

У спеціалізовану вчену раду із захисту дисертацій Д 74.844.04 в Уманському національному університеті садівництва

### **ВІДГУК**

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Лашук Сніжани Олександрівни** на тему «СТВОРЕННЯ ВИХІДНИХ СЕЛЕКЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ МІСКАНТУС МЕТОДОМ РЕГУЛЯЦІЇ ЇХ РЕПРОДУКТИВНОГО РОЗВИТКУ ТА ЗАСТОСУВАННЯМ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 – селекція і насінництво.

**1. Актуальність теми.** Швидка вичерпність запасів видобувних енергоносіїв спонукала суспільство по-новому оцінити енергетичний потенціал агрокультур, змінити ставлення до біомаси та фітоенергетики загалом. Міскантус як енергетична культура має низку переваг над іншими багаторічними культурами, що полягають в його швидкому рості, високому врожаї біомаси та низькому вмісті мінеральних речовин. Для енергетичних цілей використовують гібриди міскантусу, які не утворюють насіння, тому, актуальним та перспективним є застосовування методів мікроклонального розмноження. Але, оскільки рослини міскантусу, отримані таким способом, вимерзають впродовж зимового періоду в разі висаджування у відкритий ґрунт на першому році вегетації, актуальним питанням є як розроблення способів мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* так і збереження рослин на першому році вирощування у відкритому ґрунті.

Ресинтез нових триплоїдних клонів способом створення симпатричних популяцій міскантусу цукроквіткового та міскантусу китайського пов'язаний із проблемою асинхронності цвітіння компонентів гібридизації. Тому розроблення фізіологічних методів синхронізації цвітіння батьківських

компонентів надасть поштовх для вітчизняної селекції та забезпечать ринок кондиційним насінням.

Дисертаційна робота *Лашук Сніжани Олександрівни* є завершеною науковою працею, яка містить нові науково обґрунтовані результати досліджень автора, що сприяють вирішенню важливої наукової проблеми – розробка методів створення, розмноження та оцінки нових вихідних селекційних матеріалів представників роду *Miscanthus* із використанням біотехнологічних методів.

Подана до захисту дисертаційна робота виконана в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України у 2012–2017 рр. у межах програм наукових досліджень: «Теоретичні основи створення джерел біоенергетичної рослинної сировини та технології її переробки», підпрограма «Нові види рослин та побічна продукція рослинництва для виробництва твердого біопалива, технології їх виробництва та підготовки до спалювання», за завданням «Розробити методи експресії репродуктивного розвитку та отримання кондиційного насіння, вдосконалити методи вегетативного розмноження, створити нові вихідні селекційні матеріали представників роду *Miscanthus*» у 2011–2015 рр. (номер державної реєстрації 0111U002767); підпрограма «Сорти та гібриди та технології вирощування цукроносних культур для виробництва біоетанолу» за завданням «Розробити методи розмноження та тривалого збереження представників роду *Miscanthus* в умовах *in vitro*, створити їх колекцію та банк герма плазми представників триби Andropogonaceae» (номер державної реєстрації 0111U002768); «Селекція, насінництво і розсадництво та технологія вирощування біоенергетичних культур як сировини для виробництва рідких, твердих і газоподібних видів палива», за завданням «Розробити нові методи створення *in vivo* та *ex vitro* вихідних селекційних матеріалів представників роду *Miscanthus*, їх симпатричних популяцій та отримання кондиційного насіння, поповнити колекцію та банк герма плазми представників триби Andropogonaceae» у 2012–2020 рр. (номер державної реєстрації 0116U003150).

**2. Ступінь обґрунтованості наукових положень.** На основі всестороннього опрацювання джерел літератури і чітко сформульованої мети та завдання досліджень сприяло автору в пошуку теоретичних та методичних підходів до майбутніх експериментів. Метою досліджень було розробити методи створення, розмноження та оцінки нових вихідних селекційних матеріалів представників роду *Miscanthus* за рахунок розробки методів отримання селекційного матеріалу *M. sacchariflorus* та *M. sinensis* способом ініціації калюсогенезу, регенерації мікророслин із калюсу та підвищення коефіцієнту розмноження цих видів міскантусу; збереження висаджених з культури *in vitro* в умови відкритого ґрунту мікророслин міскантусу без використання тепличних комплексів; проведення оцінки новостворених калюсних ліній *M. sinensis* та *M. sacchariflorus* із погляду генетичної однорідності каріотипу за рівнем плоідності методом протокової цитофлуориметрії; удосконалення схеми, режимів стерилізації насіння та бруньок із ризом; синхронізації цвітіння рослин *M. sacchariflorus* та *M. sinensis* в умовах відкритого ґрунту. Мета і задачі дослідження сформульовані коректно.

