

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, доцента,
професора кафедри ботаніки, дендрології та лісової селекції
Національного університету біоресурсів і природокористування України
Ліханова Артура Федоровича

на дисертаційну роботу Шитої Оксани Петрівни
на тему: «Трофічні та гормональні детермінанти онтогенезу регенерантів
Prunus dulcis (Mill.) D.A.Webb. *in vitro*»,
представлену на здобуття ступеня доктора філософії
за спеціальністю 201 «Агрономія»
галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Дисертаційна робота Шитої Оксани Петрівни присвячена вирішенню актуальних завдань оптимізації технології мікроклонального розмноження мигдалю в умовах *in vitro*. Мигдаль як перспективна горіхоплідна культура привертає значну увагу у зв'язку з сучасними екологічними викликами, а також необхідністю диверсифікації агровиробництва й використання нових високопродуктивних сортів, адаптованих до умов України.

Наукове дослідження спрямоване на підвищення біотехнологічного потенціалу культури, що цілком відповідає стратегічним напрямам інноваційної діяльності в галузі агрономії та забезпечує підґрунтя для зміцнення продовольчої безпеки нашої держави.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є результатом багаторічних цілеспрямованих досліджень у межах кафедральної тематики, підтриманої державною програмою з розвитку біотехнологій у рослинництві та затвердженої у Білоцерківському національному аграрному університеті, із залученням матеріально-технічної бази лабораторій факультету агротехнологій, а також у співпраці з іншими науково-дослідними установами.

Наукова новизна одержаних результатів. У роботі вперше у вітчизняній практиці проведено комплексне вивчення впливу різних компонентів живильних середовищ та регуляторів росту на процеси органогенезу мигдалю в культурі *in vitro*. Використання сучасних сортів вітчизняної селекції надало змогу дослідити вплив комплексу чинників на морфогенез, укорінення та адаптацію рослин-регенерантів. Дисертанткою обґрунтовано доцільність застосування модифікованих живильних середовищ (NAMmod) для забезпечення достатньої кількості садивного матеріалу з метою масового розмноження рослин, а також запропоновано методичні підходи для зниження аутоінтоксикації експлантів та підвищення їх життєздатності. Особливу увагу заслуговує розробка технології адаптації рослин *ex vitro*, що при масштабуванні і дотриманні належної агротехніки дозволяє закладати промислові плантації районованих високопродуктивних сортів.

Практичне значення одержаних результатів. Практична цінність дисертаційної роботи полягає у розробці комплексного протоколу мікроклонального розмноження та адаптації рослин-регенерантів мигдалю, який, за наявності спеціалізованих біотехнологічних лабораторій, може бути впроваджений у розсадницьких підприємствах для отримання оздоровленого садивного матеріалу.

Апробація розробленої технології проведена на базі Білоцерківського національного аграрного університету, а також на виробничих платформах ТОВ «Благодатне» ТМ «Тевітта» (Черкаська область) та господарстві «Беррі Фарм Юкрейн» (Волинська область), які спеціалізуються на розмноженні та вирощуванні рослин. Результати дослідження включено до навчальних програм дисциплін «Основи біотехнології рослин» та «Біотехнологія та генетична інженерія» Білоцерківського національного аграрного університету і активно використовуються в освітньому процесі.

Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях. За матеріалами дисертаційної роботи Шити О.П. опубліковано 17 наукових праць, у тому числі 4 статті у фахових виданнях України, 1 стаття – у науковому журналі, що входить до міжнародної наукометричної бази Scopus, та 12 тез у матеріалах науково-практичних конференцій. Результати досліджень достатньо повно висвітлено у публікаціях, що свідчить про апробацію отриманих висновків у професійному науковому середовищі.

Структура та зміст дисертації, її завершеність та відповідність встановленим вимогам. Робота викладена на 177 сторінках друкованого тексту, містить 37 таблиць, 26 рисунків і складається з переліку умовних скорочень, анотації, вступу, шести розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Основна частина дисертації займає 150 сторінок. У роботі використано 171 джерело, з яких 94 – іноземною мовою. Додатки подано на 12 сторінках. Структура роботи повністю відповідає встановленим вимогам, а ілюстративний та графічний матеріал є достатньо інформативним та підтверджує отримані результати.

