

ВІДГУК
офіційного опонента А. І. Опалка на дисертаційну роботу
Коцар Марії Олександрівни
«Оцінка та добір вихідного матеріалу для селекції міскантусу
біотехнологічними методами»,
подану до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата
сільськогосподарських наук з спеціальності
06.01.05 — селекція і насінництво.

Детальний аналіз дисертації Коцар М. О. «Оцінка та добір вихідного матеріалу для селекції міскантусу біотехнологічними методами» дає підстави сформулювати узагальнені висновки щодо актуальності, ступеня обґрунтованості основних наукових положень, висновків, рекомендацій, достовірності, наукової новизни, практичного значення, а також зробити загальну оцінку представленої роботи.

1. Актуальність теми. Дисертація спрямована на вирішення важливої для розвитку сировинної бази вітчизняної біоенергетики проблеми вдосконалення технології селекції міскантусу. Незважаючи на те, що у Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2018 рік, вже занесено декілька сортів трьох видів міскантусу (міскантус гігантський — *Miscanthus × giganteus* J. M. Greef & Deuter ex Hodk. & Renvoize; міскантус китайський — *M. sinensis* Andersson; міскантус цукровітковий — *M. sacchariflorus* (Maxim.) Benth. & Hook. f. ex Franch.), промислові плантації цієї надзвичайно перспективної рослини наразі невеликі. З-поміж багатьох причин гальмування впровадження міскантусу у виробництво, як-то недостатній розвиток відповідної інфраструктури, відсутність стабільного ринку кінцевого споживача, опір незацікавленого у використанні альтернативних енергоносіїв нафтогазового лобі тощо, слід назвати також недостатній рівень теоретичного обґрунтування технологій селекційного вдосконалення і швидкого розмноження вихідного матеріалу міскантусу. Дисертаційна робота М. О. Коцар закриває частину наявних прогалин у цьому. Тому актуальність виконаних досліджень не викликає

сумнівів. Це також підтверджується зв'язком роботи з відповідними розділами 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).

2. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Мета дослідження визначена правильно, чітко поставлені завдання зумовлюють переконливість результатів, винесені на захист наукові положення, а також висновки й рекомендації, сформульовані в дисертації, логічно впливають з глибокого аналізу результатів досліджень. Вони цілком обґрунтовані, не викликають сумнівів, а їхня достовірність підтверджена статистичним аналізом дослідних даних, що дає підстави визнати дисертацію завершеною науковою працею. Зміст автореферату відповідає змісту дисертаційної роботи, а сама робота — змісту паспорту спеціальності 06.01.05 – селекція і насінництво.

3. Наукова новизна і практична цінність роботи. Виконані дослідження характеризуються науковою новизною і практичною цінністю. Авторкою вперше доведено ефективність включення біотехнологічної ланки у селекційний процес міскантусу, зокрема добору *in vitro* толерантних до посухи і засолення генотипів, що дало змогу відібрати цінний вихідний селекційний матеріал для вдосконалення цієї перспективної біоенергетичної культури. Новизна запропонованого дисертанткою способу стерилізації насіння для введення *in vitro* підтверджена патентом на корисну модель.

Головне практичне значення виконаної роботи логічно витікає з наукової новизни і полягає в обґрунтуванні експрес-методу оцінювання *in vitro* ступенів толерантності рослин міскантусу щодо абіотичних стресових чинників, застосування якого сприяло виділенню генотипів *M. × giganteus* (зразки № 1 і № 2), які поєднують ознаки толерантності до осмотичного та

сольового стресів з виходом енергії, що перевищив середні показники по групі на 26,1 і 59,4 %.

4. Повнота викладу результатів в опублікованих працях.

Порівняльний аналіз тексту дисертації, автореферату і основних опублікованих праць засвідчує повноту викладу результатів досліджень у 12 наукових працях, з яких чотири — у фахових журналах та збірниках України, одна — у науковому періодичному виданні Білорусі; чотири — у матеріалах і тезах науково-практичних конференцій, зокрема одна — у виданні Республіки Адігея. Окрім того, авторкою з колегами видано дві методичні рекомендації щодо оцінювання й отримання нових форм міскантусу толерантних до абіотичних стресових чинників *in vitro* та одержано Патент на корисну модель стосовно способу стерилізації дрібного насіння для введення *in vitro*. Це дає підстави визнати, що головні наукові положення та результати виконаних експериментальних досліджень достатньою мірою висвітлені в опублікованих працях, які за змістом і формою цілком відповідають вимогам, що ставляться до останніх.