Проведені дослідження, висновки та рекомендації дисертаційної роботи характеризуються високим науковим рівнем обґрунтованості, досягнутого на основі широкого вивчення теоретичних і методичних положень, які торкаються досліджуваних питань, узагальнення наукових публікацій, що достатньо для такого рівня дисертаційних робіт. Достовірність результатів дисертаційного дослідження підкріплюється методами математично-статистичного аналізу.

**3. Достовірність і новизна дисертаційної роботи.** Здобувачкою виконано значну кількість експериментів, спостережень, біохімічних аналізів, обґрунтовано результати, які використано для написання дисертаційної роботи. Висновки і рекомендації для селекційної практики представлені на підставі експериментального матеріалу за дотримання відповідних стандартних методик. Новизна дисертаційної роботи полягає в розробленні способів: отримання селекційного матеріалу міскантусу з

насіння із низькою схожістю та життєздатністю; розмноження та стимуляції росту ризом *in vitro* та збереження рослин міскантусу в умовах відкритого ґрунту; визначення рівня плоїдності рослин міскантусів із використанням протокової цитофлуориметрії та синхронізації цвітіння рослин *M. sacchariflorus* та *M. sinensis* в умовах відкритого ґрунту.

**4. Наукове і практичне значення дисертаційної роботи.** З метою подальшої селекційної роботи отримано, відібрано й залучено для створення нових триплоїдних гібридів міскантусу (на зразок *M. giganteus*) п'ять ліній *M. sacchariflorus* ( $4n$ ) та *M. sinensis* із ознаками високої швидкості процесів росту, розвитку й продуктивності. Створено колекцію та банк герм плазми міскантусу видів *M. sacchariflorus*, *M. sinensis*, *M. giganteus*, розроблено методики проведення експертизи сортів міскантусу гігантського, міскантусу цукроквіткового та міскантусу китайського на відмінність, однорідність і стабільність.

Розроблено деклараційні патенти на корисну модель «Спосіб розмноження рослин міскантусу з насіння з низькою схожістю та життєздатністю» та «Спосіб розмноження в культурі *in vitro* та адаптації міскантусу у відкритому ґрунті», які рекомендуємо застосовувати у селекційному процесі створення та розмноження нових вихідних селекційних матеріалів представників роду *Mischanthus* із залученням біотехнології *in vitro* та при комерційному масштабованому вирощуванні міскантусу як сировини для біоенергетики для здешевлення його агротехнології.

Для створення гетерозисних гібридів доцільно використовувати патент на винахід «Спосіб синхронізації цвітіння компонентів гібридизації міскантусу цукроквіткового та міскантусу китайського в польових умовах».

Основні положення і результати досліджень викладено та обговорено на щорічних звітах методичної комісії Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН (2013–2016 рр.), а також апробовано у виступах на V Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Новітні технології вирощування сільськогосподарських культур» (м. Київ, 29–30

вересня 2016 р.); VII Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених і спеціалістів «Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських культур» (с. Центральне, 19 квітня 2019 р.); VII Міжнародній науково-практичній конференції «Resultsofmodern scientific research and development» (Мадрид, Іспанія, 21 вересня 2021 р.); VIII Міжнародній науково-практичній конференції «Modern scientific research: achievements, innovation sand development prospects» (Берлін, Німеччина, 23–25 січня 2022р.).

**5. Оцінка змісту дисертації.** Структура та обсяг дисертації відповідає вимогам до відповідного роду робіт. Дисертаційну роботу викладено на 168 сторінках комп'ютерного тексту. Вона складається зі вступу, розділів (огляд літератури, вихідний матеріал, умови та методика проведення досліджень, чотири розділи експериментальних досліджень, їх обговорення й аналіз результатів), висновків, рекомендацій для селекційної практики, списку використаних джерел наукової літератури (191 найменування, з них 138 латиницею), містить 21 таблицю, 73 рисунки, шість додатків.