У вступі обґрунтовано актуальність обраної теми. Мета дисертаційної роботи представляє науково-практичний інтерес, однак її формулювання потребує деяких уточнень. У першій частині слід визначити, які саме фізіолого-біохімічні та анатомо-морфологічні особливості планується вивчати. Якщо акцент робиться на впливі різних умов живлення та гормональної стимуляції рослин *in vitro*, це потрібно зазначити.

У другій частині формулювання «теоретико-експериментальне обґрунтування оптимізації технології» і «практичне вдосконалення методів» доцільно розділити на дві взаємопов'язані, але різні складові: теоретико-експериментальне обґрунтування для формування наукових основ, та практичне вдосконалення методів – для внесення змін у технологічні підходи.

Відповідно до мети, у вступі доволі чітко сформульовані завдання, окреслено об'єкт та предмет дослідження. Водночас серед завдань не згадуються дослідження фізіолого-біохімічних особливостей рослин, а методи досліджень наведені досить формально. Бажано деталізувати ключові методичні підходи, що дозволить фахівцям краще зрозуміти, на якому рівні організації рослинного організму проводилися дослідження.

Перший розділ містить детальний аналітичний огляд сучасної літератури з проблеми *in vitro* розмноження плодових культур, особливо мигдалю та близьких видів, в якому аналізується динаміка поширення культури, основні проблеми інтродукції, а також висвітлено специфіку біотехнологічних підходів до створення оздоровленого садивного матеріалу.

У підрозділі 1.6 перелічуються терміни аклімація, акліматизація, реадаптація та постасептична адаптація. Однак, варто було розкрити ці поняття, їхнє значення в контексті технології мікроклонального розмноження. Використання понять «системи детермінації» та «перебудова механізмів регуляції онтогенезу» у підрозділі є досить абстрактним і потребує більш конкретного пояснення. Слід пояснити, які саме механізми чи системи (генетичні, фізіологічні, біохімічні) мають на увазі під «системою детермінації» та яка «перебудова» відбувається в рослинному організмі.

Висновок до розділу відповідає структурі та темі огляду, проте є спрощеним узагальненням без глибокої власної аналітичної інтерпретації. У ньому відсутній критичний аналіз сучасної літератури, виділення наявних суперечностей, невирішених питань та прогалин у даних, що могло б слугувати підґрунтям для обґрунтування актуальності й новизни дослідження.

У другому розділі детально викладено етапи проведення власних досліджень, спрямованих на мікроклональне розмноження мигдалю в умовах *in vitro* та *ex vitro*. Зокрема, описано підготовку донорів експлантів, їх

деконтамінацію, мультиплікацію, індукцію ризогенезу та адаптацію рослин. Автором наведено склад базових живильних середовищ та регуляторів росту. Однак у розділі відсутній опис морфо-анатомічних та фізіолого-біохімічних методів дослідження рослин, які згадуються у меті роботи, але не вказані в розділі та в переліку завдань.

У підрозділі 2.2 наведено інформацію про обсяги вибірок та кратність дослідів, які в цілому свідчать про належний рівень планування дослідження і є достатніми для отримання надійних результатів. Разом з тим, методи статистичної обробки отриманих даних у розділі відсутні, що ускладнює перевірку надійності та достовірності результатів.

Третій розділ присвячений оптимізації режимів мультиплікації мигдалю *in vitro* із детальним аналізом впливу різних трофічних та гормональних чинників на процеси морфогенезу. Дослідження охоплюють кілька сортів вітчизняної селекції, що дозволяє оцінити сортові особливості у відповіді на дію різних умов культивування. У розділі наведено порівняння ефективності використання різних донорських органів та строків їхньої ізоляції, а також проаналізовано їхній вплив на результативність деконтамінації та морфогенезу.

Особливу увагу приділено оптимальному вибору типу експлантів для забезпечення максимальної асептичності та регенеративного потенціалу. Ретельно досліджено вплив різних живильних середовищ і гормональних комбінацій. Отримані результати свідчать про удосконалення технологічної бази для отримання асептичної культури мигдалю *in vitro* та підвищення ефективності непрямого морфогенезу шляхом точного добору типу експлантів, строків ізоляції та оптимальних живильних середовищ із гормональними компонентами. Цей розділ містить значний обсяг експериментальних даних, що є вагомою науковою основою для подальших розробок і впровадження методів мікроклонального розмноження мигдалю.

У четвертому розділі розкрито питання індукції органогенезу, пошуку оптимальних живильних середовищ для стимуляції калусоутворення та визначення шляхів підвищення частки морфогенних структур. На основі комплексної порівняльної характеристики експериментальних варіантів оцінюється дієвість розроблених підходів.

