



## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **ВРУБЛЕВСЬКОГО Андрія Темуровича** «Удосконалення існуючих та розробка нових технологічних прийомів мікроклонального розмноження горіхоплідних культур», подану на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 201 Агронімія (20 Аграрні науки та продовольство)

**Актуальність теми.** Світове виробництво горіхів характеризується тенденцією до постійного, хоча й нестабільного зростання. Натомість рівень і темпи розвитку вітчизняного вирощування продукції горіхоплідних культур наразі не задовольняють ні внутрішні потреби переробної галузі, ані попит населення України на горіхи для споживання у свіжому вигляді. Дефіцит лише частково компенсується імпортованою продукцією, зумовлюючи подорожчання горіхів та продуктів їх переробки. При цьому можливість успішного розвитку вітчизняного горіхівництва майже на всій території держави доведена багаторічними дослідженнями, однак для реалізації існуючих потенцій необхідно подолати структурну роз'єднаність підприємств підкомплексу, відмовитись від орієнтації переробних підприємств на імпорту сировину та домогтись поліпшення генотипів вирощуваних сортів.

Процес вегетативного розмноження горіхоплідних культур тривалий, трудомісткий, а для грецького горіха ще й потребує специфічного високотехнологічного обладнання. Тому зусилля багатьох дослідників спрямовано на розробку промислових технологій мікроклонального розмноження фундука та грецького горіха, що дозволить збільшити обсяги виробництва й розширити асортимент садивного матеріалу та експортної продукції. Це обумовлює активізацію наукового пошуку цитологічних, фізіологічних, технологічних і організаційних прийомів удосконалення технологій *in vitro/ex vitro* і доведення їх до масового впровадження.

Також важливим питанням є створення та підбір вихідного садивного матеріалу сортів фундука та грецького горіха з цінними господарськими властивостями, особливо враховуючи відповідності глобальним змінам клімату.

**Наукова новизна** полягає в одержанні посухостійких ліній фундука та грецького горіха та вивченні особливостей перебігу фізіологічних процесів у рослинах під впливом осмотичного стресу.

*Вперше* розроблені та запропоновані схеми клітинної селекції та індукованого мутагенезу *in vitro* для фундука та грецького горіха, які дозволяють одержувати калюсні лінії й рослини-регенеранти з підвищеною стійкістю до осмотичного стресу.

*Дістали подальшого розвитку* питання використання в клітинній селекції фундука та грецького горіха на стійкість до посухи  $\gamma$ -опромінення з подальшим культивуванням калюсних культур з поліетиленгліколем та манітом.

Експериментально встановлено, що підвищення стійкості на клітинному та тканинному рівнях, зберігається на рівні рослин-регенерантів фундука та грецького горіха.

**Практичне значення отриманих результатів.** На основі результатів лабораторних досліджень та їх експериментальної перевірки розроблено науково



обґрунтовану систему застосування в селекції фундука та грецького горіха з попереднім використанням індукованого мутагенезу, що дозволяють отримати та зберегти ознаку посухостійкості на рівні регенерантів зі збереженням господарсько-цінних ознак.

Результати роботи можуть бути використані для створення нових високопродуктивних посухостійких сортів фундука та грецького горіха.

Результати досліджень доповідались на засіданнях кафедри лісівництва, ботаніки і фізіології рослин та агробіотехнологічному факультеті Білоцерківського національного аграрного університету МОН України (2016–2019 рр.), та багатьох наукових конференціях.

Матеріали дисертаційної роботи апробовані в Уманському національному університеті садівництва.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.** Розроблені автором і викладені у дисертаційній роботі висновки та рекомендації мають високий рівень обґрунтованості. Здобувачем опрацьовано значну кількість літературних джерел як вітчизняних, так і зарубіжних авторів, якісно проаналізовано світовий досвід одержання посухостійких ліній фундука та грецького горіха та вивченні особливостей перебігу фізіологічних процесів в рослинах під впливом осмотичного стресу. На основі узагальнення літературних даних та результатів розроблених схем клітинної селекції та індукованого мутагенезу *in vitro* для фундука та грецького горіха автор визначив головні напрямки досліджень та розробив програму, що дозволило в повній мірі розкрити мету й завдання досліджень. Винесені на захист висновки й рекомендації виробництву логічно випливають із результатів досліджень, проведених автором. Дисертант обґрунтовано використав різні методи, в тому числі: загальнонаукові – *гіпотеза, експеримент, спостереження та спеціальні* – *біотехнологічні, біохімічні, молекулярно-генетичні, математично-статистичні, порівняльно-розрахункові*. Достовірність отриманих результатів не викликає сумніву. Всі вони достатньо теоретично обґрунтовані та практично підтверджені при використанні у виробництві. Рекомендації виробництву відповідають даним досліджень та змісту дисертації, яка є завершеним етапом проведеної дослідної роботи.