У вступі здобувачка обґрунтовано подає актуальність теми, звертає увагу на зв'язок виконаних досліджень з науковими програмами. У роботі згідно вимог сформульовано мету і завдання досліджень, об'єкт і предмет дослідження, наукову новизну, практичне значення одержаних результатів.

*Побажання: у ВСТУПІ дисертаційної роботи (ст. 20) доцільно було б коротко подати інформацію: які вчені в Україні проводили дослідження представників роду *Miscanthus*;*

*– у рубриці «Наукова новизна одержаних результатів» (ст. 23) варто було б вказати у якій частині Лісостепу України проведено дослідження.*

У розділі 1 «ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ» здобувачкою проаналізовано й опрацьовано літературні джерела вітчизняних та іноземних авторів щодо походження, біоенергетичного потенціалу, розроблення нових біотехнологічних методів розмноження міскантусу в умовах *in vitro*, оцінки, добору кращих ліній батьківських компонентів для гібридизації, а також

щодо проблем створення нових вихідних форм для збільшення генетичного різноманіття існуючих видів і використання їх як сировини для біоенергетики.

Текст розділу охоплює 24 сторінки, що не перевищує існуючих вимог за об'ємом, викладений у логічній послідовності, розділ підсумовано і поставлені вірні завдання до проведення досліджень.

*Побажання: розділ 1 (огляд літератури), варто було б назвати.*

**У розділі 2 «ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ, УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІЖЕНЬ»** висвітлено умови та методику проведення досліджень. Проаналізувавши цей розділ можна стверджувати, що здобувачка правильно обрала, освоїла і використала загальноприйняті методики для розв'язання поставлених завдань.

*Запитання та побажання: потребує пояснення (підрозділ 2.1 «Вихідний матеріал»), де отримали до 2008 та 2012 рр. вихідний матеріал репродукцій та різних форм представників роду *Miscanthus*, які було введено до культури *in vitro*;*

*на рис. 2.1, 2.2 «Температурний режим та кількість опадів за роки проведення польових досліджень міскантусу (за даними Метеостанції Київ, 2013–2017 рр.)» необхідно було б зробити посилання на сайт із котрого використані значення, а також доповнити підрозділ 2.2 якісною характеристикою середовища для формування продуктивності культури за рахунок гідротермічного коефіцієнта;*

*відсутні висновки до розділу 2.*

**У третьому розділі «ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ МІСКАНТУСУ *IN VITRO* ТА УМОВИ ПРОРОЩУВАННЯ НАСІННЯ НА ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ»** подано результати оптимізації умов отримання асептичної культури міскантусу для введення в культуру *in vitro*. Авторкою було визначено, що оптимальною схемою стерилізації насіння міскантусу було застосування 70 % спиртового розчину впродовж 1–3 хв, 2 % розчину гіпохлориту натрію – 25 хв, та 3 % розчину пероксиду водню –

10 хв, що забезпечило стерильність на рівні 96,9–100 % незараженого насіння зі схожістю 89,0–92,0 % для кондиційного насіння. Кращі результати за кількістю незаражених бруньок із ризом *M. sacchariflorus* (4n) та *M. giganteus* із найбільшою чисельністю неушкоджених життєздатних бруньок Лашук С.О. отримала завдяки застосуванню схеми та режиму стерилізації, що включали: мильний розчин – 30 хв, 0,05 % розчин перманганату калію – 10 хв, і 0,2 % розчин сулеми – 30 хвилин.

У процесі тестування живильних середовищ для пророщування насіння *M. sacchariflorus* і *M. sinensis* в умовах *in vitro* кращий результат було отримано із застосуванням модифікованого середовища Мурасіге-Скуга (МС) з додаванням комплексу вітамінів: тіамін (В<sub>1</sub>) – 10,0 мг/л, піридоксин (В<sub>6</sub>), нікотинової (РР) та аскорбінової кислоти (С) по 1,0 мг/л; амінокислот: глютамінової – 250 мг/л, аргініну – 30 мг/л, триптофану – 3 мг/л, тирозину – 3 мг/л, гідроксипроліну – 2 мг/л; фітогормонів: 6-БАП – 0,2 мг/л і ГК – 1,0 мг/л, що забезпечило підвищення схожості насіння, у порівнянні з середовищем-контролем без гормонів, амінокислот і вітамінів, на 11,0–13,0 % залежно від виду міскантусу та року репродукції насіння.

