

В І Д З И В

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Коцар Марії Олександрівни

«Оцінка та добір вихідного матеріалу для селекції міскантусу біотехнологічними методами», яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 – селекція і насінництво.

Актуальність теми дисертаційної роботи зумовлена потребами української і світової економіки щодо розвитку джерел відновлюваної енергії та технічної сировини для виробництва інших продуктів з широко масштабним використанням в сільському господарстві, промисловості, транспорті. В умовах техногенного навантаження та змін клімату важливе значення має оцінка та добір вихідного матеріалу для селекції, який би характеризувався мінімальним зниженням продуктивності за несприятливих умов вирощування, таких як різкі зміни температурного режиму, посуха, засолення, ушкодження грибними і бактеріальними хворобами тощо. Головними напрямками генетичного поліпшення рослин є підвищення їх продуктивності та стійкості до несприятливих чинників довкілля. Прогрес в сучасній селекції не може бути досягнутий без використання наукових досягнень і розробок суміжних біологічних наук і в першу чергу біотехнології, фізіології і біохімії рослин для одержання і оцінки вихідного матеріалу, створення сортів і гібридів на основі реалізації принципово нових технологічних схем. Біотехнологічні методи дозволяють не тільки прискорювати селекційний процес, але і створювати принципово нові генотипи. Розвиток фізіологічних досліджень підвищує ефективність генетичних і генно-інженерних технологій, розширює їх завдання і створює нову експериментальну базу.

У представленій дисертаційній роботі міститься експериментальний матеріал та його аналіз із залученням великої кількості джерел наукової літератури зі всіх цих питань, що безперечно свідчить про її актуальність.

Мета та завдання роботи справляють цілісне враження та є детальним планом для проведення досліджень за темою дисертації.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дослідження за темою дисертаційної роботи виконано упродовж 2012–2015 рр. Відповідно до плану науково-дослідних робіт Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН, згідно програми ПНД 22 «Біоенергетичні ресурси» завдання «Розробити нові біотехнологічні методи створення нових селекційних матеріалів біоенергетичних культур міскантусу та світчграсу» (номер державної реєстрації 0111U000534).

Наукова новизна представлених у дисертації результатів. Виходячи з принципів системного підходу, дисертантом проведено дослідження на всіх рівнях організації рослинного організму – клітинному, тканинному, органному і цілої рослини. Аналізом отриманого величезного експериментального матеріалу виявлено особливості культивування міскантусу *in vitro*, розроблено нові біотехнологічні методики, досліджено фізіолого-біохімічні особливості рослин-регенерантів.

Уперше теоретично обґрунтовано і розроблено принципи добору *in vitro* толерантних до посухи і засолення генотипів міскантусу і відібрано перспективні форми як вихідний селекційний матеріал, в т. ч. для комерційного використання міскантусу як біоенергетичної культури. Розроблено експрес-метод оцінки ступенів толерантності рослин міскантусу до абіотичних чинників *in vitro*.

Удосконалено методику клонального мікророзмноження рослин міскантусу на основі підбору стерилізуючих реагентів, їх експозицій та додавання різних концентрацій цитокінінів і ауксинів у живильні середовища.

Набули подальшого розвитку наукові положення щодо особливостей прояву закономірностей мінливості генотипів під впливом контрольованих абіотичних чинників *in vitro* та методи підвищення ефективності селекційної роботи на основі ідентифікації цінних генотипів і прискорення селекційного процесу.

Теоретичне значення результатів досліджень полягає у

вдосконаленні і розробці біотехнологічних методів клонального мікророзмноження, технологій клітинної селекції міскантусу *in vitro* для збільшення його генетичної різноманітності та виявленні фізіолого-біохімічних особливостей продукційного процесу.

Практичне значення одержаних результатів полягає у використанні їх у практиці сільськогосподарського виробництва та селекційному процесі. Зокрема, відповідність доборів толерантних до посухи і засолення генотипів міскантусу на основі застосування абіотичних стресових чинників *in vitro*, у вегетаційних дослідках та у польових умовах (*ex vitro*). Для розширення спектру вихідного матеріалу виділено нові форми *M. Giganteus* (зразки № 1 та № 2), які поєднують ознаки толерантності до осмотичного і сольового стресів та вихід енергії, що перевищує середні показники по групі на 26,1 і 59,4 %.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Для прискорення селекційного процесу добору джерел стійкості рекомендується застосовувати експрес-метод оцінки ступенів толерантності рослин міскантусу до абіотичних стрес-чинників. Розроблені методичні рекомендації «Оцінка та отримання нових форм міскантусу толерантних до абіотичних стресових факторів в умовах *in vitro*», «Створення поліплоїдних форм міскантусу і проса прутоподібного в культурі *in vitro*» - застосовувати у селекційному процесі для ефективного добору генотипів міскантусу *in vitro*.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Рукопис дисертації побудований за рекомендованою схемою і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів, умов і методів проведення досліджень, трьох розділів із викладенням результатів експериментів та їх обговоренням, висновків, рекомендацій, списку використаної літератури, а також додатків.

У вступі обґрунтована актуальність теми та подано основні характеристики роботи.

В огляді літератури висвітлено питання біологічних особливостей росту й розвитку рослин міскантусу та сучасні уявлення про біотехнологічні методи отримання високопродуктивних генотипів

На основі аналізу літературних джерел обґрунтовано необхідність і актуальність проведених пошукачем досліджень, як таких, що суттєво розширюють існуючі теоретичні уявлення із зазначених проблем, а також мають вагоме практичне значення для сільського господарства.

