

## Відгук

### офіційного опонента на дисертаційну роботу

**Пентелюк Олени Сергіївни «Внутрішньородове дендрорізноманіття *Aesculus L.* урбосередовища Києва (адаптація до ентомостресу, вторинний метаболізм, стійкість)» на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 06.03.01 – Лісові культури і фітомеліорація.**

У зв'язку з посиленням в останні десятиріччя урбогенного і техногенного навантаження на довкілля, глобальним потеплінням клімату й іншими факторами помітно погіршилися умови зростання рослин в озеленювальних насадженнях міст, що негативно впливає на їх середовищевірну роль та екологічну оптимізацію довкілля. Крім традиційних функцій, що виконуються рослинним блоком у будь-якій екосистемі, в урбоекосистемі особливого значення набуває їх санітарно-гігієнічна роль, пов'язана з поліпшенням перебування людини у міському середовищі (вітро-, газо-, шумозахисна, створення комфортного мікроклімату), зелені насадження вносять різноманіття у формування культурного ландшафту тощо.

Серед деревних рослин, що використовуються в озелененні міст, важливе місце посідають дерева роду *Aesculus L.*, переважно *Aesculus hippocastanum L.* – високодекоративна рослина, що культивується в країнах Європи і Америки, у Києві з 1842 року. Ефективність озеленення залежить від стійкості рослин до абіотичних і біотичних факторів.

Поряд з посиленням дії на рослини антропогенного пресу, негативними наслідками глобального потепління клімату, останнім часом рослинам цього виду значної шкоди завдає каштанова мінуюча міль (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič) – один з найагресивніших інвазійних видів. Збитки, що

спричиняє фітофаг у Європі, нараховують сотні мільйонів євро в рік. Навіть стає питання про доцільність подальшого культивування дерев цього виду в містах.

Тому наукові дослідження, що присвячені вивченню стійкості та захисно-приспосувальних механізмів проти *Cameraria ohridella* від популяційного до молекулярного рівня, які забезпечують збереження цілісності онтогенезу рослин в екстремальних умовах зростання вкрай необхідні.

Виходячи з вищевказаного, тема дисертаційної роботи Пентелюк Олени Сергіївни актуальна.

Дисертація викладена на 169 сторінках комп'ютерного тексту, з яких 9 – додатки, представлені списком опублікованих праць за темою дисертації та актами впровадження отриманих результатів. Робота складається з анотації, вступу, 6 розділів, висновків, списку використаної літератури, який включає 191 найменування, з яких 95 латиницею. Викладений матеріал ілюструється 13 таблицями і 55 рисунками.

Мета і завдання дослідження чітко сформульовані, що свідчить про те, що дисертант ясно уявляв стратегічні напрями проведення експериментів. Метою дисертаційної роботи було з позицій системного підходу вивчити формування і функціонування адаптивних реакцій видів і культиварів роду *Aesculus* L. на стресову дію *C. ohridella* урбосередовища Києва. Автор поставила перед собою доволі складні задачі, головні з яких, на нашу думку, це – виявити зміни активності ферментів антиоксидантного захисту і вмісту ТБК-активних продуктів у листках рослин *A. hippocastanum* L. за дії *C. ohridella*, визначити особливості анатомічної будови і фізіологічний стан асиміляційного апарату листків стійкої і нестійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L., з'ясувати динаміку фенольних сполук за умов механічного пошкодження листків стійкої і нестійкої до *C. ohridella* форм

*A. hippocastanum* L.; розробити науково-методичні рекомендації й отримати асептичну культуру *in vitro* для клонального мікророзмноження стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L. Як показало ознайомлення з дисертацією, О.С. Пентелюк успішно розв'язала всі поставлені завдання.

Наукова новизна полягає у виявленні схожості між кластерами, отриманими методами молекулярно-генетичного аналізу, групами видів і форм роду *Aesculus* L., які споріднені за особливостями синтезу вторинних метаболітів, зокрема тритерпенових сапонінів, фенолів та кумаринів; з'ясуванні динаміки детермінаційних змін активності ферментів пероксидази, каталази, супероксиддисмутази й вмісту ТБК-активних продуктів в листках *Aesculus hippocastanum* L. за умов пошкодження *C. ohridella* та водного дефіциту. Вперше визначено, що проантоціанідини і катехіни *A. hippocastanum* L. є ключовим ланцюгом трофічних взаємозв'язків у системі рослина – *C. ohridella*, отримано асептичну культуру *in vitro* стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L.

Дослідження проведені за держбюджетними темами «Мікобіо- та ентомопрепарати для органічного виробництва продукції спеціальних сировинних зон» № держреєстрації 0113U003851 та «Розробка технології клонування *in vitro* гіркокаштана звичайного, стійкого проти каштанової мінуючої молі» № держреєстрації 0116U001606, до яких автор залучалась як виконавець окремих розділів.