5. Зміст дисертації. Дисертацію викладено на 179 сторінках комп'ютерного набору, вона містить перелік умовних скорочень, вступ, п'ять розділів, у яких розміщено 28 таблиць і 26 рисунків, висновки та рекомендації виробництву, список використаних джерел та п'ять додатків. Список використаних джерел нараховує 308 найменувань, з яких 169 — латиницею. Тобто дисертація має класичну структуру й оптимальний обсяг.

У першому розділі «Біотехнологічні основи селекції високоадаптованих форм міскантусу» (С. 21–52) подається огляд літератури, у якому обговорено результати досліджень і теоретичні висновки вітчизняних і зарубіжних вчених щодо перспектив використання міскантусу як біоенергетичної культури. Аналізуються основні біологічні особливості міскантусу, зокрема реагування на різні абіотичні стреси та способи адаптації до них, розглядається можливість застосування біотехнологічних методів у створенні вихідного матеріалу для селекції на підвищення адаптованості до

абіотичних чинників довкілля. Визначено недостатньо вивчені питання та обґрунтовано необхідність проведення досліджень з метою прискорення селекційного процесу створення толерантних до засолення й посухи генотипів, зокрема вдосконалення техніки *in vitro* для добору високоадаптивних форм на ранніх етапах селекції.

Другий розділ дисертації (С. 53–66) присвячено матеріалам і методиці проведення досліджень. Авторкою описано ґрунтово-кліматичні умови зон розташування дослідного поля Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України та Ялтушківської дослідно-селекційної станції, а також метеорологічні умови в роки досліджень. Охарактеризовано вихідний матеріал (8 генотипів міскантусу, зокрема три види і п'ять сортів), вказані основні методи проведення досліджень у полі і в біотехнологічній лабораторії (усього 11 дослідів) та статистичного аналізу отриманих експериментальних даних.

У розділі 3 (С. 67–78) «Клональне мікророзмноження міскантусу в культурі *in vitro*» викладено дані авторки щодо ефективності стерилізації експлантів різних генотипів міскантусу залежно від асептики, його концентрації, експозиції обробки насіння та/або бруньок ризом, що засвідчують переваги 30 % гіпохлориту натрію з експозицією 10 хв. для стерилізації насіння та 0,1 % розчину дихлориду ртуті в експозиціях 50 і 70 хв. для стерилізації бруньок ризом. У цьому розділі також наведено результати вивчення ефективності пагоноутворення та інтенсивності ризогенезу залежно від вмісту цитокінінів та/або ауксинів, що додавалися у відповідні МС-живильні середовища. Зокрема для стимулювання пагоноутворення найбільш ефективним було додавання до середовища МС₁ кінетину 0,5 мг/л+БАП 0,5 мг/л, тоді як найбільш інтенсивний ризогенез спостерігали у варіантах МС₂ з додаванням ІОК 0,5 мг/л та НОК 0,5 мг/л.

У четвертому розділі «Реакція пагонів міскантусу в умовах *in vitro* на абіотичні стреси» (С. 79–112) виконано аналіз середовищ культивування як провокаційного фону для добору, на підставі якого переконливо доведено

ефективність використання за осмотичний агент, що імітує водний стрес, додавання до живильного середовища MC_1 маніту у концентрації 0,04 М. Саме у цьому варіанті дисертантці вдалося відібрати найбільш толерантні стосовно розмноження в умовах імітації водного стресу форми *M. ×giganteus* (зразки № 1 та № 2), *M. sinensis* та *M. sinensis* 'Silberspinne'. Натомість краще вкорінювались *M. ×giganteus* (зразки № 1 та № 2) і *M. sinensis* на живильному середовищі MC_2 +маніт 0,02 М. На середовищах з додаванням *NaCl* (MC_1 +1,0 % *NaCl*) було відібрано толерантні до сольового стресу генотипи *M. ×giganteus* (зразки № 1 та № 2).

