

РЕЦЕНЗІЯ

**на дисертаційну роботу Самофалова Михайла Олександровича
«Теоретичне обґрунтування та розробка прийомів адаптації мікроклонів
винограду до умов *in vivo*»,
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
за спеціальністю 203 «Садівництво та виноградарство»,
галузь знань 20 «Аграрні науки та продовольство»**

Актуальність теми дисертаційної роботи. Забезпечення виноградарської галузі високоякісним, оздоровленим і генетично стабільним садивним матеріалом є одним із ключових чинників закладання продуктивних насаджень, збереження цінних сортів і клонів та підвищення ефективності виноградного розсадництва. Одним із перспективних способів одержання такого матеріалу є мікроклональне розмноження винограду.

Водночас одним із найбільш відповідальних і технологічно складних етапів мікроклонального розмноження залишається переведення рослин із контрольованих стерильних умов *in vitro* до нестерильних і мінливих умов *in vivo*. Рослини, сформовані у культуральних ємностях, часто характеризуються недостатньо розвиненою кутикулою, порушеннями функціонування продихового апарату, слабкою здатністю регулювати водний баланс, нерозгалуженою кореневою системою та підвищеною чутливістю до змін вологості, температури й освітлення. Саме на етапі адаптації відбувається найбільше вибракування і втрата мікроклональних рослин.

У науковій літературі широко представлені результати досліджень щодо стерилізації експлантів, добору поживних середовищ, регуляторів росту та умов ризогенезу. Однак питання комплексного взаємозв'язку між регенераційними, біометричними, анатомічними і фізіолого-біохімічними характеристиками мікроклонів та їх подальшою приживлюваністю *in vivo* висвітлені недостатньо. Тому тема дисертаційної роботи Самофалова Михайла Олександровича є актуальною, має теоретичне і практичне значення та

відповідає сучасним завданням розвитку біотехнології винограду і виробництва садивного матеріалу високих біологічних категорій якості.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Дисертаційне дослідження виконано в межах науково-дослідної роботи відділу розсадництва, розмноження і біотехнології винограду Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» НААН України. Робота пов'язана з виконанням завдань щодо теоретичного обґрунтування шляхів оптимізації умов вирощування садивного матеріалу винограду з високим адаптаційним потенціалом та встановлення наукових основ прояву регенераційної здатності винограду в процесі виробництва садивного матеріалу категорій «базовий» і «сертифікований».

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. Метою дисертаційної роботи було встановлення особливостей морфогенезу мікроклонів підщепних і технічних сортів винограду після їх культивування на різних типах поживних середовищ та мінеральних субстратів *in vitro* для підвищення адаптаційної здатності рослин в умовах *in vivo*.

Для досягнення поставленої мети автором було сформульовано взаємопов'язані завдання, що передбачали визначення впливу модифікованих поживних середовищ і мінеральних субстратів на регенераційні, біометричні, фізіолого-біохімічні та анатомічні показники мікроклонів, оцінювання їх приживлюваності, встановлення частки впливу досліджуваних чинників і проведення економічної оцінки розроблених прийомів.

Експериментальні дослідження проводили протягом 2019–2022 років на чотирьох сортах винограду: підщепних «Добриня» і «Гарант» та технічних «Ярило» і «Загрей». Схема роботи включала два досліді. У першому досліді оцінювали 12 варіантів поживних середовищ на основі MS із різними концентраціями ІОК і 6-БАП, препаратами Радіфарм і Clonex gel, агроперлітом, вермикулітом та їх сумішшю. У другому досліді порівнювали стандартні середовища MS і чисті мінеральні субстрати - агроперліт,

вермикуліт та їх суміш.

У роботі застосовано комплекс біотехнологічних, агробіологічних, фізіологічних, біохімічних, анатомічних, статистичних і порівняльно-розрахункових методів. Визначали приживлюваність, проліферацію пазушних бруньок, ризогенез, параметри вегетативної маси і кореневої системи, водоутримувальну здатність, інтенсивність транспірації, вміст води, сухих речовин та фотосинтетичних пігментів, а також кількісні і морфометричні характеристики продихового апарату.

Повторність досліджень була трикратною, кожен варіант включав 30 експлантів або мікроклонів. Статистичну обробку результатів здійснювали із застосуванням Microsoft Excel і Statistica 6, використовували багатofакторний дисперсійний аналіз.

Значний обсяг експериментального матеріалу, тривалість досліджень, залучення різних груп сортів, використання комплексу взаємодоповнювальних методів та статистичне опрацювання результатів забезпечують достатній рівень обґрунтованості сформульованих автором наукових положень і висновків.

Наукова новизна отриманих результатів. Наукова новизна дисертаційної роботи полягає у комплексному дослідженні формування адаптаційного потенціалу мікроклонів винограду ще на етапі їх культивування *in vitro*.