На основі проведених досліджень здобувачем сформульовані наукові положення, висновки і рекомендації для виробництва.

*Із них найважливіші наступні:*

1. Культивування рослин на середовищі DKW забезпечувало формування найбільшої кількості мікропагонів – 3,6 шт. в порівнянні з середовищами QL та MS, які мали показники 1,8 шт. та 2,1 шт. відповідно.
2. Для якісного подолання проблем фенолоутворення запропоновано та впроваджено ряд заходів: культивування маточних рослин за розсіяного світла в умовах депозитарію; використання антиоксиданта аскорбінової кислоти для замочування експлантатів перед стерилізацією; введення рослин шляхом виділення меристем, пробуджених бруньок; додавання в живильне середовище біоциду PPM (Plant Preservative Mixture); додавання в живильне середовище ПВП (полівінілпіролідон).

3. Для успішного ризогенезу середовище модифікували додаванням 2,5 г активованого вугілля та ауксину індолілмасляної кислоти в кількості 3,0 мг/л., що забезпечило формування найбільшої кількості коренів в варіантах досліду – 2,5 шт.
4. Внесення препарату Превікур Енерджі 840 sl в.р.к. на початку постасептичної адаптації забезпечило кращу приживлюваність рослин, стійкість до хвороб та збільшення маси рослин в порівнянні з контролем.

Дані положення і висновки обґрунтовані експериментальним матеріалом викладеним у розділі 3 дисертації табличним матеріалом (3.1–3.4) та рисунком 3.3.

5. Досліджено, що кращий ростовий індекс за середовища на базі припису Драйвера і Куніюкі спостерігали при отриманні калюсу в сортів фундука: Барселонський, Трапезунд, Косфорд та Болградська новинка, та сортів грецького горіха: Фернет, Буковинський 2, Кишиневський, Кордене та Ярівський. Експериментально доведено, що кращим варіантом живильного середовища є середовище за прописом Драйвера і Куніюкі, адже воно ефективно працює за вирощування обох культур в умовах *in vitro*. Обрахунок кореляційної залежності між узагальненими показниками «площа прилистків» ↔ «площа клітин» продемонстрував сильний кореляційний зв'язок ( $r=0,81$ ), що вказує на пряму залежність формування площі прилистків від особливостей анатомічної структури клітин епідермісу.
6. Порівняння динаміки суспензійних культур окремих сортів фундука з середніми значеннями показує, що показники кількості клітин в 1 мл суспензії (Ч105) для сортів: Дар Павленка, Лозівський шаровидний, Пірожок, Степовий 83, Боровський та Серебристий були нижчі середньої кількості клітин, а в сортів: Болградська новинка, Косфорд, Барселонський та Трапезунд – вищі. А в окремих сортів грецького горіха з середніми значеннями по досліду встановлено, що показники кількості клітин в 1 мл суспензії (Ч105) для сортів: Коржеуцький, Кордене, Ферджан та Клішківський були нижчі середньої кількості клітин, а в сортів: Кишиневський, Чернівецький 1, Ярівський, Буковинський 2 та Фернет – відповідно вищі.
7. Визначено, що на живильному середовищі за прописом Драйвера і Куніюкі спостерігався не лише високий відсоток регенерації рослин, але й частота регенерації. Так, краща регенераційна здатність була у сортів фундука Болградська новинка, Косфорд та Барселонський. При цьому кількість отриманих регенерантів становила 54 %, 56 % та 55 %, а частота регенерації рослин з морфогенних калюсів – 63 %, 61 % та 60 % відповідно. Краща регенераційна здатність була зафіксована у сортів грецького горіха Буковинський 2, Коржеуцький, Клішківський та Фернет. При цьому кількість отриманих регенерантів становила 65 %, 62 %, 62 % та 62 %, а частота регенерації рослин з морфогенних калюсів – 68 %, 68 %, 64 % та 63 % відповідно.

Дані положення і висновки обґрунтовані експериментальним матеріалом, викладеним у розділі 4 дисертації, підпункти 4.1, 4.2, 4.2.1, 4.3, 4.4, (табл. 4.1–4.17).