У розділі 5 «Продуктивність вихідних форм міскантусу та їх адаптивність до абіотичних факторів *in vivo*» (С. 113–140) аналізуються результати дослідження прояву біоморфологічних та фізіолого-біохімічних показників відібраних за толерантністю *in vitro* рослин міскантусу залежно від різної вологості ґрунту та сольового стресу в умовах вегетаційного дослідження, а також приживлюваності розсади міскантусу та анатомо-морфологічні показники в умовах відкритого ґрунту. У вегетаційному досліді в умовах сольового стресу кращими селекційними зразками за сукупністю біоморфологічних та фізіолого-біохімічних показників виявилися *M. ×giganteus* (зразок № 1) та *M. sinensis*, які були раніше відібрані *in vitro* як найменш чутливі до сольового стресу. У польових умовах Ялтушківської дослідно-селекційної станції найвищу ступінь толерантності щодо абіотичних стресових чинників показали зразки № 1 та № 2 *M. ×giganteus*, у яких показник виходу енергії досягнув 510,0 та 644,6, проти середнього по групі 404,5 ГДж/га.

6. Зауваження щодо змісту дисертаційної роботи. Зазначаючи великий об'єм виконаних досліджень, за загальної позитивної оцінки виконаної роботи в ній мають місце мовні огріхи, похибки в оформленні та не завжди достатньо обґрунтовані інференції. Зокрема слід вказати на наступне:

1. Дані щодо кількості опадів на дослідному полі ІБКіЦБ впродовж квітня–жовтня 2013–2015 рр. демонструються у табл. 2.2, описуються і досить ґрунтовно характеризуються на стор. 54–56, а метеорологічні умови 2015 р. в ЯДСС на стор. 56–58, однак в обох випадках дисертантка знехтувала показниками зимового періоду. Якщо відсутність даних про коливання температури ще можна якось пояснювати, напр. відсутністю вимерзання, то зимові опади слід було врахувати, адже саме від них залежить запас вологи в ґрунті навесні.

2. Вдосконалення потребує зміст і стиль представлення окремих рисунків (рис. 1, С. 28; рис. 2, С. 30; рис. 3, С. 45) стосовно повноти підрисункових підписів.

3. Фотографії рослин (рис. 3.2., С. 70; рис. 5.3., С. 125; рис. 5.4., С. 126; рис. 5.8., С. 138 та ін.) були б інформативніші з мірною лінійкою, а для фото з рис. 4.6. (С. 103) слід було використати посудини однакового діаметру.

4. У шапці таблиці 3.1 у стовпчику з назвою «Стерилізуючий розчин» слово «розчин» дублюється у кожному рядку «Розчин дихлориду ртуті» і «Розчин гіпохлорит натрію» (24 рази), крім того означення до іменника «ртуті» наведено у родовому, до «натрію» — у називному відмінку (С. 68); схожа похибка допущена і у таблиці 3.2 (С. 71), а формула гіпохлориту натрію (NaClO) відсутня у «Переліку умовних скорочень» (С. 15).

5. У тексті роботи допущено відхилення від норм правопису та мовно-стилістичних рис наукового стилю, зокрема:

- фразу «...види *M. giganteus* (зразок № 1), *M. giganteus* (зразок № 2) та *M. sinensis*...» (С. 3) варто замінити на «...види *M. giganteus* (зразки № 1 і № 2) та *M. sinensis*...», так само, як і в англійському варіанті «...*M. giganteus* (sample No. 1), *M. giganteus* (sample No. 2) and *M. sinensis*...» (С. 7) замінити на «...*M. giganteus* (samples No. 1 and No. 2...) and *M. sinensis*...», адже в обох випадках йдеться про два зразки того самого виду;

- замість використаного дисертанткою «Адаптація пробіркових рослин міскантусу в умовах *ex vitro*» (С. 59, рис. 2.1. та на сторінці 63) краще вжити «Адаптація пробіркових рослин міскантусу до умов *ex vitro*»;
- текст «Дослід 9. Вплив різної вологості ґрунту на розвиток рослин...» замінити на «Дослід 9. Розвиток рослин міскантусу... залежно від вологості ґрунту...» (С. 62), так само «Дослід 10. Вплив хлоридно-сульфатного засолення ґрунту на розвиток рослин міскантусу...» (С. 63) варто перефразувати на «Дослід 10. Розвиток рослин міскантусу... залежно від хлоридно-сульфатного засолення ґрунту...», що переносить акцент на прояв господарче-цінних ознак, які характеризують оцінювані генотипи;
- побутовий суржик «Різні **шляхи** ферментативної і неферментативної регуляції...» варто замінити на «Різні **способи** ферментативної і неферментативної регуляції...» (С. 51);
- у тексті дисертації слід удосконалити (уніфікувати) спосіб посилання на праці окремих авторів, зокрема прізвища «Х. М. Починок [287]» та «Б. А. Доспехов [290]» (С. 66) написані з ініціалами, а «Adati [53]» (С. 27), «Курило та ін. [288]», а також «Фучило та ін. [289]» — без ініціалів (С. 66). При написанні прізвищ автора(ів) ботанічних таксонів «*Triarrhena Honda*, *Eumiscanthus Honda*, *Kariyasua Ohwi*» (С. 27), не слід було використовувати курсив, адже «Honda й Ohwi» не ботанічні назви, а скорочені прізвища японських вчених «Masaji Honda та Jisaburo Ohwi»;

