



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 Агрономія (20 Аграрні науки та продовольство)

Актуальність теми. Вирощування горіхоплідних культур є потужним перспективним напрямом вирощування в Україні аграрної продукції на експорт. Попит на продукцію горіхоплідних, так само як і олійних культур, перевищує пропозицію. Однак на сьогодні в державі є незадоволений попит на внутрішньому ринку, що створює умови для інтервенції імпортованих плодів. Ефективний захист вітчизняного виробника горіхоплідної продукції полягає не в збільшенні на неї ввізного мита, а у створенні нових конкурентноспроможних сортів та у розробці технологій їх прискореного розмноження.

Процес вегетативного розмноження деревних культур тривалий, і особливо горіхоплідних, трудомісткий, а для грецького горіха майже неможливий. Тому зусилля багатьох дослідників спрямовані на розробку промислових технологій мікроклонального розмноження (МКР) фундука та грецького горіха. Їх застосування дозволить збільшити обсяги виробництва і розширити асортимент посадкового матеріалу та експортної продукції.

Проте мікроклональне розмноження горіхоплідних культур досі не вийшло за межі наукових лабораторій. Стримують розробку та впровадження складність таких технологічних прийомів як введення в асептичні умови (самоотруєння фенольними ексудатами, гіпергідратація в результаті травматичного шоку та ін.), стабілізація рослинних об'єктів у процесі мультиплікації (підбір оптимальних трофічних та гормональних детермінант, способів поділу донорних рослин на експланти), індукція ризогенезу та постасептична адаптація (в т.ч. мікоризація рослин *in vitro/ex vitro*).

Це обумовлює активізацію наукового пошуку цитологічних, фізіологічних, технологічних, і організаційних прийомів удосконалення технологій і доведення її до промислового рівня.

Також важливим питанням залишається створення вихідного матеріалу здатного ефективно виживати в умовах посухи, особливо на ранніх етапах розвитку рослин. Адже посухи уже трапляються на всій території України, а за незначного розвитку кореневої системи саджанці фундука та горіху мають досить низький відсоток виживання за висаджування їх в відкритий ґрунт.

Слід відзначити, що одержання посухостійких ліній фундука та грецького горіха та вивчення особливостей перебігу фізіологічних процесів в рослинах під впливом осмотичного стресу України не було проведено, що робить дослідження Врублевського А.Т. в цьому напрямі актуальними.

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

Дістали подальшого розвитку: питання використання в клітинній селекції фундука та грецького горіха на стійкість до посухи γ -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 одержаних результатів полягає в тому, що на основі результатів лабораторних досліджень та їх експериментальної перевірки розроблено науково обґрунтовану систему застосування у 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.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. У дисертаційній роботі узагальнені результати власних

досліджень здобувача (2016-2020 рр.), що виявляються в аналітичному огляді та аналізі наукової літератури, розробленні програми досліджень, проведенні досліджень, виконання статистичних обробок отриманих результатів, їх теоретичне узагальнення та практичне впровадження.

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

Із них найважливіші наступні:

1. Культивування рослин проводять на середовищі DKW, що забезпечує формування найбільшої кількості мікропагонів – 3,6 шт. порівняно з 1,8 шт. на середовищах QL та 2,1 шт. на MS.

Для подолання проблем фенолоутворення пропонуємо 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).

На етапі мультиплікації в живильне середовище додають 1,5 мг/л бензиламінопурину. Ця концентрація сприяла формуванню у середньому 4,8 шт. мікропагонів з високим темпом росту і з низьким відсотком вітрифікації 2 %.

Для успішного ризогенезу середовище модифікують додаванням 2,5 г активованого вугілля та ауксину індолілмасляної кислоти в кількості 3,0 мг/л. Додавання 2,5 г активованого вугілля забезпечує формування найбільшої кількості коренів – 2,3 шт. на 3 мг/л ІМК у складі живильного середовища і сприяє збільшенню кількості коренів із 0 на контролі до 2,5 шт.

На початку постасептичної адаптації рослини та субстрат обприскують фунгіцидом Превікур Енерджі 840 sl в.р.к., що забезпечує кращу приживлюваність рослин. Окрім фунгіцидного захисту, препарат стимулює ростові процеси, що проявляється у збільшенні маси рослин.

Дані положення і висновки обґрунтовані експериментальним матеріалом, викладеним у розділ 3 дисертації (табл. 3.1-3.4, рис 3.1-3.3).

4. Досліджено, що на середовищі Мурасіге і Скуга сорти фундука мали ростовий індекс 6,2 та формували калюс масою 159,8 мг, а за застосування середовища за приписом Драйвера і Куніюкі відповідно ростовий індекс 9,7 та формували калюс масою 237,3 мг. Кращий ростовий індекс за середовища на базі припису Драйвера і Куніюкі ми спостерігали при отриманні калюсу в сортів фундука: Барселонський, Трапезунд, Косфорд та Болградська новинка. А от краща середня маса сформованого калюсу була у сортів фундука: Пірожок та Степовий 83.

5. Експериментально доведено, що для отримання великої кількості калюсних тканин різних генотипів фундука та грецького горіха та проведення з ними відповідної подальшої селекційної роботи кращим варіантом живильного середовища є середовище за прописом Драйвера і Куніюкі. Адже воно ефективно працює за вирощування обох культур в умовах *in vitro*.

6. Порівняння динаміки суспензійних культур окремих сортів фундука з середніми значеннями показує, що показники кількості клітин в 1 мл суспензії ($Ч10^5$) 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.