8. Визначено, що для проведення клітинної селекції та створення посухостійкого матеріалу фундука та грецького горіха найбільш доцільно використовувати сублетальну концентрацію маніту 6 %, або ж ПЕГ 6000 – 20 %.
9. Досліджено, що максимальне число посухостійких калюсних ліній формували сорти Трапезунд, Косфорд, Барселонський та Пірожок за додавання селективного агенту маніту, та сорти Барселонський, Трапезунд та Косфорд за додавання в якості селективного агенту ПЕГ 6000. Отже, сорти фундука Барселонський та Косфорд однаково добре підходять для селекції на посухостійкість з використанням обох селективних середовищ – маніту та ПЕГ 6000.
10. Досліджено, що кращі показники відсотку числа посухостійких рослин регенерантів було отримано на селекційному середовищі з використанням маніту в сортів Кишиневський, Коржеуцький та Ферджан. А от за використання середовища з додаванням ПЕГ 6000 більше посухостійких рослин регенерантів формувалось в сортів грецького горіха Буковинський 2, Ярівський та Фернет.
11. Визначено, що за застосування гама опромінювання або сечовини та культивування калюсу на селективному середовищі з додаванням маніту найбільша частота утворення морфогенного калюсу спостерігалась в сортів фундуку: Косфорд, Трапезунд, Дар Павленко, Степовий 83 та Барселонський, а за аналогічних умов опромінення та культивування на середовищі з додаванням ПЕГ – в сортів: Барселонський, Трапезунд, Косфорд, Пірожок та Степовий 83.
12. Встановлено, що за застосування сечовини та культивування калюсу на селективному середовищі з додаванням маніту найбільша частота утворення морфогенного калюсу спостерігалась в сортів грецького горіха: Буковинський 2, Чернівецький 1, Фернет, Ярівський та Кордене, а за аналогічних умов опромінення та культивування на середовищі з додаванням ПЕГ – в сортів: Буковинський 2, Фернет, Клішківський, Ярівський та Чернівецький 1.

Дані положення і висновки обґрунтовані експериментальним матеріалом, викладеним у розділі 5 дисертації, підпункти 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 (табл. 5.1–5.10).

13. Краще укорінення генотипів фундука зафіксовано на середовищі Драйвера і Куніюкі – 25 шт., що становило 61 % від загальної кількості експлантів, а в горіха грецького 32 шт. та 71 % відповідно. Укорінення генотипів фундука на середовищі Мурасіге і Скуга в середньому становило 46 % від загальної кількості експлантів, а в горіха грецького 22 шт. та 49 %.
14. Досліджено, що ризогенез краще відбувався в рослин фундука за висаджування їх на перліт та вермикуліт. Так, у рослин цих варіантів збільшувалась кількість корінців на 26 шт. та 51 %, порівняно з контролем.



Також в рослин грецького горіха за висаджування їх на перліт та вермикуліт збільшувалась кількість корінців на 40 шт. та 83 % відповідно порівняно з стандартом. Кращі варіанти за біометричними показниками сприяли формуванню більшої за масою, але меншої за довжиною кореневої системи.

15. Середня довжина пагону рослин фундука за вирощування їх на перліті становила 81,23 мм, а на вермикуліті – 95,63 мм. Аналогічно застосування перліту та вермикуліту сприяло більш кращому росту стебла, тобто збільшенню діаметра пагона. Також встановлено, що за висаджування рослин грецького горіха на перліт та вермикуліт, довжина їх пагонів збільшилась до 85,98 та 99,26 мм, а діаметр до 6,78 та 7,23 мм.

Дані положення і висновки обґрунтовані експериментальним матеріалом, викладеним у розділі 6 дисертації (табл. 6.1–6.6).

**Відповідність дисертації встановленим вимогам.** Дисертаційну роботу викладено на 179 сторінках машинописного тексту, в т. ч. 139 – основного тексту, включаючи 39 таблиць і 4 рисунки. Вона складається з анотації, вступу, шести розділів, висновків, рекомендацій виробництву, списку використаних джерел наукової літератури, що нараховує 350 найменувань, з них 146 – латиницею, що свідчить про наукову обґрунтованість та достовірність зроблених висновків.

Тематика роботи відповідає її змісту. Матеріали дисертації висвітлено в 5 наукових працях, серед яких: 2 статті у фахових виданнях України, 1 стаття в іноземному виданні, що індексується у наукометричній базі Scopus, 1 стаття в іноземному виданні, 2 тез доповідей на конференціях.

Дисертацію викладено літературною мовою. Дисертаційна робота характеризується цілісністю викладення матеріалу. Розділи розташовано у логічній послідовності послідовності. Технічне оформлення дисертації відповідає діючим технічним вимогам.

