev.	Min	Max	Mean \pm st.dev.	Min	Max	Mean \pm st.dev.	Min	Max	Mean \pm st.dev.	Min	Max
I k	2.64 \pm 0.04	2.59	2.71	44.53 \pm 1.16	42.79	45.53	6.53 \pm 0.16	6.32	6.71	2.93 \pm 0.14	2.76	3.14
I ex	2.83 \pm 0.02	2.80	2.85	45.75 \pm 0.73	44.55	46.45	7.54 \pm 0.35	7.14	8.03	2.77 \pm 0.09	2.64	2.88
II k	2.74 \pm 0.01	2.73	2.76	47.16 \pm 0.57	46.54	48.03	7.68 \pm 0.19	7.43	7.89	2.51 \pm 0.11	2.38	2.63
II ex	2.49 \pm 0.02	2.47	2.52	55.85 \pm 0.78	55.22	57.14	8.51 \pm 0.23	8.29	8.89	2.42 \pm 0.12	2.25	2.57
III k	1.85 \pm 0.01	1.83	1.87	69.84 \pm 1.17	68.54	71.24	17.53 \pm 0.40	16.91	17.97	2.23 \pm 0.19	2.03	2.48
III ex	1.85 \pm 0.01	1.84	1.87	117.72 \pm 1.84	115.72	120.06	49.12 \pm 0.42	48.39	49.44	2.08 \pm 0.16	1.85	2.23
Всі групи	2.40 \pm 0.41	1.83	2.85	63.48 \pm 26.22	42.79	120.06	16.15 \pm 15.46	6.32	49.44	2.49 \pm 0.32	1.85	3.14

контрольного листя дерев I і II віку була неістотною, у той час як активність ВРх у листі дерев старої лісосмуги була на 52,5% вищою

Таблиця 4.2 Результати ANOVA: post hoc тест (тест Тьюкі) для концентрації білка та активності ферменту. *: достовірно з $p < 0,001$; ns: немає істотної різниці між середніми значеннями при $\alpha = 0,05$

Вікові групи	I ex	II k	II ex	III k	III ex
Протеїн					
I k	*	*	*	*	*
I ex		*	*	*	*
II k			*	*	*
II ex				*	*
III k					ns
Бензидин-пероксидаза					
I k	ns	Ns	*	*	*
I ex		Ns	*	*	*
II k			*	*	*
II ex				*	*
III k					*
Гваякол-пероксидаза					
I k	*	*	*	*	*
I ex		Ns	*	*	*
II k			ns	*	*
II ex				*	*
III k					*
Каталаза					
I k	ns	*	*	*	*
I ex		Ns	ns	*	*
II k			ns	ns	*
II ex				ns	ns
III k					ns

порівняно з молодими деревами, а за дії фітофага відмінність між молодими деревами і старими була вищою в 2,3 рази.

При аналізі активності гваякол-залежної пероксидази у контрольних зразків встановлено, що з підвищенням віку дерева активність GPx посилюється: порівняно з молодими деревами I віку активність GPx у листі дерев II віку зростає на 12,8% і суттєво посилюється у III віковій групі (у 2,7 рази). За дії гусені інвайдера у листі дерев I і, особливо, III віку відзначається значиме ($p < 0.001$) підвищення активності гваякол-пероксидази на 15,5 і 180% відповідно порівняно з контролем (рис. 4.1). Статус інвазії у листі дерев II віку не мав істотної різниці порівняно із здоровим листям (табл. 4.2): відмічається лише тенденція до підвищення активності GPx. Суттєва варіабельність значень активності GPx спостерігалась між деревами всіх вікових груп (95,7%).

