

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 *Miscanthus* 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.** На сучасному етапі розвитку селекції, спрямованої на прискорене створення селекційних зразків роду *Miscanthus* з комплексом господарсько-цінних ознак, застосовують нові методи, у тому числі і біотехнологічні. Зважаючи на те, що сучасна біоенергетика вимагає створення нових сортів цієї культури, що відповідатимуть вимогам практиків, вагомого значення набувають методи культури *in vitro*, які дозволять прискорити селекційний процес шляхом застосування нових методів і удосконалених прийомів отримання вихідних матеріалів симпатричних популяцій міскантусу цукроквіткового та міскантусу китайського, гаплоїдних та дигаплоїдних ліній цієї культури з детальним вивченням цілої низки фізіолого-біологічних проблем і вирішення їхнього практичного застосування при вирощуванні. Серед цих проблем – стимуляція і синхронізація цвітіння батьківських форм, що дасть можливість отримувати насіння культури у необхідній кількості. Залучення таких відселектованих вихідних форм сприятиме стабільному відтворенню вдалих експериментальних комбінацій.

Наукові дослідження за означеною проблемою присвячені розробці нових біотехнологічних методів для створення селекційних вихідних матеріалів, ідентифікації кращих із них, удосконаленню процесу розмноження міскантусу в культурі *in vitro*, внаслідок чого можна створити низку нових селекційних зразків з застосуванням принципово нового методу контрольованої регуляції репродуктивного розвитку, ще не апробованого на цій культурі у світовій практиці, які поповнять генофонд культури. Тому дослідження в цьому напрямку, проведені Лашук Сніжаною Олександрівною у 2012–2017 рр. в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків є актуальними і новаторськими. Реалізація результатів таких досліджень дозволить значно підвищити ефективність селекційного процесу і розв'язати деякі питання теоретичного і практичного характеру.

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 *Andropogoneae*» (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 *Andropogoneae*» у 2012–2020 рр. (номер державної реєстрації 0116U003150).

2. Ступінь обґрунтованості наукових положень. Основні положення та висновки дисертації обґрунтовані достатньою кількістю якісно проведених досліджень. Авторкою дисертації чітко окреслені мета та завдання дослідження. Варто відмітити, що завдання дослідження, положення наукової новизни і висновки дисертації є логічно взаємопов'язаними. Результати досліджень отримано здобувачкою особисто.

Дисертаційна робота Лашук С.О. є завершеною науковою працею, яка виконана на належних методичному та теоретичному рівнях. Робота має послідовну та логічну структуру і є комплексним та завершеним науковим дослідженням.

Викладене вище свідчить про обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендації, що викладені у дисертаційній роботі Лашук С.О.

3. Достовірність і новизна дисертаційної роботи. До найбільш важливих результатів, що характеризують наукову новизну дослідження належать такі:

- розроблення методу отримання селекційного матеріалу міскантусу з насіння із низькою схожістю та життєздатністю способом ініціації калюсогенезу та регенерації мікророслин з калюсу;
- розроблення методу розмноження і стимуляції росту ризом *in vitro* та збереження рослин міскантусу в умовах відкритого ґрунту;
- розроблення методу визначення рівня плоідності рослин міскантусів із використанням протокової цитофлуориметрії та здійсненні

оцінювання створених калюсних ліній *M. sinensis* і *M. sacchariflorus* з погляду генетичної однорідності каріотипу за рівнем плоїдності;

– розроблення методу синхронізації цвітіння рослин *M. sacchariflorus* і *M. sinensis* в умовах відкритого ґрунту;

– удосконалення схеми та режиму стерилізації насіння і бруньок з ризом міскантусу, прописів живильних середовищ для пророщування, розмноження, калюсогенезу та утворення ризом, методів мультиплікації *in vitro* досліджуваних видів міскантусу.

У сукупності отримані наукові результати вирішують важливе науково-практичне завдання щодо розроблення біотехнологічних методів створення вихідних селекційних матеріалів міскантусу та регуляції їх репродуктивного розвитку.