У вступі охарактеризовані передумови виконання дослідження, обґрунтована актуальність теми.

У першому розділі дисертації автор доволі детально і логічно аналізує основні літературні джерела за досліджуваними питаннями. При цьому узагальнюється накопичений досвід як вітчизняних, так і зарубіжних дослідників. У підрозділі 1.1 надані матеріали з системи й ареалу роду *Aesculus* L. Викладені гіпотези походження роду *Aesculus* L., наведені

філогенетичне й класифікаційне його дерево за Хардіном, дані з інтродукції в Україну. У другому підрозділі проведено аналіз шкодочинності *C. ohridella* для *A. hippocastanum* L. та біології цього фітофага. Надалі узагальнені численні літературні дані з фізіолого-біохімічних механізмів адаптивної стійкості рослин проти ентомостресу. Особлива увага приділяється вторинним метаболітам рослин та їх ролі в адаптивних процесах. Дисертант акцентує увагу на тих питаннях, які ще остаточно не з'ясовані і відмічає, що саме їх вивчення буде сприяти вирішенню питань стійкості рослин до фітофагів.

У розділі 2 «Методи і методики досліджень» надана характеристика клімату м. Києва і місця зростання рослин. Далі викладена суть методик, за якими проводилися дослідження. Застосовані методики відповідають рівню, який пред'являється до виконання кандидатських дисертацій. Слід відзначити, що деякі з них досить довготривалі і складні у виконанні і потребують великої сумлінності і майстерності виконавця. Дисертант оволодів великою кількістю сучасних методів дослідження.

У розділі 3 викладені результати візуальної діагностики симптомів пошкодження рослин *A. hippocastanum* L. комахами *Cameraria ohridella* в умовах водного дефіциту урбосередовища Києва. Дисертант описала особливості пошкодження листків *A. hippocastanum* L. мінуючою міллю, виділила формування мін білуватого і коричневого забарвлення, що відрізняються шкодочинністю. Сумісний вплив посухи, високих температур і пошкоджувальної дії *C. ohridella* на листки *A. hippocastanum* L. посилює некроз і всихання листків.

У цьому розділі обговорюється явище повторного фенорозвитку деяких дерев *A. hippocastanum* L. з настанням осіннього потепління і рясних дощів, утворення молодих пагонів, дрібних листків і суцвіть. Проте, цикл розвитку невдовзі припиняється, а з настанням низьких температур новоутворені

органи гинуть. Надзвичайно важливим для виконання даної роботи є виявлення у м. Києві в процесі візуального моніторингу рідкісної пізньостиглої форми *A. hippocastanum* L., яка не пошкоджується *C. ohridella*. Це дало можливість дисертанту співставити особливості вегетації стійких і нестійких форм, виявити певні відміни в метаболічних процесах за ушкодження *C. ohridella*, і, що найважливіше – застосувати тканини бруньок цієї форми для клонального мікророзмноження.

У розділі 4 представлені матеріали з дослідження фізіологічних реакцій листків роду *Aesculus* L. на пошкодження комахами каштанової мінуючої молі в умовах водного дефіциту урбосередовища Києва. Здійснено порівняння таких показників водного режиму як уміст води в листках та денний водний дефіцит у стійких і нестійких видів до посухи й до пошкодження *C. ohridella*. Види рослин роду *Aesculus* L., що не пошкоджуються цим фітофагом, відзначаються найменшими величинами водного дефіциту. Установлена залежність між показниками водного режиму, вмістом РНК і ДНК і ступенем стійкості видів рослин роду *Aesculus* L. проти *C. ohridella*. О. С. Пентелюк пропонує використовувати величину показника відношення РНК/ДНК у листках у фазу зав'язування плодів для визначення рівня стійкості рослин видів роду *Aesculus* L. проти *C. ohridella*.

На нашу думку, одним з найкраще розроблених розділів дисертації є п'ятий, який присвячений аналізу результатів досліджень вторинного метаболізму і адаптивних функцій рослин роду *Aesculus* L. за дії *C. ohridella* та водного дефіциту. Анатомічна будова листків і фізіологічний стан асиміляційного апарату рослин характеризують важливі пристосувальні особливості до умов існування. Характерно, що листки стійкої проти *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* L., не мають типову для цього виду макро- і мікоморфологічну будову. Проте, листки стійкої до *C. ohridella*



форми *A. hippocastanum* L. відзначаються потовщенням стінки верхнього епідермісу, для них також характерне накопичення специфічних метаболітів у відповідь на біогенне пошкодження навколо травмованих ділянок листкових пластинок – нагромаджуються пігменти (каротиноїди, халкони, проантоціанідини та ін.). Це підтверджує наявність індукованої імунної відповіді на проникнення фітофагу.