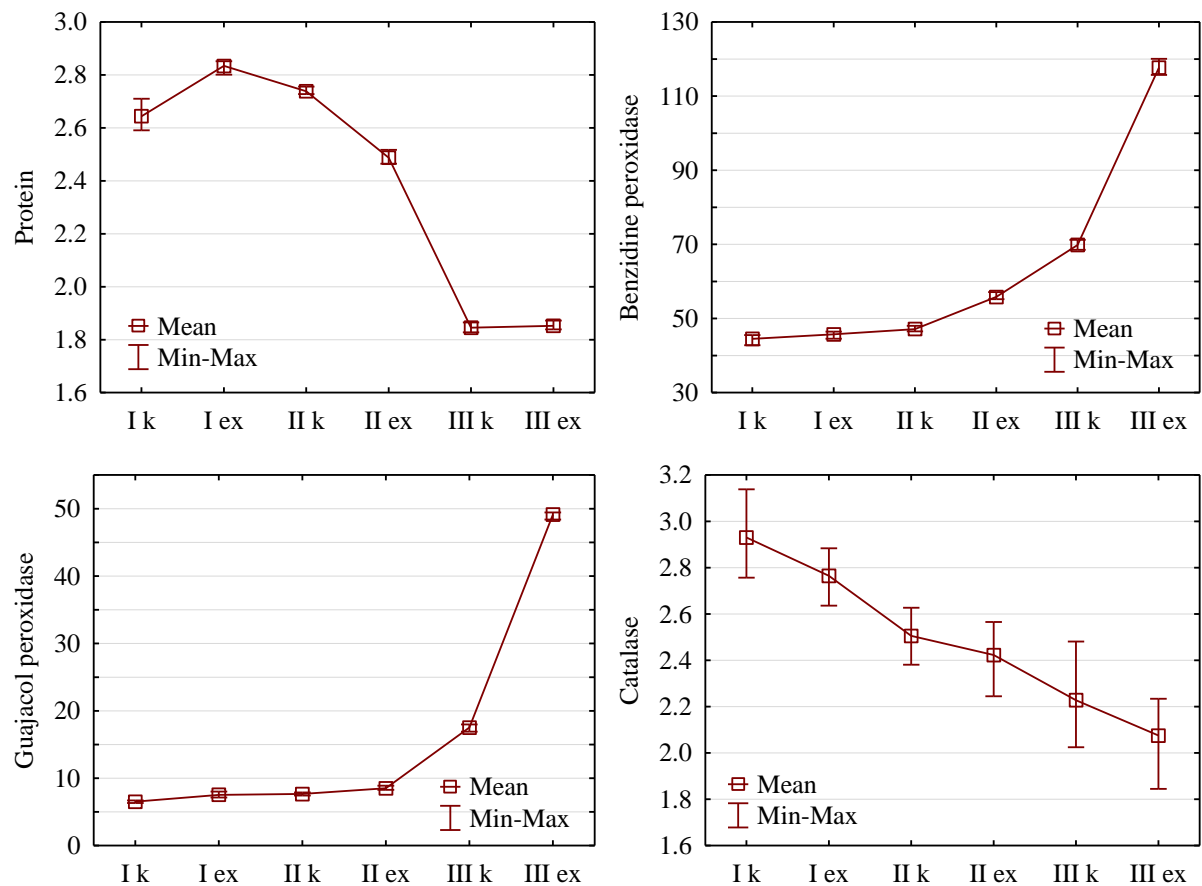


Рисунок 4.1. Активність ферментів і вміст білка між ураженим і неураженим листям дерев різного віку робінії звичайної

На відміну від пероксидаз рівень активності каталази знижувався з віком дерев, як у контрольному, так і в зараженому листі. Порівняно з деревами I віку (контроль) активність САТ у листі дерев II і III вікових груп була достовірно знижена на 14,3% і 23,9% відповідно (табл. 4.2). Подібна закономірність виявлена і для ураженого листя: порівняно з I віковою категорією значення активності у листі робінії звичайної II і III віку знизилась на 12,6 і 29,0% відповідно.

У межах вікових груп у відповідь на дію фітофага у листі I і II віку виявлено тенденцію до зниження активності каталази (5,5 і 3,6% відповідно), що підтверджується рис. 2. Достовірна різниця відмічається тільки в листі дерев III віку, де активність САТ знижувалась на 6,7%. Варіабельність параметру у межах вікової групи склала 3,8-8,5% і була вищою серед вікових груп (12,9%).

У цьому дослідженні проводився порівняльний біохімічний аналіз ураженого і неуряженого *P. robiniella* листя дерев *R. pseudoacacia* трьох вікових категорій. Невизначеність взаємодії «рослина-фітофаг» у природних умовах їх існування вимагає дослідження механізмів захисту рослин *R. pseudoacacia* різного віку від атак комах-інвайдерів.