Автором уперше:

- встановлено закономірності впливу поживних середовищ і мінеральних субстратів на водний режим, транспірацію, накопичення сухих речовин і фотосинтетичних пігментів у тканинах пагонів, листків та коренів мікроклонів підщепних і технічних сортів винограду;
- досліджено формування продихового апарату нижнього епідермісу листків у процесі культивування *in vitro* та після переведення рослин до умов *in vivo*;
- визначено взаємозв'язок між регенераційними, біометричними,

морфолого-анатомічними і фізіолого-біохімічними характеристиками рослин та умовами їх культивування;

- встановлено частку впливу сорту, фітогормонального складу, додаткових компонентів поживного середовища і типу мінерального субстрату на формування адаптаційних ознак мікроклонів.

Удосконалено окремі етапи проліферації, ризогенезу, укорінення, передадаптації та адаптації мікроклональних рослин винограду шляхом зменшення фітогормонального навантаження і використання агроперліту, вермикуліту та їх суміші. Також удосконалено підхід до оцінювання адаптаційного потенціалу рослин за комплексом морфогенетичних і фізіолого-біохімічних показників.

Основні результати дисертаційного дослідження. Установлено, що зниження концентрації фітогормонів у середовищі MS до 0,3 мг/л ІОК і 0,2 мг/л 6-БАП у поєднанні з біологічно активними та структуроутворювальними компонентами сприяло підвищенню регенераційної здатності ініціальних експлантів. У найбільш ефективних варіантах приживлюваність експлантів становила 93,2–99,0 %, а проліферація пазушних бруньок і ризогенез розпочиналися із сьомої доби культивування.

Застосування агроперліту, вермикуліту та їх суміші сприяло формуванню розгалуженої кореневої системи, збільшенню кількості коренів першого і другого порядків, підвищенню облистяності та формуванню рослин із більш щільними, фізіологічно зрілими тканинами.

Важливими є результати дослідження водного режиму. У мікроклонів, вирощених на структурованих середовищах і мінеральних субстратах, зменшувався вміст легкоутримуваної води, підвищувалася водоутримувальна здатність, накопичувалося більше сухих речовин і фотосинтетичних пігментів, а інтенсивність транспірації була нижчою порівняно з контролем. Це свідчить про формування фізіологічно стійкіших рослин, краще підготовлених до переходу в неконтрольовані умови.

Заслуговують на позитивну оцінку результати анатомічних досліджень.

Автором показано, що умови *in vitro* визначають щільність і розміри продихів та ширину продихової щілини. Після переведення рослин до умов *in vivo* відбувалася істотна перебудова продихового апарату: щільність продихів зростала, а їх лінійні розміри та ширина продихової щілини зменшувалися, що свідчить про адаптивну реакцію, спрямовану на регулювання транспірації та підтримання водного балансу.

Найвищу приживлюваність мікроклонів в умовах *in vivo* забезпечили поживні середовища зі структуруючими компонентами і зменшеною концентрацією фітогормонів. Через 30 діб життєздатність рослин у кращих варіантах становила 75,0–98,0 %, а через 90 діб — 56,0–82,5 %, що у 1,3–2,1 рази перевищувало контрольні показники. Серед чистих мінеральних субстратів найбільш ефективною була суміш агроперліту і вермикуліту, яка забезпечила 67,7–75,0 % приживлюваності після трьох місяців адаптації.

Дисперсійний аналіз підтвердив, що основним фактором впливу в першому досліді були додаткові компоненти поживного середовища, а в другому — тип мінерального субстрату. Частки впливу цих факторів на окремі показники досягали 74,62–97,33 %, що підтверджує закономірний характер отриманих результатів.

Практичне значення результатів. Практична цінність роботи полягає у розробленні технологічних прийомів передадаптації та адаптації мікроклонів винограду, які можуть бути використані біотехнологічними лабораторіями і розсадницькими господарствами.

Автором запропоновано конкретні протоколи:

- використання структурованих поживних середовищ на основі агроперліту, вермикуліту та їх суміші для культивування винограду *in vitro*;
- використання мінеральних субстратів, як альтернативи агаризованому поживному середовищу, для культивування винограду *in vitro*;
- адаптації та подальшого культивування мікроклонів винограду в умовах *in vivo*.

Результати пройшли виробничу перевірку і застосовуються під час

виращування мікроклональних підщепних саджанців винограду для ДП «ДГ «Таїровське» ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». Матеріали досліджень також використовуються в освітньому процесі під час підготовки аспірантів за освітньо-науковою програмою «Виноградарство».

Проведена економічна оцінка показала, що використання структурованих поживних середовищ і мінеральних субстратів дає змогу знизити собівартість 1000 адаптованих мікроклонів до 36,6–60,9 тис. грн. Чистий прибуток у найбільш ефективних варіантах становив 15,9–48,8 тис. грн на 1000 адаптованих рослин, а рівень рентабельності – 75,0–145,7 %.

Оцінка структури та змісту дисертації. Дисертаційна робота має логічну структуру та послідовно розкриває поставлені завдання. Вона містить вступ, дев'ять розділів, загальні висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел і додатки.