Листки стійкої до *C. ohridella* форми *A. hippocastanum* відзначаються вищим вмістом пластидних пігментів. Механічне пошкодження викликає зменшення їх кількості. Встановлено, що кількість хлорофілів *a* й *b* та каротиноїдів у листках стійких форм перевищувала цей показник у нестійкої, концентрація яких залишається і після травмування тканин відносно високою. Порівняльний аналіз фотоденситограми пігментів листків *A. hippocastanum* показав, що у стійкої форми до каштанового мінера пули індивідуальних пігментів з  $R_f \sim 0,47; 0,78$  і  $0,98$  були у 16,7 і 41 разів вищими. Результати, отримані дисертантом, підтверджують захисну функцію каротиноїдів в адаптивних реакціях рослин.

Враховуючи високу активність поліфенолів як донорів й акцепторів протонів і електронів, їх роль у стабілізації вільних радикалів, зниженні кінетичної енергії реакції ПОЛ, важливим було дослідити вміст цих вторинних метаболітів у листках різних за стійкістю до каштанового мінера форм *A. hippocastanum* L., оскільки біотичні та абіотичні стреси викликають ініціацію та посилення вільнорадикальних процесів у рослинних тканинах. Визначено, що механічне пошкодження листків викликає протягом 2–3 год. синтез флавоноїдів. Після нетривалого максимального нагромадження їхній вміст зменшується, оскільки вони залучаються у складний процес захисту клітинних структур від вільних радикалів та потенційних патогенів і шкідників. Встановлено, що концентрація фенольних сполук у листочках складного листка у базальній і проксимальній частинах платівки відносно

рівномірною, найвищою варіабельністю їх нагромадження характерна для апікальної частини листкової пластинки. Отримані дані пропонується враховувати у фітохімічному аналізі фенольних компонентів. Існує обернений зв'язок між висотою горизонту рослин *A. hippocastanum* L. і відношенням умісту в листках флавоноїдів до фенолів. Дисертант вказує, що зміщення показників у бік нагромадження в листках проантоціанідинів, має чітко вертикальний просторовий розподіл, яка пов'язана з водним режимом та інтенсивністю освітлення й аргументує встановлену залежність. Характерно, що переважна більшість стійких до *C. ohridella* форм рослин *A. hippocastanum* L. мала низький рівень накопичення катехинів і проантоціанідинів. Якісний аналіз катехинів не виявив нагромадження специфічних індивідуальних фенольних сполук у стійких форм. Отже, ці речовини не здатні забезпечити необхідної стійкості рослинам. На думку автора, можливо саме ці сполуки є одними із найважливіших компонентів, які обумовлюють спеціалізовані міжвидові відносини в системі рослина – фітофаг.

Виходячи з отриманих результатів, дисертант робить висновок, що питання щодо ролі катехинів та інших фенолів у формуванні конституціональної та індукованої стійкості гіркокаштанів проти *C. ohridella* залишається відкритим.

О.С. Пентелюк не обмежилась дослідженнями форм, розподілом фенольних сполук у листках, вона провела значну роботу з аналізу особливостей складу вторинних метаболітів перидерми однорічних пагонів рослин. Методом тонкошарової хроматографії в екстрактах цієї покривної тканини визначені кумарини: ескулетин і ескулін. Проте достовірних зв'язків між якісним і кількісним складом кумаринів та ступенем стійкості форм гіркокаштанів проти *C. ohridella* не визначено. У корку комлевої частини стовбура також визначені конденсовані таніни та кумарини.

На підставі багатомірного статистичного аналізу якісного складу фенольних сполук, наявності або відсутності певних кумаринів, види і гібриди сформували окремі кластери. Хроматографічні профілі фенолів мають високу схожість між кластерами і групами рослин, які споріднені за особливостями синтезу вторинних метаболітів.

Як з теоретичної, так і практичної точки зору актуальним є розробка методів отримання стійких до *C. ohridella* рослин *A. hippocastanum* L. шляхом мікроклонального розмноження. Дисертанту довелося випробовувати різні стерилізуючі речовини і визначати ефективність стерилізації залежно від концентрації і часу експозиції. Було апробовано вплив модифікованих живильних середовищ (9 варіантів з різними модифікаціями регуляторів росту) на розвиток експлантатів. Індукція морфогенезу, значною мірою, залежала від складу живильного середовища. Виявлені оптимальні умови культивування для успішного утворення мікропагонів й індукції ризогенезу.