Як показано рядом авторів, розмір і вік впливають на різні зміни в структурі та функції дерева, впливаючи на процеси росту, проростання, розмноження або накопичення вуглецю (Duan et al., 2014; Luo et al., 2017). За даними Korshukov et al. (2018) найбільша життєздатність для вуличних насаджень рослин характерна у віковій категорії 21–30 та 31–40 років.

В якості показників, що мають відношення до стійкості, аналізували активність антиоксидантних ферментів бензидин-пероксидази, гваякол-пероксидази, каталази і вміст білків. Уявлення про ступінь специфічності взаємодії в системі "рослина-фітофаг" ще не сформувались.

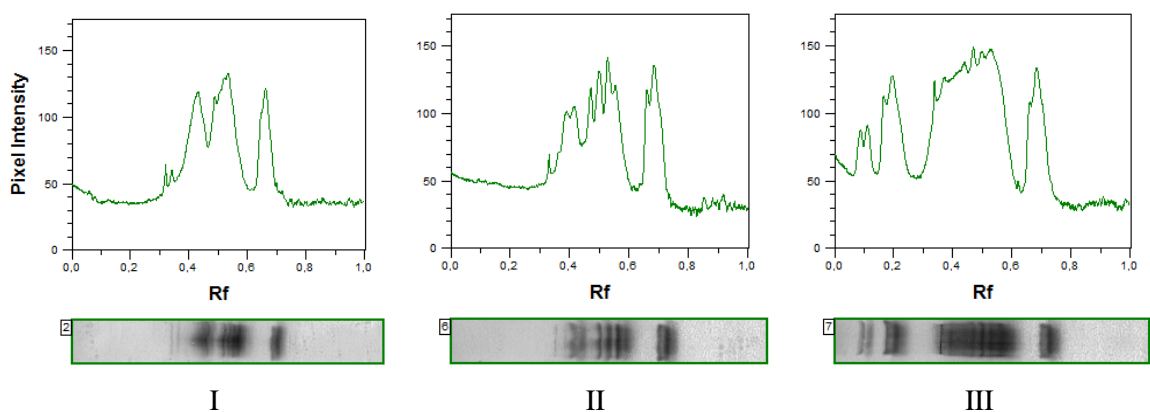
Однак це направлення інтенсивно розвивається (Every et al., 2016; Smith & Clement, 2012). Щоб пережити біотичний стрес, рослини

розвинули складні механізми, засновані на модифікації метаболітів, експресії генів і білків (Luo et al., 2017). Зміна експресії генів під впливом стресу, включаючи напад комах, призводить до якісних і кількісних змін у білках, які, у свою чергу, відіграють важливу роль у передачі сигналу та окислювальному захисті рослин (Gulsen et al., 2010; Usha & Jyothsna, 2010; War et al., 2012; Koch et al., 2016).

Крім цього, білки як і вуглеводи є важливими поживними речовинами для травючих комах через стимулювання їх росту і розмноження (Canbolat, 2012).

5.2. Вплив живлення гусені робінієвого мінера на ізоферментний склад бензидин-пероксидази

Аналіз ізоферментного складу бензидин-пероксидази в клітинах листочків робінії різного віку показав, що в стані фізіологічної норми (контроль) спектр множинних форм ферменту відрізнявся за їх кількістю (рис. 4.2). У листі дерев I віку зареєстровано від 9 до 11, II віку – 9, а старої лісосмуги 9-12 компонентів, інтенсивність останніх виявилась вищою за молодих дерев.



Вікові групи дерев

Рисунок 4.2 Ізоферментні профілі бензидин-пероксидазних листків робінії звичайної різного віку

Отримані нами результати свідчать про те, що комахи віддають перевагу білкам, коли загальний вміст макроелементів (вуглеводи, ліпіди) у доступній формі низький (Le Gall and Behmer, 2014). Білки забезпечують організм тварин амінокислотами, необхідних для побудови нових тканин, тоді як вуглеводи зазвичай використовуються як ключове джерело енергії, необхідне для посилення біосинтезу білків.

Наші результати показали, що порівняно з контролем I і II вік дерев мав статистично значущу різницю щодо вмісту протеїну, але вплив фітофага мав різну спрямованість: у листі I вікової групи вміст протеїну підвищився, а у II вікової групи зменшився, тоді як у дерев старої лісосмуги не відмічалось різниці між контролем і дослідом.