В роботі застосовували як загально наукові, так і спеціальні методи проведення досліджень.

Незважаючи в цілому на позитивну оцінку викладених у дисертації положень, висновків і рекомендацій виробництву, високий рівень актуальності та практичної значущості, мають місце ряд моментів, що мають дискусійний характер і викликають деякі зауваження і побажання. До них, зокрема, можна віднести наступні:

1. В анотації дисертаційної роботи варто було б ширше висвітлити наукову новизну отриманих результатів, а також, крім назви використаних препаратів, вказувати їхню діючу речовину.

2. Необхідно уточнити відповідність сторінок, вказаних у змісті дисертації та в основному тексті (розділ 1, 3).

3. В методиці досліджень при наведенні опису сортів фундука та грецького горіха вказано лише їх районування в 80-х роках минулого сторіччя, хоча більшість з них є в Державних реєстрах сортів рослин, придатних для поширення в 2019–2020 рр. Крім того назви деяких сортів необхідно уточнити (наприклад сорт фундука Дар Павленко).

4. Деякі терміни використано в роботі (парник, теплиця, стандарт), але відсутні в розділі методики досліджень.

5. Розділ 3 переобтяжений даними про оптимізацію параметрів культивування рослин в культурі *in vitro*, які доцільно було б розмістити в огляді літератури.

6. Посилання на використані джерела слід розміщувати в порядку зростання, крім того, деякі з них потребують уточнень – наприклад, джерело [150].

7. Використані в процесі написання дисертаційної роботи методи статистичного аналізу дозволяють дати достовірну оцінку отриманих експериментальних даних і підтвердити зроблені висновки, але в деяких наведених рисунках і таблицях вони відсутні (рис. 1, табл. 6.1–6.6).

8. За масою експериментального матеріалу, їх достовірністю, кількістю табличного матеріалу доцільно було б ширше представити й ілюстративний матеріал досліджень: більше рисунків, графіків, схем та фотоматеріалів, які значно покращили б загальний вигляд роботи та її інформативність.

9. У дисертаційній роботі трапляються граматичні помилки, невдалі вирази, деякі терміни зустрічаються без виділення курсивом, не завжди вказані одиниці виміру та відсотки, назви та текст деяких таблиць і рисунків потребують до оформлення відповідно до вимог (рис. 3.1, 3.2, табл. 4.14, 4.17, 5.2, 5.4–5.6, 5.10, 6.4–6.6).

10. У викладеному табличному матеріалі дисертації доцільно наводити дані результатів досліджень мінімум за три роки.

11. В процесі виконання досліджень використано значну кількість високотехнологічного лабораторного обладнання, реактивів, стерилізаторів, поживних сумішей, що дало змогу отримати досить високі результати по одержанню посухостійких ліній фундука та грецького горіха та вивченню особливостей перебігу фізіологічних процесів в рослинах під впливом осмотичного стресу, але в роботі не показані технологічні карти проведення досліджень та не дано економічну оцінку ефективності отриманих результатів, що буде ускладнювати їх впровадження.

12. Загалом логічні й правильні висновки потребують деякої конкретизації, скорочення, уточнення й узагальнення, а рекомендації виробництву – узагальнення.

13. У списку використаної літератури деякі джерела оформлені за застарілими вимогами – наприклад, №№ 14, 92, 205.

14. Назву грецький горіх було б доцільно замінити загальноживаним ботанічним терміном горіх волоський.

*Загальний висновок про роботу.* Названі зауваження і побажання не мають принципового характеру і не змінюють загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота Врублевського Андрія Темуровича «Удосконалення існуючих та розробка нових технологічних прийомів мікроклонального розмноження горіхоплідних культур» написана й оформлена

відповідно вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у вищих навчальних закладах (наукових установах), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року № 261 (зі змінами і доповненнями від 03 квітня 2019 року № 283), п. 10 Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 06 березня 2019 р. № 167 (зі змінами), і є завершеною науковою працею, а її автор, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності Агронімія 201 (20 Аграрні науки і продовольство).

Офіційний опонент:

доктор сільськогосподарських наук, професор,  
завідувач відділу генетики, селекції  
та репродуктивної біології рослин  
Національного дендрологічного  
парку «Софіївка» НАН України

Олександр БАЛАБАК

Підпис Олександра БАЛАБАКА засвідчую:  
Провідний інженер  
з підготовки кадрів



Галина ТОНКОГЛАС