У розділі «Матеріали і методи дослідження» досить детально охарактеризовано рослинний матеріал та умови його культивування *in vitro* *in vivo* та *ex vivo*. Наведено детальну схему селекційного процесу та біохімічні і фізіологічні методи, застосовані при проведенні досліджень. Для математичної обробки результатів і побудови графічного матеріалу використані стандартні пакети прикладних програм. Таким чином, методична частина роботи справляє позитивне враження та свідчить про якісну експериментальну підготовку здобувача.

У першому експериментальному розділі «Клональне мікророзмноження міскантусу» обговорюються результати досліджень особливостей отримання асептичного матеріалу насіння та рослинних експлантів різних генотипів міскантусу, питань їх мікроклонального розмноження та укорінення. Встановлено найбільш ефективні розчини стериліантів та розроблено оптимальні живильні середовища для максимального стимулювання пагоноутворення та інтенсивного різогенезу. Спосіб стерилізації дрібного насіння для введення в культуру *in vitro* захищено патентом на корисну модель.

У другому експериментальному розділі «Толерантність пагонів міскантусу до умов водного дефіциту *in vitro*» викладено оригінальні результати досліджень з вивчення толерантності пагонів генотипів міскантусу до умов водного дефіциту за використання як осмотично активної

речовини маніту різної концентрації. Досліджено зміну фізіолого-біохімічних показників мікроклонів міскантусу *in vitro* таких як вміст сухої речовини, хлорофілів *a* і *b* за дії маніту. До характеристики фізіологічного стану долучені цитологічні дослідження з визначення стану продихів мезофілу листків. Підібране оптимальне селективне живильне середовище для відбору та укорінення толерантних до водного стресу рослин в умовах *in vitro*. Вивчено життєздатність експлантатів міскантусу за умов сольового стресу *in vitro*. Окремий підрозділ присвячено дослідженню фізіолого-біохімічних показників солетолерантних рослин-регенерантів міскантусу, активності антиоксидантних ферментів каталази та пероксидази, які проявляють стресопротекторні властивості. Розроблена шкала оцінювання ступеня толерантності міскантусу до абіотичних чинників з врахуванням комплексних показників фізіологічного стану організму.

Третій експериментальний розділ «Продуктивність вихідних форм міскантусу та їх адаптивність до абіотичних факторів *ex vitro*» присвячено доробку пошукача з дослідження біоморфологічних та фізіолого-біохімічних показників рослин міскантусу, залежно від різної вологості та засоленості ґрунту за умов вегетаційного дослідження. Окремі підрозділи присвячено вивченню динаміки розвитку анатомо-морфологічних змін при перенесенні розсади міскантусу в умови відкритого ґрунту та адаптації і випробуванні рослин у польових умовах.

Оцінку ступеню збереження вмісту хлорофілів *a* та *b* і активності ферментів оксидоредуктаз за різних умов стресу запропоновано використовувати як тест-ознаку толерантності до посухи у рослин міскантусу.

Таким чином, результати дисертації отримано на підставі аналізу великого фактичного матеріалу з використанням сучасних і адекватних поставленим завданням методів досліджень. Достовірність результатів підтверджується відповідною статистичною обробкою. Вважаю, що основні

положення дисертації, її висновки є обґрунтованими і відповідають поставленим меті та завданням.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. Основні результати дисертаційного дослідження відображено у 12 наукових та науково-методичних працях, серед яких: 5 статей, в тому числі у наукових фахових виданнях України та включених до міжнародних наукометричних баз, один патент України на корисну модель, 2 науково-методичні рекомендації, 4 тез доповідей.

Матеріал у дисертації викладений чітко і логічно, проілюстрований великою кількістю таблиць і рисунків. Автореферат адекватно відображає зміст дисертації.

Недоліки дисертації та автореферату щодо змісту і оформлення.

Дисертація Коцар М.О. є масштабною за обсягом, з високим рівнем результатів та впровадженням. Тому зауважень по суті у опонента немає.

1. До назви дисертації «Оцінка та добір вихідного матеріалу для селекції міскантусу біотехнологічними методами» доцільно було б додати латинську назву міскантусу.

2. В тексті дисертації є невдало сформульовані речення.

3. У тексті дисертації та автореферату зустрічаються русизми, помилки друку, неузгодженість відмінків, пропуски слів, брак ком.

4. Є випадки неточного вживання української наукової термінології. Наприклад, замість «окисно-відновні» (ферменти) - «окиснювально-відновні», «окислення» - «окиснення» тощо.

5. У підписах до таблиці 4.3 (дисертація) та табл.1 (автореферат) не вказано, які форми хлорофілу визначалися і в яких саме органах рослин.

Однак ці зауваження не носять принципового характеру і не знижують наукової цінності дисертації, яка виконана на високому науковому та методичному рівні, написана логічно, доступним для сприйняття науковим стилем.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Вважаю, що дисертаційна робота Коцар Марії Олександрівни «Оцінка та добір вихідного матеріалу для селекції міскантусу біотехнологічними методами» містить наукові положення та науково обґрунтовані результати з біотехнології та селекції рослин, що розв'язують важливі наукові та науково-прикладні проблеми селекції міскантусу, щодо яких здобувач є суб'єктом авторського права, відповідає вимогам до кандидатських дисертацій згідно з п.п. 9, 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р., а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 – селекція і насінництво.

Офіційний опонент,
доктор сільськогосподарських наук,
доцент, професор кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття
Національного університету біоресурсів
та природокористування України



О.Л. Кляченко

Підпис О.Л. Кляченко засвідчую

Учений секретар



О.Д. Барановська