Можна припустити, що рівень білка знижується в зараженому комахами листі через зниження швидкості синтезу білка, і весь механізм трансляції зміщується на отримання протеїнів, пов'язаних із захистом. Крім того, зниження рівня білків у вересні може бути пов'язано з їх відтоком у запасуючі органи рослини, що є нормальним фізіологічним процесом, але в пошкодженому фітофагом листі цей процес порівняно з контролем може пришвидшуватися.

Водночас зниження рівня білків за умов стресу може спричинити нагромадження в клітинах вільних амінокислот, деякі з яких слугують субстратами для синтезу вторинних метаболітів фенольної природи, що беруть участь у захисту клітинних структур. З іншого боку, підвищення інтенсивності синтезу білків за умов стресу може призвести до необоротних перевитрат енергетичних ресурсів (оскільки білковий синтез – один з найбільш енергоємних фізіологічних процесів), через що стануть неможливими репараційні процеси після припинення дії стресового чинника (Kolupaev, 2001).

Із відкриттям сигнальної і захисної ролі активних форм кисню (ROS) велика увага приділяється оксидоредуктазам, які регулюють їх рівень у

клітині (Temple et al., 2005; Koch, 2016). Серед них особливий інтерес викликають каталаза (ЕС 1.11.1.6) і пероксидази (ЕС 1.11.1.7), що беруть участь у відповіді на широкий спектр екологічних стресів і подразників (Passardi et al., 2005).

ROS є центральними ранніми сигналами, що містять інформацію про навколишнє середовище та регулюють стійкість до стресу, викликаного живленням комах (Foyer et al., 2016; Kerchev et al., 2012).

Всі компоненти антиоксидантної системи (AOS) працюють в основному комплексно, і, як правило, зміна концентрації або активностей одних антиоксидантів призводить до певних змін в інших. У нашій роботі, проведеної в умовах міського середовища, показано, що стійкість рослин *R. pseudoacacia* залежить від координованої дії ферментів-антиоксидантів. Зареєстровано чотири основних типи одночасних змін активності ферментів окиснювального метаболізму в листі робінії звичайної, що відображає різноманітність її адаптивних реакцій і дозволяє їй швидко перебудувувати свою систему захисту від атаки *P. robiniella* в умовах різноякісного забруднення територій індустріального міста.

У природних умовах, за відсутності негативного промислово-транспортного впливу, відмічено тільки один тип одночасної дії досліджених ферментів, а саме: підвищення рівня активності пероксидаз і зниження/тенденція до зниження активності каталази.

Така компенсаторна роль ВРх, GРх і САТ не рідко відмічається дослідниками у різних рослин (Chen et al., 2008; Fernández-García et al., 2004). Таким чином, дослідження показали, що пероксидази і каталаза ведуть себе різноспрямовано при нападі *P. robiniella* у природних умовах, що було характерним для всіх вікових груп дерев робінії звичайної. Статистичні дані показали високу варіабельність активності ВРх і GРх (41,3 і 95,7% відповідно) серед вивчених вікових груп.

Це вказує на те, що ферментативна пластичність *R. pseudoacacia* проявляє значний варіативний поліморфізм. Каталаза є конкурентом пероксидази, оскільки вони використовують той самий субстрат (перекис водню). Повідомлялося про посилення їх активності після інокуляції рослин тютюну *Erysiphe cichoracearum*.

Однак було відмічено значне зниження активності каталази у зв'язку з дуже високою активністю пероксидази (Buonario & Montalbini, 1993; Lebeda et al., 1999). Відзначається, що каталаза знаходиться в стабільному стані при зміні окиснювально-відновного статусу клітини і тому більш стійка до стресу порівняно з іншими складовими антиоксидантної системи (Kordyum et al., 2003).

У нашому дослідженні реакція ферментів на атаку фітофага показала, що активність ВРх і GРх суттєво підвищувалась тільки у листі дерев III віку (на 68,6 і 180% відповідно). Ізоензимний профіль бензидин-пероксидази в листі дерев старшого віку показав, що ці дерева могли фізіологічно краще бути підготовлені до атаки *P. robiniella* через високі рівні активностей ізоформ ВРх і GРх.

Контрольне листя дерев III віку мало значно вищу експресію молекулярних форм пероксидази порівняно з молодшими рослинами робінії звичайної.