Сформульовані Лашук С.О. основні наукові положення та висновки ґрунтуються на використанні адекватних щодо поставлених завдань методів дослідження, зокрема, біотехнологічні, цитологічні, методи проведення фенологічних досліджень дерев'янистих і трав'янистих рослин, визначення вмісту сухої речовини, визначення кількості хлорофілу та каротиноїдів у листках вищих рослин, статистичні. Перераховане вище дозволяє оцінити одержані результати, основні наукові положення та висновки глибоких за змістом досліджень, проведених здобувачною, як достовірні.

4. Наукове і практичне значення дисертаційної роботи. Лашук С.О. було отримано, відібрано й залучено для створення нових триплоїдних гібридів міскантусу п'ять ліній міскантусу китайського та цукроквіткового з ознаками високої швидкості процесів росту, розвитку й продуктивності з метою подальшої селекційної роботи. Також, практичні результати дисертаційної роботи дозволили розробити методики проведення експертизи сортів міскантусу гігантського, міскантусу цукроквіткового та міскантусу китайського на відмінність, однорідність і стабільність.

Основні результати дисертаційної роботи викладені в наукових розробках деклараційних патентів на корисну модель «Спосіб розмноження рослин міскантусу з насіння з низькою схожістю та життєздатністю», «Спосіб розмноження в культурі *in vitro* та адаптації міскантусу у відкритому ґрунті» та «Спосіб синхронізації цвітіння компонентів гібридизації міскантусу цукровіткового та міскантусу китайського в польових умовах».

Запатентовані Лашук С.О. наукові розробки доцільно застосовувати у селекційному процесі для створення та розмноження нових вихідних селекційних матеріалів представників роду *Mischanthus* при комерційному масштабованому вирощуванні міскантусу, як сировини для біоенергетики для здешевлення його агротехнології.

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 чотирьох Міжнародних науково-практичних конференціях у 2016–2022 роках.

5. Оцінка змісту дисертації. Дисертація являє собою рукопис, обсягом 168 сторінок комп'ютерного тексту. Дисертація складається зі вступу, основної частини (огляд літератури, умови, вихідний матеріал і 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, 6 додатків.

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

Перший розділ «Створення вихідного селекційного матеріалу та розмноження рослин міскантусу за використання біотехнологічних методів» присвячений огляду наукової літератури за темою дисертації. У розділі наведено стан розвитку селекції міскантусу, класифікація та біологічні особливості культури, особливості селекції та розмноження міскантусу з використанням біотехнологічних методів. На підставі аналізу вітчизняної та зарубіжної літератури зроблено висновок та поставлені завдання на вирішення, яких спрямована дана робота.

У **другому розділі** наведена методика досліджень, викладені ґрунтові та метеорологічні умови проведення польових дослідів. Приведено характеристику вихідного матеріалу. Відмічено відповідність умов для проведення запланованих досліджень.

У **третьому розділі** «Отримання асептичної культури міскантусу *in vitro* та умов пророщування насіння на живильних середовищах» здобувачка наводить результати оптимізації умов отримання асептичної культури міскантусу для введення в культуру *in vitro* насіння та бруньок з ризом (табл.3.1, 3.2). Лашук С.О. відзначено оптимальну схему стерилізації насіння міскантусу, що забезпечило стерильність на рівні 96,9–100 % незараженого насіння зі схожістю 89,0–92,0 % для кондиційного насіння. Найбільшу кількість незаражених бруньок із збереженням їх життєздатності здобувачка отримала, використовуючи мильний розчин впродовж 30 хв; 0,05 % розчин перманганату калію упродовж 10 хв, і 0,2 % розчин сулеми з експозицією 30 хвилин.

Як результат удосконалення прописів живильних середовищ для пророщування насіння *M. sacchariflorus* і *M. sinensis* кращими було відзначено модифіковане середовище Мурасіге-Скуга (МС) з додаванням комплексу вітамінів, амінокислот, фітогормонів, в дозуванні, наведеному в табл. 3.3. Здобувачка відзначила, що, найбільшу кількість схожого насіння (на 11,0–13,0 % у порівнянні з середовищем-контролем). було отримано на середовищі з підвищеним вмістом ГК.