У першому розділі проаналізовано сучасний стан досліджень із мікроклонального розмноження та адаптації рослин. Другий розділ присвячено характеристиці об'єктів, схем і методів дослідження. У третьому–сьомому розділах викладено результати експериментів щодо регенерації експлантів, розвитку надземної маси і кореневої системи, фізіолого-біохімічних показників, продихового апарату та приживлюваності. Восьмий розділ містить статистичний аналіз, дев'ятий – економічну оцінку запропонованих прийомів.

Роботу викладено на 371 сторінці, вона містить 12 таблиць і 60 рисунків. Список використаних джерел включає 271 найменування, з яких 201 – латиницею. За матеріалами дослідження опубліковано 18 наукових праць, зокрема одну статтю у виданні, проіндексованому базою Scopus, три статті у фахових виданнях України, одну статтю в зарубіжному виданні та 13 матеріалів і тез наукових конференцій.

Зміст публікацій відповідає основним положенням дисертації. Особистий внесок здобувача полягає в аналізі наукових джерел, формуванні мети і завдань, розробленні схем дослідів, виконанні експериментальної

роботи, статистичному опрацюванні та узагальненні результатів, підготовці наукових публікацій і вирощуванні мікроклональних саджанців для закладання базового маточника.

Дискусійні положення та зауваження. Загальна позитивна оцінка дисертаційної роботи не виключає наявності окремих положень, що потребують уточнення або можуть бути предметом наукової дискусії.

1. **Потребують конкретизації умови адаптації рослин *in vivo*.** У роботі зазначено, що мікроклони вирощували за природного освітлення, кімнатної температури та вологості, характерної для приміщення. Оскільки температура, освітленість і відносна вологість безпосередньо впливають на транспірацію та приживлюваність, доцільно було б навести їх фактичні діапазони, методи контролю і сезонну мінливість.
2. Потребує уточнення спосіб застосування препарату Clonex gel. У методиці зазначено лише обробку базальної частини експлантів, але не наведено тривалості обробки, кількості препарату чи глибини занурення. Це дещо ускладнює точне відтворення досліду іншими лабораторіями.
3. У практичних рекомендаціях зазначено використання середовища MS з половинним вмістом макросолей, тоді як у схемі досліду цей параметр окремо не виділений як досліджуваний фактор. Доцільно пояснити, на підставі яких саме експериментальних даних рекомендовано половинний вміст макросолей, або чіткіше пов'язати цю рекомендацію з відповідним варіантом досліду.
4. Необхідно уточнити дозування фунгіцидного препарату. У розділі 7 наведено концентрацію препарату «Хорус» 0,27 г на 200 л води що не відповідає нормі внесення препарату. У практичних рекомендаціях використано формулювання «препарат типу Хорус» без зазначення робочої концентрації. Варто уточнити, чи не є наведене співвідношення технічною помилкою, та вказати обґрунтовану концентрацію, діючу речовину і кратність оброблення.
5. Економічна оцінка потребує часового уточнення. Доцільно зазначити дату або період, за цінами якого розраховано витрати на енергоресурси, оплату

праці, препарати та субстрати. Для практичного використання результатів корисним був би аналіз чутливості собівартості й рентабельності до зміни цін на ресурси та вартості реалізації мікроклональних рослин.

6. Виявлена сортова специфічність потребує більшого відображення у практичних рекомендаціях. Оскільки підщепні і технічні сорти відрізнялися за регенераційною здатністю, розвитком кореневої системи та приживлюваністю, доцільно окремо зазначити, які положення запропонованого протоколу є універсальними, а які потребують коригування залежно від генотипу.

7. Загальні висновки є змістовними, проте окремі з них перевантажені цифровими даними й частково повторюють матеріал відповідних розділів. Їх скорочення та більша концентрація на встановлених закономірностях зробили б виклад компактнішим.

Зазначені зауваження переважно мають уточнювальний і дискусійний характер, не заперечують достовірності основних результатів і не знижують загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Самофалова Михайла Олександровича «Теоретичне обґрунтування та розробка прийомів адаптації мікроклонів винограду до умов *in vivo*» є завершеним самостійним науковим дослідженням, у якому розв'язано актуальне науково-практичне завдання щодо формування адаптаційного потенціалу мікроклонів винограду та підвищення їх приживлюваності після переведення з умов *in vitro* до умов *in vivo*.

Одержані результати характеризуються науковою новизною, достатнім ступенем обґрунтованості та практичною цінністю. Запропоновані технологічні прийоми можуть бути використані у біотехнологічних лабораторіях і виноградних розсадницьких господарствах під час виробництва оздоровленого садивного матеріалу високих біологічних категорій якості.

За актуальністю, обсягом проведених досліджень, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням одержаних результатів дисертаційна робота відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про

затвердження Вимог до оформлення дисертації» (з наступними змінами) та «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 12.01.2022 р. (з наступними змінами), а її автор – Самофалов Михайло Олександрович – заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 203 «Садівництво та виноградарство».

Рецензент:

кандидат сільськогосподарських наук, вчений секретар
Національного наукового центру
«Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова»
НААН України

Микола АРТЮХ