Це означає, що конститутивно підвищена активність пероксидаз, що нейтралізують активні форми кисню, у більш толерантних рослин старої лісосмуги здатні легше детоксикувати ROS, спричинені пошкодженням інвайдером, не страждаючи від негативних наслідків високих рівнів ROS.

Подібне твердження зазначено в роботах Ramm et al. (2015) і Smith et al. (2010). Підвищення активності ВРх і GRх свідчить про їх участь в захисті рослин від нападу комах-інвайдерів. ВРх бере участь у нейтралізації активних форм кисню, а GRх – у захисті клітинних стінок шляхом їх лігніфікації та суберинізації для запобігання атаки фітофагів.

ВИСНОВКИ

1. З'ясовано, що різні вікові групи штучних насаджень робінії звичайної заселені акацієвим мінером не рівномірно. Серед трьох попередньо виділених вікових груп (І група – стара посадка (дерева віком від 60 років); ІІ група – порослеві дерева (дерева віком від 15 до 25 років); ІІІ група – молодняк (дерева віком до 15 років)) найбільшого заселення зазнають молоді особини дерев.

2. Середня площа одиничних мін склала $1,17 \pm 0,08 \text{ см}^2$, що відповідає $15,18 \pm 0,92\%$ площі простого листочка. У той же час усі міни на складній листовій пластинці займали площу рівну $10,64 \pm 1,64 \text{ см}^2$, що відповідає $6,32 \pm 0,72\%$ площі всього листа. За такого рівня заселеності декоративні властивості рослин втрачаються, оскільки пошкодження локалізовані на верхній стороні листових пластинок і добре помітні стороннім спостерігачам.

3. Заселеність складної листової пластинки найбільша в положеннях: А, G, I, J, K, L. Найбільш ушкодженою ділянкою простого листа є його причерешковий (нижній) сегмент, що, очевидно, пов'язане з інтенсивним зростанням в області основи листової пластинки та знаходженням тут у фізіологічному відношенні наймолодших тканин листа.

4. При аналізі активності гваякол-залежної пероксидази у контрольних зразків встановлено, що з підвищенням віку дерева активність GPx посилюється: порівняно з молодими деревами І віку активність GPx у листі дерев ІІ віку зростає на 12,8% і суттєво посилюється у ІІІ віковій групі (у 2,7 рази).

5. У межах вікових груп у відповідь на дію фітофага у листі І і ІІ віку виявлено тенденцію до зниження активності каталази (5,5 і 3,6% відповідно), що підтверджується рис. 2. Достовірна різниця відмічається

тільки в листі дерев III віку, де активність САТ знижувалась на 6,7%. Варіабельність параметру у межах вікової групи склала 3,8-8,5% і була вищою серед вікових груп (12,9%).

6. Аналіз ізоферментного складу бензидин-пероксидази в клітинах листочків робінії різного віку показав, що в стані фізіологічної норми (контроль) спектр множинних форм ферменту відрізнявся за їх кількістю. У листі дерев I віку зареєстровано від 9 до 11, II віку – 9, а старої лісосмути 9-12 компонентів, інтенсивність останніх виявилась вищою за молодих дерев.

JIITEPATYPA

1. Acevedo FE, Rivera-Vega LJ, Chung SH, Ray S, Felton GW (2015) Cues from chewing insects – the intersection of DAMPs, HAMPs, MAMPs and effectors. *Curr Opin Plant Biol*, 26:80-86.
2. Aukema JE, McCullough DG, Von Holle B et al (2010) Historical accumulation of non-indigenous forest pests in the continental United States. *BioSci* 60:886–897
3. Benesperi R., Giuliani C, Zanetti S et al (2012) Forest plant diversity is threatened by *Robinia pseudoacacia* (black-locust) invasion. *Biodiver Conserv* 21: 3555–3568.
4. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
5. Buonario R, Montalbini P (1993) Peroxidase, Superoxide dismutase and catalase activities in tobacco plants protected against *Erysiphe cichoracearum* by a necrotic strain of potato virus Y. *Riv Pat Veg* 3: 23-31.
6. Canbolat Ö (2012) Determination of Potential Nutritive Value of Exotic Tree Leaves in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 18 (3): 419-423.
7. Chen JW, Cao KF (2008) Changes in activities of antioxidative system and monoterpene and photochemical efficiency during seasonal leaf senescence in *Hevea brasiliensis* trees. *Acta Physiol Plant* 30(1): 1-9.
8. Csóka G, Péntes Z, Hirka A et al (2009) Parasitoid assemblages of two invading black locust leaf miners, *Phyllonorycter robinella* and *Parectopa robinella* in Hungary. *Periodicum biologorum* 111:405–411