*Зауваження і побажання: потребує пояснення у підрозділ 3.2 ст. 71 «...найбільшу кількість схожого насіння отримано на середовищі з підвищеним вмістом ГК», за рахунок яких складових середовища Ви зробили даний висновок? Необхідно було б чіткіше сформулювати висновки до розділу 3 (ст. 73).*

**У четвертому розділі «ОТРИМАННЯ КАЛЮСНИХ ЛІНІЙ ТА КЛОНУВАННЯ МІСКАНТУСУ В УМОВАХ *IN VITRO*, АДАПТАЦІЯ РЕГЕНЕРАНТІВ У ВІДКРИТОМУ ҐРУНТІ»** авторкою удосконалено прописи живильних середовищ для індукції калюсогенезу з насіння міскантусу, морфогенезу калюсів та утворення мікроклонів міскантусу. Застосування модифікованих середовищ для ініціації калюсогенезу та морфогенезу калюсів дало змогу підвищити коефіцієнт розмноження

мікророслин *M. sacchariflorus* у середньому в 40 разів, *M. sinensis* – у 20 разів, порівняно з іноземними аналогами.

**Сніжаною Лашук** розраховано, що теоретична швидкість мультиплікації при клонуванні міскантусу за розробленими методами калюсогенезу у виду *M. sacchariflorus* була у 120, а в *M. sinensis* – у 142 рази більшою порівняно з розмноженням із проростка насіння.

Авторкою розроблено метод розмноження міскантусу *in vitro* та адаптації у відкритому ґрунті, який передбачає стимуляцію росту ризом із застосуванням прописів живильних середовищ, до складу яких було введено гіберелін (ГК) – 0,5–1,0 мг/л та регулятори росту – 6-БАП – 0,2 мг/л та НОК – 0,1 мг/л. Такий склад живильного середовища сприяє збільшенню довжини ризом на живильних середовищах, забезпечуючи у такий спосіб гарантоване 100 % збереження розмножених з культури *in vitro* мікророслин при адаптації та акліматизації у зимовий період.

*Зауваження і побажання: потребує пояснення у підрозділ 4.1 ст. 77 ....«Через 30–60 діб калюси було пересаджено на нове морфогенне живильне середовище...», яке нове живильне середовище Ви мали на увазі?*

*У підрозділі 4.2 ст. 80 табл. 4.3, варто при проведенні досліджень за проміжок часу використовувати кількість діб, а не тижнів.*

**У п'ятому розділі «ФЕНОЛОГО-МОРФОЛОГІЧНІ, ЦИТОЛОГІЧНІ Й ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РІЗНИХ ВИДІВ МІСКАНТУСУ ТА ОЦІНКА ЇХНЬОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ»** представлено морфометричні показники, цитологічні та біохімічні особливості різних видів міскантусу та визначено їх продуктивність. Здобувачкою встановлено, що найвищі результати за показниками висоти рослини, діаметра пагонів, кількості міжвузлів, кількості та довжини листків, площі листків, довжини, ширини волоті встановлено у *M. giganteus (ex vitro)*. Найбільшу кількість стебел у кущі виявлено у *M. sinensis (in vitro)*. З'ясовано, що в структурі загальної продуктивності міскантусу маса стебел має найбільшу частку варіабельності ознаки – 51,9–68,8 %, частка маси листків становила 29,5–48,1% залежно від



виду міскантусу. **Сніжаною Олександрівною** встановлено відмінності за якісними та кількісними ознаками генеративних органів *M. sinensis*, *M. sacchariflorus*, *M. giganteus*, зокрема, пилок *M. sacchariflorus* ( $4n$ ) та *M. sinensis* характеризується округлими формами та майже однорідністю розмірів – 43–48 мкм у діаметрі, натомість пилок *M. giganteus* більш гетерогенний, варіюється за розміром (діаметр 23–45 мкм), кількість дрібних мікроспор становила 5–10 % від загальної. Авторкою доведено, що у разі екстракції ацетоном з листків рослини *M. giganteus* (*ex vitro*) вихід хлорофілу  $a+b$  буде майже в два рази більшим, ніж при застосуванні екстрагентом етилового спирту. Це відкриває можливість застосування міскантусу у виробництві хлорофілу для потреб медицини.