6. Потребує ревізії текст «Математично-статистичний аналіз одержаних експериментальних даних виконували за допомогою програмного забезпечення *Microsoft Excel* та за Б. А. Доспеховим [290]» (С. 66). Якщо стосовно програмного забезпечення *Microsoft Excel* заперечень немає, то щодо доцільності виконання аналізу експериментальних даних за виданим у 1985 р. Б. А. Доспеховим навчальним посібником з методики дослідної справи в агрономії виникають серйозні сумніви. Річ у тім, що Борис

Олександрович Доспехов ніколи не був автором методу математичного аналізу експериментальних даних. Він описав особливості застосування методу математично-статистичного аналізу Рональда Ейлмера Фішера у польових дослідженнях, однак не встиг опанувати комп'ютера (пішов із життя у 1978 р.). В Інтернеті у вільному доступі можна читати 14-е видання книги «Fisher R. A. Statistical methods for research workers. — New Delhi: Cosmo Publications, 2006. — 354 р. англійською мовою», є також у вільному доступі виданій у Москві у 1958 році її переклад на російську. Крім того в Україні впродовж останніх років видано чимало книжок з методики дослідної справи в агрономії, зокрема авторськими колективами очолюваними В. Г. Дідорою (2013), Е. Р. Ермантраутом (2008, 2010), В. О. Єщенком (2005, 2014), А. О. Рожковим (2016), В. О. Ушкаренком (2008) та ін., в яких не гірше, ніж у Б. А. Доспехова описано метод Рональда Фішера. Тож якщо є упередження щодо першоджерел, то краще було б скористатись котроюсь із цих книжок. Тим більше, що у багатьох із них є рекомендації щодо використання комп'ютерних програм для статистичного аналізу дослідних даних.

7. Як прикінцеве побажання варто зауважити, що розрахунок кореляції ступеня рівнів толерантності вихідних форм міскантусу до абіотичних стресів *in vitro* та *ex vitro* значно підсилив би переконливість результатів загалом гарно виписаного розділу 5 «Продуктивність вихідних форм міскантусу та їх адаптивність до абіотичних факторів *in vivo*» (С. 113–140).

Проте вказані огріхи переважно стосуються не методики чи змісту, а оформлення, і отже, не знижують наукову цінність і практичне значення виконаної роботи.

Висновки щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Незважаючи на зроблені зауваження, робота заслуговує позитивної оцінки як завершена наукова праця, з відповідною структурою і змістом. Сформульовано правильні висновки і розроблено слушні рекомендації для селекційної практики щодо технологій селекційного вдосконалення і

швидкого розмноження вихідного матеріалу міскантусу. Наукові положення, викладені в дисертаційній роботі, характеризуються науковою новизною і мають практичне значення.

Висновки щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

На підставі аналізу дисертації, автореферату і наукових публікацій можна зробити висновок, що за змістом і обсягом науково обґрунтованих результатів дисертаційна робота Коцар Марії Олександрівни **«Оцінка та добір вихідного матеріалу для селекції міскантусу біотехнологічними методами»** є самостійною, завершеною науковою працею, що цілком відповідає вимогам пунктів 9, 11, 13 «Порядку присудження наукових ступенів...», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що ставляться до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук, а її авторка цілком заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 — селекція і насінництво.

Офіційний опонент

кандидат сільськогосподарських наук,

професор, провідний науковий

співробітник відділу генетики, селекції та

репродуктивної біології рослин Національного

дендропарку «Софіївка» НАН України

А. І. Опалко

Підпис А. І. Опалка

ЗАСВІДЧУЮ:

Провідний інженер з кадрів Національного
дендропарку „Софіївка” НАН України



Г. О. Тонкоглас

25.02.19