9. Daehler CC (2003) Performance comparisons of co-occurring native and alien invasive plants: implications for conservation and restoration. *Ann Rev Ecol, Evol and Syst*, 34: 183–211.
10. Davis DR, De Prins J (2011) Systematics and biology of the new genus *Macrosaccus* with descriptions of two new species (Lepidoptera, Gracillariidae). *ZooKeys* 98: 29–82.
11. De Prins J, De Prins W (2018) Global taxonomic database of gracillariidae (Lepidoptera). <http://www.gracillariidae.net/>. Accessed 25 Jan 2018
12. Duan L, Liu H, Li X, Xiao J, Wang S (2014) Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice. *Physiol Plant* 152: 486–500.
13. Emebiri LC, Tan MK, El-Bouhssini M, Wildman O, Jighly A, Tadesse W, Ogonnaya FC (2017) QTL mapping identifies a major locus for resistance in wheat to Sunn pest (*Eurygaster integriceps*) feeding at the vegetative growth stage. *Theor Appl Genet* 130(2): 309-318.
14. Every D, Sutton KH., Shewry PR, Tatham AS, Coolbear T (2005) Specificity of action of an insect proteinase purified from wheat grain infested by the New Zealand wheat bug, *Nysius huttoni*. *J Cereal Sci* 42(2):185-91.
15. Fernández-García N, Carvajal M, Olmos E (2004) Graft union formation in tomato plants: peroxidase and catalase involvement. *Annals of Botany* 93(1), 53-60.
16. Foyer CH, Rasool B, Davey JW, Hancock RD (2016) Cross-tolerance to biotic and abiotic stresses in plants: a focus on resistance to aphid infestation. *J Exp Bot* 67, 2025–2037.

17. García P, Sanna M, García MF, Rodríguez GG, Cires E (2023) Monitoring invasive alien plants dynamics: application in restored areas.
18. Gorban V, Huslysty A, Kotovych O, Yakovenko V (2020) Changes in Physical and Chemical Properties of Calcic Chernozem Affected by *Robinia pseudoacacia* and *Quercus robur* Plantings. *Ekologia (Bratislava)* 39(1):27-44.
19. Goth L (1991) A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 196: 143–152.
20. Gregory RPF (1966) A rapid assay for peroxidase activity. *Biochem J* 101(3): 582–583.
21. Gulsen O, Eickhoff T, Heng-Moss T, Shearman R et al (2010). Characterization of peroxidase changes in resistant and susceptible warm season turfgrasses challenged by *Blissus occiduus*. *Arthropod Plant Interact* 4:45-55.
22. Guo Q, Cao S, Dong L et al (2022) Genetic diversity and population structure of *Robinia pseudoacacia* from six improved variety bases in China as revealed by simple sequence repeat markers. *J For Res* 33:611–621.
23. Hajek AE, Hurley BP, Kenis M et al (2016) Exotic biological control agents: a solution or contribution to arthropod invasions? *Biol Invasions* 18:953–969
24. Holoborodko KK, Rusynov VI, Loza IM, Pakhomov OYe (2021) Adaptive features of the *Phyllonorcyter robiniella* (Clemens, 1859) (Gracillariidae Stainton, 1854) population in urban ecosystems. *Ukr J Ecol* 11(2): 27-34.
25. Huang W, Yang Y-J, Hu H, Zhang S-B, Cao K-F (2016) Evidence for the role of cyclic electron flow in photoprotection for oxygen-evolving complex. *J Plant Physiol* 194: 54–60.