Важливим етапом мікроклонального розмноження рослин була поетапна адаптація рослин-регенерантів *A. hippocastanum* L., методика якої була розроблена автором роботи, до нестерильних умов *in vitro*. Було використано п'ять варіантів субстрату для вивчення ефективності цього процесу і встановлено на якому з них відбувається найінтенсивніший ріст рослин-регенератів. Отже, в процесі трудомістких і складних пошукових експериментів було з'ясовано умови отримання стійких до *C. ohridella* форм шляхом мікроклонального розмноження.

Завершують дисертаційну роботу основні висновки, які витікають з експериментальних досліджень.

Слід виділити наявність деяких недоліків.

1. У розділі 2 «Методи і методики» при описанні кліматичних умов міста Києва бажано було б навести клімадіаграму, що дало б можливість чітко виділити посушливий період і в певній мірі визначити ступінь посухи,



оскільки в роботі (підрозділ 4.1) йдеться про формування адаптацій саме до цього екстремального чинника.

2. Краще писати не утворення паранекрозу (стор. 63), а паранекротичні зміни.
3. На рис. 4.1 (стор. 74) доцільно було б вказати час доби, коли здійснена фіксація матеріалу для виготовлення препарату епідерми, тому що саме це в значній мірі визначає ступінь відкриття продихів. Це ж стосується і даних з таких показників водного обміну як уміст води в листках і денний водний дефіцит.
4. У пероксисомах в процесі фотодихання у реакцію з киснем вступає гліколева кислота, а не гліоколієва (стор. 94).
5. На стор. 100 вказується, що *A. platanoides* і *A. pseudoplatanus*, як і дерева родини гіркокаштанові відносяться до родини *Sapindaceae* Juss. Правильно – до порядку *Sapindales*.
6. У підпису до рис. 5.17 (стор. 109) надані хроматограми розділення терпенів і сапонінів кірки однорічних пагонів роду *Aesculus* L. Однорічні пагони вкриті вторинною покривною тканиною перидермою, яка складається з фелеми, фелогену і фелодерми. Про кірку (правильно корок) пагонів йдеться мова й у назвах до рис. 5.18, 5.19, табл. 5.5 (стор. 110, 111, 112). Корок – це третинна покривна тканина, яка ще не формується на однорічних пагонах.
7. В тексті зустрічаються деякі стилістичні погрішності (с. 31, с. 79, с. 92 тощо) та описки. Наприклад, на багатьох сторінках у слові проантоціаніди після ц стоїть буква и, інколи замість дефісу стоїть тере (стор. 83, 91, 94 та ін.) тощо.

Проте відмічені недоліки не знижують цінності дисертаційної роботи. Безперечно, що дисертаційна робота містить великий фактичний матеріал. Дисертант комплексно підійшов до вирішення поставлених задач.

Різноманітність є очевидним надбанням дослідження. Використовуючи сучасні методики експерименту, автор отримав достовірні наукові відповіді на поставлені питання. Викладення матеріалу логічне, робота добре ілюстрована таблицями, графіками, діаграмами, мікрофотографіями високої якості.

В опублікованих роботах автора і представленому авторефераті відображені основні положення дисертації і достатньо конкретно характеризується виконана робота. Безперечно, розроблені в дисертації питання вносять значний вклад в розвиток фундаментальних питань фітомеліорації та лісових культур.

Практична значимість роботи полягає в розробці науково-методичних рекомендацій «Технологія мікроклонального розмноження рослин гірко каштана звичайного (*A. hippocastanum* L.) стійких проти каштанової мінуючої молі *C. ohridella*», які впроваджені у практику Відокремленого підрозділу Національного університету біоресурсів і природокористування України «Боярська лісова дослідна станція».

Матеріали дисертаційної роботи добре апробовані на численних Всеукраїнських і Міжнародних науково-практичних конференціях. За темою дисертації опубліковано 22 наукові праці, з яких монографія у співавторстві, 2 статті у наукових фахових виданнях України, 6 статей у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, науково-методичні рекомендації, 12 тез наукових доповідей.

Робота відзначається високим ступенем обґрунтованості результатів, що базується на значному фактичному матеріалі, математичній обробці даних.

Дисертаційна робота Пентелюк Олени Сергіївни «Внутрішньородове дендрорізноманіття *Aesculus* L. урбосередовища Києва (адаптація до ентомостресу, вторинний метаболізм, стійкість)» є самостійною, завершеною науковою працею, відповідає вимогам п. 11 Порядку

присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 06.03.01 «Лісові культури і фітомеліорація».

Завідувач кафедри садово-паркового господарства ДДАЕУ,  
д.б.н., професор

  
  


В.П. Бессонова