Водночас, в аналізі результатів трапляються некоректні коментарі. Наприклад, у підрозділі 4.3 (с. 90) отримання життєздатного асептичного матеріалу за використання «меристеми діаметром до 0,5 мм» пояснюється відсутністю судин. Таке подання матеріалу може створити хибне уявлення, що в більших фрагментах меристем судини можуть бути. Проте, добре відомо, що апікальна меристема, незалежно від її розміру, не має провідних елементів. Визначення розміру меристеми у цитованій роботі, ймовірно, носить виключно методологічний характер і обумовлене здатністю меристеми до регенерації.

П'ятий розділ присвячений вирішенню проблем укорінення та особливостей рослин-регенерантів на різних живильних середовищах, а також у різних субстратах із урахуванням вологості, світлових і температурних режимів. Авторкою аналізуються показники життєздатності та розвиток корневих систем. У розділі розглянуто вплив віку донорів експлантів на здатність мигдалю до регенерації. Показано, що важливими факторами для введення рослин у культуру *in vitro* є не лише вікові характеристики донорів, а й умови їхнього культивування. Також доведено, що оптимальна комбінація гормонів є ключовою для одночасної індукції мікропагонів та ризогенезу.

У дослідженнях проаналізовано експланти донорів різного віку, виявлено суттєву різницю у розмірах як самих експлантів, так і регенератів, а також у часових характеристиках початку ризогенезу серед різних сортів. Також проведено детальний аналіз впливу рівня рН різних живильних

середовищ (NAM, NRM, QL, MS, DKW) на процеси коренеутворення та розвиток регенерантів сорту Джорджия. Представлені дані свідчать про значущий вплив рН на тривалість початку ризогенезу, інтенсивність коренеутворення та загальний стан рослин. Такі емпіричні спостереження мають прикладне значення для оптимізації умов культивування мигдалю *in vitro*, адже підкреслюють необхідність підтримання рН у межах оптимального діапазону, сумісного з фізіологічною толерантністю виду.

Втім, у тексті дисертації наведено твердження щодо ролі іонів H^+ у регуляції передачі гормональних сигналів, ферментної активності та їх зв'язку з морфологічними змінами без посилення на власні експериментальні дані або відповідну літературу. Враховуючи відсутність необхідних біохімічних та фізіологічних показників у роботі, зазначене твердження у межах дослідження не може вважатися обґрунтованим.

У шостому розділі наведено результати всебічного дослідження комплексу чинників, що впливають на постасептичну адаптацію регенерантів мигдалю. Зокрема, розглянуто роль субстрату, вологості, температури, освітлення, віку регенерантів, сортових особливостей та умов попереднього культивування *in vitro*.

Авторкою встановлено, що склад субстрату має суттєвий вплив на показники приживлюваності та розвиток кореневої системи. Продемонстровано, що додавання кокосового волокна в оптимальному співвідношенні з перлітом сприяє збільшенню маси кореневої системи, що підкреслює важливість фізико-хімічних властивостей субстрату для процесів ризогенезу та розвитку рослин-регенерантів.

Важливим є встановлення суттєвого впливу вікового чинника і сортових особливостей на результати адаптації. Показано також, що баланс ендогенних гормонів та експериментальний підбір концентрацій екзогенних синтетичних регуляторів росту значною мірою визначають успішність адаптації

регенерантів *in vitro*. Матеріали розділу демонструють комплексний підхід у дослідженні важливих параметрів, водночас у роботі доцільно було б застосувати методи оцінки біохімічних та фізіологічних показників рослин, що поглибило б аналіз відповідних взаємозв'язків.

Загалом, розділ містить значущий науковий потенціал і практичну цінність, оскільки комплексно розкриває взаємодію основних чинників, які забезпечують успішність постасептичної адаптації та подальшого розвитку мигдалевих регенерантів, що є важливим етапом у мікроклональному розмноженні культури.

Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, сформульованих у дисертації. Основні положення логічно впливають із проведених досліджень і узгоджуються з програмною метою та завданнями роботи. Висновки дисертації побудовані на достатньо широкій фактологічній базі та підкріплені експериментальними даними, проте окремі показники потребують статистичного аналізу і деталізації для повної верифікації результатів. Також згадування в дисертації анатомічних і біохімічних особливостей експлантів обмежується загальними описовими твердженнями, що ґрунтуються переважно на літературних джерелах. У власних дослідженнях автором гістологічний або біохімічний аналіз не проводився, тому правильним було б їх не згадувати в узагальнені.