26. Kerchev PI, Fenton B, Foyer CH, Hancock RD (2012) Plant responses to insect herbivory: interactions between photosynthesis, reactive oxygen species and hormonal signaling pathways. *Plant Cell Environ* 35: 441–453.
27. Kirichenko N, Kenis M (2016) Using a botanical garden to assess factors influencing the colonization of exotic woody plants by phyllophagous insects. *Oecologia* 182:243–252
28. Kirichenko N, Péré C, Baranchikov Yu, Schafner U, Kenis M (2013) Do alien plants escape from natural enemies of congeneric residents? Yes but not from all. *Biol Invasions* 15:2105–2113
29. Kirichenko N, Triberti P, Ohshima I et al (2017a) From east to west across the Palearctic: Phylogeography of the invasive lime leaf miner *Phyllonorycter issikii* (Lepidoptera: Gracillariidae) and discovery of a putative new cryptic species in East Asia. *PLoS ONE* 12(2):e0171104
30. Koch KG, Chapman K, Louis J, Heng-Moss T, Sarath G (2016) Plant tolerance: a unique approach to control hemipteran pests. *Front Plant Sci* 7: 1363.
31. Lazzaro L, Mazza G, d’Errico G (2018) How ecosystems change following invasion by *Robinia pseudoacacia*: Insights from soil chemical properties and soil microbial, nematode, microarthropod and plant communities. *Sci Total Environ* 622:1509-1518.
32. Lebeda A, Luhova L, Sedlarova M, Jancova D (2001) The role of enzymes in plant fungal pathogens interactions / Die Rolle der Enzyme in den Beziehungen zwischen Pflanzen und pilzlichen Erregern. *J Plant Dis Prot / Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 108(1): 89-111.
33. Le Gall, Behmer ST (2014) Effects of Protein and Carbohydrate on an Insect Herbivore: The Vista from a Fitness Landscape. *Integrative and Comparative Biology* 54(5).

34. Li K, Han X, Ni R (2021) Impact of *Robinia pseudoacacia* stand conversion on soil bacterial communities composition and soil properties in Mount Tai, China. *Forest Ecosyst* 8(19): 1-23.
35. Liu Z, Mo K, Fei S, Zu Y, Yang L (2017) Efficient approach for the extraction of proanthocyanidins from *Cinnamomum longepaniculatum* leaves using ultrasonic irradiation and an evaluation of their inhibition activity on digestive enzymes and antioxidant activity *in vitro* *J Sep Sci* 40 (15): 3100-3113
36. Luhová L, Hedererová D, Lebeda A, Peč P (2002) The influence of *Fusarium solani* on enzyme activity of *Pisum sativum* cultivars / Der Einfluss von *Fusarium solani* auf die Aktivitäten einiger Enzyme in Erbsensorten. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz / J Plant Dis Prot* 109(2): 113-128
37. Luo Q, Peng M, Lei P et al (2017) Comparative mitochondrial proteomic, physiological, biochemical and ultrastructural profiling reveal factors underpinning salt tolerance in tetraploid black locust (*Robinia pseudoacacia* L.). *BMC Genomics* 18:648: 3-23.
38. Mathakutha R, Steyn Ch, le Roux PC et al (2019). Invasive species differ in key functional traits from native and non-invasive alien plant species. *J Veg Sci* 30 (5): 994-1006
39. McHale L, Tan X, Koehl P, Michelmore RW (2006) Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards. *Genome Biol* 7(4):article 212.
40. Meshkova VL, Turenko VP, Baydyk GV (2014) Adventitious harmful organisms in the forests of Ukraine. *Bull Kharkiv Nat Agrar Univ. Series "Phytopathology and Entomology"* 1–2: 112–121.
41. Mithöfer A, Boland W (2012) Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annu Rev Plant Biol* 63:431–450.