7. Визначено, що на живильному середовищі за прописом Мурасіге і Скуга спостерігався високий відсоток регенерації рослин грецького горіха, а також і частота регенерації, від 50 до 68 %. Краща регенераційна здатність була у сорту 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 розділ 4 дисертації (табл. 4.1-4.17).

8. 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, сорт фундука Барселонський та Косфорд однаково добре підходять для селекції на посухостійкість з використанням обох селективних середовищ – маніту та ПЕГ 6000. 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.

9. 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 Павленка, 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.

10. Також вивчено, 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 розділ 5 дисертації (табл. 5.1-5.10).

11. Краще укорінення генотипів фундука спостерігалось на середовищі Драйвера і Куніюкі – 25 шт., що становило 61 % від загальної кількості експлантів, а в горіха 32 шт. та 71 %. Укорінення генотипів фундука на середовищі Мурасіге і Скуга в середньому становило 46 % від загальної кількості експлантів, а в горіха 22 шт. та 49 %. За використання живильного

середовища Мурасіге і Скуга в фундука прижилося 75,8 %, а в грецького горіха 58,3 %. А от за застосування для ризогенезу середовища Драйвера і Куніюкі – 81,8 % та 83,3 % відповідно.

12. 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 та 51 %, та маса на 15 і 31 % порівняно з стандартом. Також в рослин грецького горіха за висаджування їх на перліт та вермикуліт збільшувалась кількість корінців на 40 та 83 %, та маса на 13 і 26 % порівняно з стандартом. А довжина корінців в розрахунку на одну рослину становила лише 87 та 77 % від довжини корінців на контролі, при цьому їх маса була більшою за показники контрольного варіанту. Аналогічно кращі варіанти за біометричним розвитком сприяли формуванню більшої за масою, але меншої за довжиною кореневої системи.

Дані положення і висновки обґрунтовані експериментальним матеріалом, викладеним у розділ 5 дисертації (табл. 6.1-6.6).

Відповідність дисертації встановленим вимогам Основний зміст дисертації викладений на 175 сторінках комп'ютерного тексту, складається із вступу, 6 розділів, висновків та рекомендацій. Містить 39 таблиць, 4 рисунки. Список використаних джерел включає 350 джерел, зокрема 146 - латиницею.

Назва 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.

Мова дисертації українська літературна. Технічне оформлення дисертації відповідає загальноприйнятим вимогам.

Робота виконана на основі польових досліджень, дані яких опрацьовані з використанням загальноприйнятих методів досліджень у галузі агрономії.

У цілому позитивно оцінюючи дисертаційну роботу ВРУБЛЕВСЬКОГО Андрія Темуровича, повноту викладення методичної, теоретичної та прикладної

основи досліджень, високий рівень актуальності і практичної значущості, вважаю за доцільне вказати на окремі недоліки та висловити побажання:

1. При згадуванні видової приналежності рослин з якими працюєте більш доцільно користуватись латинськими назвами. Адже *Juglans regia* L. більш широко відомий як горіх волоський, водночас використовується назва і горіх хрецький;

2. Варто в огляді літератури більш уваги приділити стану вивчення питань посухостійкості. Адже, на мою думку, це досить цікава тема досліджень, яка потребує детального аналізування праць інших вчених, в обсягах більше одного підрозділу;

3. В розділі 2 доцільно було б навести дані стосовно детальних характеристик використовуваних в дослідях препаратів та речовин. Особливо щодо їх фірм виробників. Вказати чи готували базові середовища, чи використовували готові з додаванням модифікованих компонентів;

4. Більш широке використання в розділах роботи статистичного аналізу, рисунків, графіків, схем, фотоматеріалів істотно поліпшує її інформативність;

5. Оцінювання посухостійкості, в польових умовах, вихідних селекційних матеріалів істотно збагатило б наукову роботу;

6. Використання молекулярних методів аналізу для оцінки відповідності відібраного генетичного матеріалу батьківським формам збагатило б роботу та дозволило б обрати шляхи подальшого використання отриманих ліній;

7. Висновки в кінці розділів 4, 5, 6 та загальні висновки в роботі потребують скорочення та більш повного узагальнення.

Загальний висновок про роботу. Оцінюючи дисертаційну роботу ВРУБЛЕВСЬКОГО Андрія Темуровича «УДОСКОНАЛЕННЯ ІСНУЮЧИХ ТА РОЗРОБКА НОВИХ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРИЙОМІВ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ГОРІХОПЛІДНИХ КУЛЬТУР» в цілому, вважаю, що вона є

завершеною, виконаною самостійно науковою роботою, в якій наведено теоретичне узагальнення та практичне виконання наукового завдання, що полягає у комплексній оцінці та дослідженні особливостей одержання посухостійких ліній фундука та грецького горіха та вивченні особливостей перебігу фізіологічних процесів в рослинах під впливом осмотичного стресу.

Здобувач критично проаналізував відомі літературні джерела та отримані експериментальні дані, проявив уміння узагальнювати і робити обґрунтовані висновки.

Кваліфікаційну наукову працю написано і оформлено згідно вимог 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 с-г. наук, с.н.с.,
завідувач відділу
математичного моделювання
та цифрових технологій в агрономії
Інституту біоенергетичних культур
і цукрових буряків НААН України

О.І. Присяжнюк

Підпис О.І. Присяжнюка засвідчую,
зав. відділом кадрів ІБКІЦБ

Я.І. Філімонова

24.12.21