*Зауваження і побажання: потрібно у підрозділі 5.3 у назвах таблиць 5.4, 5.5 та рис. 5.24, 5.25 вказати роки досліджень; у кінці розділу 5 (ст. 121) неформовані чіткі висновки до нього.*

**У шостому розділі «ВИЗНАЧЕННЯ ОДНОРІДНОСТІ КАРІОТИПУ НОВОСТВОРЕНИХ ЛІНІЙ ТА РЕГУЛЯЦІЯ ЦВІТІННЯ МІСКАНТУСУ»** авторкою проведено оцінювання створених калюсних ліній *M. sinensis* та *M. sacchariflorus* з погляду генетичної однорідності каріотипу за рівнем плоідності рослин методом протокової цитофлуориметрії. Здобувачкою проаналізовано отримані цитограм вмісту ДНК в інтерфазних ядрах рослин *M. sinensis* і *M. sacchariflorus* ( $2n$ ), отриманих з калюсних ліній, і встановлено їх абсолютну ідентичність з цитограмами флуоресценції ізольованих ядер *M. sinensis* (еталон). З'ясовано, що отримані рослини калюсних ліній *M. sinensis* мають диплоїдний стан генома, як і рослини *M. sinensis*, що розмножені безпосередньо з насіння. Здобувачкою розроблено спосіб синхронізації цвітіння рослин *M. sacchariflorus* та *M. sinensis*, що базується на стимуляції цвітіння *M. sinensis* в рік синхронізації і висаджування ризом *M. sacchariflorus* восени (наприкінці вересня – початку жовтня), завдяки чому цвітіння цих двох видів міскантуса починається у першій–другій декаді серпня на наступний рік. **Сніжаною Лашук** створено симпатричні популяції

*M. sinensis* та *M. sacchariflorus* з регульованим цвітінням компонентів, які дадуть змогу отримувати гібридне насіння та створити новий високопродуктивний селекційний матеріал міскантусу для потреб біоенергетики.

**Висновки і рекомендації виробництву** мають наукове обґрунтування та засвідчують новизну досліджень здобувачки. *Однак варто було б скоротити висновки, кількість їх занадто велика.*

**6. Відповідність змісту автореферату основним положенням дисертації.** Автореферат повністю відповідає змісту представленої до захисту дисертації. Він написаний і оформлений відповідно до прийнятих вимог. Основні положення дисертації висвітлено у 15 наукових працях, зокрема, чотири – фахових виданнях України, одна – у виданні, внесеному до міжнародної наукометричної бази *Web of Science*, три патенти України на корисну модель, чотири тези доповідей на наукових конференціях, три методичні рекомендації.

Аналіз опублікованих робіт і автореферату показав повне викладення основних положень і результатів досліджень, що містяться в роботі.

#### **7. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.**

Рукопис дисертаційної роботи *Лашук Сніжани Олександрівни* перевірено сервісом перевірки на плагіат онлайн «Unicheck». Рівень оригінальності тексту становить 86,5 %. За перевіркою посилань комп'ютерною програмою визначено наявність окремих співпадань (13,5 %) з власними публікаціями, методичною частиною (опис методів статистичної обробки даних), термінологією, посиланнями на бібліографічні джерела інформації, загальноживаними словосполученнями. Під час детального рецензування матеріалів дисертації, аналізу наукових публікацій авторки не було виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації. Таким чином, дисертаційна робота *Лашук Сніжани Олександрівни* визначається самостійною оригінальною працею та не містить порушень академічної доброчесності.

## Загальний висновок

Дисертація *Лашук Сніжани Олександрівни* є закінченою самостійною науковою працею, виконана на актуальну тему. Проведені дослідження мають відповідне теоретичне і практичне значення, як для науки, так і для виробництва. Тема дисертаційної роботи і представлені матеріали досліджень відповідають паспорту спеціальності 06.01.05 – селекція і насінництво.

Незважаючи на зауваження і недоліки вважаю, що за актуальністю, елементами новизни і рівнем досліджень дана дисертаційна робота відповідає вимогам пункту 11 «Порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року за № 567, а її авторка *Лашук Сніжани Олександрівни* заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук (доктора філософії) за спеціальністю 06.01.05 – селекція і насінництво.

Доктор сільськогосподарських наук,  
старший науковий співробітник,  
заступниця директора з наукової роботи  
Миронівського інституту тваринництва  
імені В.М. Ремесла НААН України



Віра КИРИЛЕНКО

Підпис Віри КИРИЛЕНКО засвідчую:  
учений секретар, кандидат  
сільськогосподарських наук

Ірина ФЕДОРЕНКО