Утім, враховуючи значний обсяг виконаної експериментальної роботи, виявлені недоліки не применшують її теоретичного і практичного значення, а відкриті та дискусійні питання можуть бути основою для подальших наукових досліджень.

Відсутність порушення академічної доброчесності. У дисертаційній роботі не зафіксовано фактів академічного плагіату, фальсифікацій або фабрикацій даних. Усі публікації у співавторстві супроводжені вказівкою на особистий внесок авторки.

Дискусійні положення та зауваження до дисертації.

1. У назві дисертаційної роботи та відповідних розділах доречно замінити термін «онтогенез» на більш коректні з огляду на культуру *in vitro* поняття, зокрема «морфогенез» або «органогенез», оскільки у штучних поживних середовищах повний цикл онтогенезу не відтворюється.

2. Порівняння з іншими кісточковими культурами у роботі, присвяченій мигдалю, доцільно проводити лише за наявності чітких обґрунтувань, спрямованих на підтвердження універсальності сформульованих висновків.

3. У висновку до першого розділу слід чіткіше окреслити основну проблематику, актуальні невирішені питання та суперечності в літературі, які підтверджують необхідність у проведенні власних досліджень.

4. У другому розділі бракує детального опису статистичних, морфо-анатомічних та фізіолого-біохімічних методів дослідження рослин-регенерантів, що відповідають поставленій меті роботи.

5. Деякі висновки (див. розділ. 5, с. 129, розділ 6, с. 142) мають декларативний характер і потребують підсилення експериментальним обґрунтуванням. Зокрема, твердження на кшталт «походження експлантів суттєво впливає на онтогенез регенерантів» (розділ 4, с. 106) слід конкретизувати, які саме аспекти індивідуального розвитку рослин залежать від типу експлантів і що це підтверджує.

6. При описі впливу ендогенних гормонів на фізіологічний стан рослин-регенерантів рекомендується дотримуватися обережності у висловлюваннях, враховуючи відсутність власних прямих експериментальних доказів.

7. При використанні у роботі рисунків та формул із літературних джерел необхідно обов'язково зазначати посилання на першоджерела у підписах до рисунків (наприклад, див. рис. 3.5, с. 69; рис. 4.1–4.3, с. 73–74).

8. Шостий висновок, що підкреслює важливість складу живильного середовища для ефективності мультиплікації, має переважно декларативний

характер і потребує конкретизації щодо наявності або відсутності сортоспецифічних реакцій.

9. У сьомому висновку слід уточнити, що саме є оптимальним (ріст, мультиплікація тощо). Крім того, посилення на літературу як основний аргумент у висновках є неприпустимим, оскільки вони мають базуватися виключно на власних експериментальних даних.

10. Слід детальніше роз'яснити механізми позитивного впливу подовженого фотоперіоду (понад 16 год) та ролі ендогенних регуляторів росту у стимуляції росту та адаптації рослин.

11. У заключному висновку необхідно конкретизувати, що саме розуміється під «компенсаторною здатністю» сорту Луїза у контексті найбільшої кількості коренів.

12. Рекомендації для виробництва доцільно деталізувати шляхом розробки технологічної карти, покрокових інструкцій та схеми біотехнологічного процесу, із виключенням надмірної ботанічної деталізації, що сприятиме ефективному впровадженню у масове виробництво.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Шитої Оксани Петрівни «Трофічні та гормональні детермінанти онтогенезу регенерантів *Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb *in vitro*» є цілісним та самостійно виконаним науковим дослідженням. За актуальністю, науковою новизною, обґрунтованістю представлених результатів та повнотою їх викладення в опублікованих наукових працях робота відповідає вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 261 від 23 березня 2016 року, наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а також Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу

вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року, а її авторка – Шита Оксана Петрівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії зі спеціальності 201 «Агрономія» галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство».

Офіційний опонент:

доктор біологічних наук, доцент,
професор кафедри ботаніки,
дендрології та лісової селекції
Національного університету біоресурсів
і природокористування України

Артур ЛІХАНОВ

«07» серпня 2025 р.

Підпис Артура ЛІХАНОВА засвідчую.
проректор з науково-педагогічної
роботи та цифрової трансформації



Олена ГЛАЗУНОВА