Четвертий розділ «Отримання калюсних ліній та клонування міскантусу в умовах *in vitro*, адаптація регенерантів у відкритому ґрунті» базується на удосконаленні прописів живильних середовищ для калюсогенезу з насіння міскантусу, морфогенезу калюсів та утворення мікроклонів, а також, стимуляції росту ризом в культурі *in vitro*, що дає змогу адаптувати отримані рослини в умовах відкритого ґрунту без використання тепличних комплексів. Лашук С.О. встановлено, що 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 (табл.4.3).

Здобувачка розрахувала теоретичну швидкість мультиплікації при клонуванні міскантусу за розробленими методами калюсогенезу і встановила, що у виду *M. sacchariflorus* вона була у 120 разів, а у *M. sinensis* – у 142 рази більшою порівняно з розмноженням із проростка насіння (табл.4.5–4.7).

Лашук С.О. розроблено метод розмноження міскантусу *in vitro* та адаптації у відкритому ґрунті, який передбачає стимуляцію росту ризом із застосуванням прописів живильних середовищ, наведених в таблиці 4.8. Відмічено, що введення до складу живильних середовищ гібереліну стимулювало ріст ризом та сприяло збільшенню їхньої довжини в середньому в 5–7 разів, порівняно з контролем (рис.4.6). 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 (табл.4.9).

У п'ятому розділі «Фенолого-морфологічні, цитологічні й фізіологічні особливості різних видів міскантусу та оцінка їхньої продуктивності» представлено морфометричні, цитологічні та біохімічні особливості різних видів міскантусу та визначено їх продуктивність. Лашук С.О. визначено

строки фаз росту та розвитку різних видів міскантусу (табл.5.1), проведено вимірювання висоти рослини, діаметра пагонів, підрахунок кількості міжвузлів та довжини листків, площі листків, довжини, ширини волоті у рослин (табл. 5.2). На основі проведеного аналізу морфометричних показників, здобувачка рекомендувала для використання в біоенергетиці рослини *M. giganteus* та *M. sinensis*, для селекційної практики – рослини *M. sacchariflorus* (4n) та *M. sinensis*, як батьківські форми майбутніх триплоїдних гібридів, а рослини *M. sacchariflorus* (2n), рекомендовано використовувати як декоративну культуру.

Цитологічні дослідження генеративних органів рослин міскантусу представлені на рисунках 5.9–5.24. Встановлено, що пилок *M. sacchariflorus* (4n) та *M. sinensis* характеризується округлими формами та майже однорідністю розмірів, тоді як пилок *M. giganteus* більш гетерогенний, варіюється за розміром, кількість дрібних мікроспор становила 5–10 % від загальної. Дослідження генеративних органів становить значний інтерес не тільки з загальнобіологічних фундаментальних позицій, а й у прикладному аспекті – у практичній селекції такої надважливої енергетичної та технічної культури як міскантус.

Лашук С.О. проведено визначення вмісту сухої речовини в рослинах досліджуваних видів міскантуса (рис.5.25) та встановлено, що у стеблах її кількість більша порівняно з листками. Здобувачка відзначила, що маса листків становить від 30 до 50 % надземної маси рослини міскантуса, а швидке наростання зеленої маси дають підставу рекомендувати до використання рослини міскантусу не лише як енергетичну, а й як кормову культуру.

Дослідження по визначенню вмісту хлорофілу $a+b$ у листках міскантусу показали, що у разі екстракції ацетоном вихід хлорофілу буде майже в два рази більшим, ніж при застосуванні екстрагентом етилового спирту (від 5,0 до 48,0 кг/га, залежно екстрагенту та виду міскантусу (табл.5.5). Це дає

підстави здобувачці рекомендувати вирощування міскантусу для отримання хлорофілу в потребах медицини.