42. Nicolescu VN, Rédei K, Mason WL et al (2020) Ecology, growth and management of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.), a non-native species integrated into European forests. *J For Res*, 31: 1081-1101.
43. Passardi F, Cosio C, Penel C, Dunand C (2005) Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant cell reports* 24(5): 255-265.
44. Paterska M, Bandurska H, Wyśłouch J, Molińska-Glura M, Moliński K (2017) Chemical composition of horse-chestnut (*Aesculus*) leaves and their susceptibility to chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić. *Acta Physiol Plant* 39 (105): 1-16.
45. Pitkin B, Ellis W, Plant C, Edmunds R (2018) The leaf and stem mines of British flies and other insects. <http://www.ukfymines.co.uk/>. Accessed 25 Jan 2018
46. Pyšek P, Jarošík V, Hulme Ph et al (2012) A global assessment of invasive plant impacts on resident species, communities and ecosystems: The interaction of impact measures, invading species' traits and environment. *Global Change Biol*, 18(5):1725–1737.
47. Ray S, Gaffor I, Acevedo FE et al (2015) Maize plants recognize herbivore-associated cues from caterpillar frass. *J Chem Ecol* 41:781-92.
48. Seebens H, Blackburn TM, Dyer EE et al (2018) The global rise in emerging alien species results from increased accessibility of new source pools. *PNAS*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1719429115>
49. Seliutina OV, Shupranova LV, Holoborodko KK et al (2020) Effect of *Cameraria ohridella* on accumulation of proteins, peroxidase activity and composition in *Aesculus hippocastanum* leaves. *Regul Mech Biosyst* 11(2): 299–304.
50. Shupranova LV, Holoborodko KK, Seliutina OV, Pakhomov OY (2019) The influence of *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae) on the activity of the enzymatic antioxidant system of protection of the

- assimilating organs of *Aesculus hippocastanum* in an urbogenic environment. *Biosyst Divers* 27(3): 238-243.
51. Shupranova L, Holoborodko K, Loza I, Zhukov O, Pakhomov O (2022) Assessment of *Parectopa robiniella* Clemens (Lepidoptera: Gracillariidae) effect on biochemical parameters of *Robinia pseudoacacia* under conditions of an industrial city in steppe Ukraine. *Ekológia (Bratislava)* 41(4): 340–350.
52. Smith CM, Clement SL (2012) Molecular bases of plant resistance to arthropods. *Annu Rev Entomol* 57: 309-328.
53. Środek D, Rahmonov O (2022) The Properties of Black' Locust *Robinia pseudoacacia* L. to Selectively Accumulate Chemical Elements from Soils of Ecologically Transformed Areas. *Forests* 13: 7.
54. Temple M, Perrone G, Dawes I (2005) Complex cellular responses to reactive oxygen species. *Trends Cell Biol* 15 (6): 319–326.
55. Turfan N, Alay M, Sariyildiz T (2018) Effect of tree age on chemical compounds of ancient Anatolian black pine (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) needles in Northwest Turkey. *Forest - Biogeosci For* 11(3): 406-410.
56. Tyśkiewicz K, Konkol M, Kowalski R et al (2019). Characterization of bioactive compounds in the biomass of black locust, poplar and willow. *Trees* 33: 1235–1263.
57. Tytar V, Nekrasova O, Marushchak O (2022). The Spread of the Invasive Locust Digitate Leafminer *Parectopa robiniella* Clemens, 1863 (Lepidoptera: Gracillariidae) in Europe, with Special Reference to Ukraine. *Diversity* 14(605): 1-13.
58. Tzvetkova NP, Petkova K (2015) Bioaccumulation of heavy metals by the leaves of *Robinia pseudoacacia* as a bioindicator tree in industrial zones. *J of Environ Biol* 36(1):59-63

59. Usha RP, Jyothisna Y (2010) Biochemical and enzymatic changes in rice as a mechanism of defense. *Acta Physiol Plant* 32:695-701.
60. Vítková M, Sádlo J, Roleček J, Petřík P, Sitzia T, Müllerová J, Pyšek P (2020) *Robinia pseudoacacia*-dominated vegetation types of Southern Europe: Species composition, history, distribution and management. *Sci Total Environ* 707 (134857).
61. War AR, Paulraj MG, Ahmad T (2012) Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. *Plant Signal Behavior* 7 (10): 1306-1320.
62. Wielkopolan B and Obrepalska-Stepłowska A (2016) Three-way interaction among plants, bacteria, and coleopteran insect. *Planta* 244 (2): 313–332.
63. Yang H, Zhou C, Wu F, Cheng J (2010) Effect of nitric oxide on browning and lignification of peeled bamboo shoots. *Postharvest Biol Technol* 57(1): 72-76.
64. Zhao H, Sun X, Xue M, Zhang X, Li Q (2016) Antioxidant enzyme responses induced by whiteflies in tobacco plants in defense against aphids: Catalase may play a dominant role. *PLoS ONE* 11(10) e0165454.
65. Zhu F, Poelman EH, Dicke M (2014) Insect herbivore-associated organisms affect plant responses to herbivory. *New Phytol* 204 (2):315-321.