У шостому розділі «Визначення однорідності каріотипу новостворених ліній та регуляція цвітіння міскантусу» Лашук С.О. висвітлено питання щодо оцінювання отриманих калюсних ліній *M. sinensis* та *M. sacchariflorus* з погляду генетичної однорідності каріотипу за рівнем плоїдності рослин способом протокової цитофлуориметрії з використанням цитофлуориметра нового покоління COULTER® EPICS® XL™ Flow Cytometer COULTER EPICS XL-MCL™ Flow Cytometer SYSTEM II™ Software. Авторкою встановлено, що отримані рослини калюсних ліній *M. sinensis* мають диплоїдний стан генома, як і рослини *M. sinensis*, розмножені безпосередньо з насіння.

Здобувачкою теоретично обґрунтовано та розроблено спосіб синхронізації цвітіння *M. sacchariflorus* та *M. sinensis*, що дозволить значно прискорить селекційний процес створення нових триплоїдних гібридів міскантусу та сприятиме значній економії ресурсів в результаті проведення селекції в умовах поля.

Висновки і рекомендації виробництву зроблені на підставі експериментальних даних, обґрунтовані польовими і лабораторними дослідженнями, виконаними згідно з сучасними методиками дослідної справи і мають наукову і практичну цінність. Їх достовірність доведена статистичною обробкою. Експериментальний матеріал та висновки, наведені в авторефераті, ідентичні з дисертаційною роботою.

6. Основні зауваження до дисертаційної роботи

1. В пункті 1.5 при згадуванні авторів наукових праць доцільно вказувати ініціали, а не лише прізвища науковців (с.40, 41).

2. Інформацію, наведену в пункті 1.6 можна було б розкрити ширше, відзначити українських селекціонерів і науковців, які займаються селекцією міскантусу в Україні.

3. Назву Розділу 2 «Вихідний матеріал, умови та методика проведення досліджень» у кандидатській дисертації доцільніше назвати «Вихідний матеріал та методологія проведення досліджень» (с.51).

4. В Розділі 3 «Отримання асептичної культури міскантусу *in vitro* та умови пророщування насіння на живильних середовищах» у таблиці 3.1 та 3.2 слід виділити найбільш ефективні схеми та режими стерилізації насіння та бруньок з ризом.

5. В таблиці 3.3 в модифікованому середовищі МС наведено $\frac{1}{2}$ норми мікроелементів, а в тексті це не зазначено.

6. В Розділі 4 «Отримання калюсних ліній міскантусу та клонування в умовах *in vitro*, адаптація регенерантів у відкритому ґрунті» в таблицях 4.1, 4.2. та 4.4, які є досить великими, варто виділити ті компоненти середовищ, за якими вони відрізняються.

7. Не зрозуміло, за яким принципом проводити оптимізацію складу живильних середовищ (с.74–75).

8. У таблиці 4.3 не наведено результатів калюсогенезу міскантусу гігантського на еталонному середовищі, не зрозуміло, чи отримували калюсні лінії з цього виду міскантусу.

9. Таблиці 4.5–4.7 з теоретичними розрахунками з мультиплікації різних видів міскантусу з бруньок, калусу, проростка насіння варто винести у Додатки, оскільки це прогнозовані цифри, а не експериментальні.

10. В пункті 6.2 згадуються *M. sacchariflorus* та *M. sinensis*, як батьківські компоненти майбутніх міжвидових гібридів, проте ніде не описано, який із цих видів є материнською лінією, а який батьківською.

11. У всіх таблицях дисертації недотримані вимоги до оформлення (кегель 12 замість 14).

12. Рід *Miscanthus* автор наводить або латинською мовою, або українською. Вважаю, що слід використовувати якомусь одному варіанті.

7. 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 в 15 наукових працях, зокрема, чотири – фахові видання 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.

8. 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 вивчення матеріалів дисертації, аналізу наукових публікацій автора 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,
професор, член-кореспондент НААН України,
декан факультету лісового і садово-паркового
господарства Уманського національного
університету садівництва МОН України

Поліщук В.В.

Підпис *В.В. Поліщук*

ЗАСВІДЧУЮ

Науковий відділ *Уманського НУ*

04.08.2017

