

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Самофалова Михайла Олександровича** «Теоретичне обґрунтування та розробка прийомів адаптації мікроклонів винограду до умов *in vivo*», подану на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 203 Садівництво, плодовоовочівництво та виноградарство (20 Аграрні науки та продовольство)

Актуальність теми дисертаційного дослідження. Високоєфективна адаптація мікроклонів винограду формується на послідовних етапах технології мікроклонального розмноження винограду. З цією метою умови культивування *in vitro* необхідно оптимізувати так, щоб мікроклональні рослини характеризувалися високою стійкістю до абіотичного стресу і без значних втрат проходили етап адаптації.

Дисертаційне дослідження Самофалова Михайла Олександровича є складовою частиною науково-дослідної роботи відділу розсадництва, розмноження і біотехнології винограду Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» НААН України за завданням 21.00.03.02. Ф «Розробити та теоретично обґрунтувати шляхи оптимізації умов вегетації маточних насаджень та щеплених саджанців винограду для одержання садивного матеріалу з високим адаптаційним потенціалом» (номер державної реєстрації 0111U001164) у рамках ПНД НААН № 2. Адаптація виноградарства і виноробства України до змін клімату та вимог збереження ресурсів і стану навколишнього середовища в умовах посилення світових інтеграційних процесів («Виноградарство і виноробство») та за завданням 23.00.02.02.Ф. «Наукові основи прояву регенераційної здатності винограду та шляхи її підвищення у процесі виробництва садивного матеріалу категорій "базовий" і "сертифікований"» (номер державної реєстрації 0121U107839) у рамках ПНД НААН № 23 «Розвиток виноградарства і виноробства» (Виноградарство і виноробство).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, та їх новизна. Наукові положення дисертаційної роботи в повній мірі обґрунтовані пріоритетністю досліджень, актуальністю наукової проблеми, доцільністю у встановленні особливостей морфогенезу мікроклонів підщепних і технічних сортів винограду після культивування на різних типах поживних середовищ, мінеральних субстратів *in vitro* для підвищення їх адаптаційної здатності в умовах *in vivo*. В дисертації наведено математичну обробку отриманих показників, що підтверджує їх достовірність.

Мета досліджень полягала у дослідженні особливостей морфогенезу мікроклонів підщепних і технічних сортів винограду за культивування їх на

різних типах живильних середовищ, мінеральних субстратів *in vitro* з метою підвищення їх адаптаційної здатності в умовах *in vivo*. Висунуті Самофаловим Михайлом Олександровичем наукові положення базуються на загальних принципах наукового пізнання теоретичного і практичного характеру і були виконані за використання комплексу загальноприйнятих у виноградному розсадництві методів та методик.

Результати основних наукових положень автора дисертаційної роботи відображено у восьми висновках. Зміст висновків в повній мірі наповнений цифровими даними, що вказує на високий рівень обґрунтування наукових положень, які винесені на захист.

Новизна наукових результатів. Ступінь наукової новизни результатів дисертаційної роботи Самофалова Михайла Олександровича високий.

Автором вперше становлено та охарактеризовано закономірності впливу різних типів поживних середовищ і мінеральних субстратів на ключові фізіологічні (рівень загального обводнення, кількість легкоутримуваної води, водоутримувальну здатність, інтенсивність транспірації) та біохімічні (вміст сухих речовин і пігментів) показники тканин листків, пагонів і коренів мікроклонів винограду підщепних і технічних сортів під час їх культивування *in vitro*.

В дисертаційній роботі досліджено особливості формування продихового апарату нижнього епідермісу листових пластинок мікроклонів винограду *in vitro* та *in vivo*, встановлено його реакцію на вплив різних типів поживних середовищ і мінеральних субстратів, з'ясовано його роль у формуванні адаптаційної здатності рослин під час переходу до умов *in vivo*.

Дисертантом виявлено взаємозв'язок між регенераційними, морфолого-анатомічними, біометричними та фізіолого-біохімічними характеристиками мікроклонів винограду та умовами їх культивування *in vitro*, зокрема складом поживних середовищ і типами мінеральних субстратів та доведено частку впливу умов культивування мікроклонів винограду *in vitro*, що включають модифікацію поживних середовищ і типи мінеральних субстратів, на формування ключових морфогенетичних характеристик, зокрема фізіологічних (рівень загального обводнення, вміст легкоутримуваної води, водоутримувальна здатність, інтенсивність транспірації), біохімічних (вміст сухих речовин і пігментів) та анатомічних (особливості продихового апарату нижнього епідермісу листових пластинок) показників вегетативної маси мікроклонів, а також на їх подальшу життєздатність в умовах *in vivo*.

Матеріали дисертаційної роботи засвідчують, що удосконалено окремі технологічні етапи культивування винограду *in vitro* (проліферація пазушних бруньок і ризогенез ініціальних експлантів, укорінення мікрочубуків, процес

мікророзмноження та адаптація мікроклональних рослин до умов *in vivo*). Зокрема, модифіковано склад поживних середовищ (на основі MS) шляхом зміни фітогормонального складу, використання біологічно активних препаратів – Радіфарм і Clonex gel та структуроутворювальних компонентів – агроперліт, вермикуліт, агроперліт + вермикуліт. Також оновлено підхід до оцінювання адаптаційного потенціалу мікроклонів винограду на основі комплексу морфогенетичних та фізіолого-біохімічних показників.

В результаті експериментів набули подальшого розвитку дослідження щодо впливу різних умов культивування на регенераційні властивості винограду *in vitro*, одержання мікроклонів винограду *in vitro* з кількісними і якісними показниками розвитку вегетативної надземної маси і кореневої системи, що дає змогу підвищити вихід адаптованих до умов *in vivo* мікроклонів винограду. Також автором доведено економічну ефективність та доцільність практичного застосування удосконалених технологічних прийомів культивування винограду *in vitro*.

Практичне значення дисертаційної роботи. Самофаловим Михайлом Олександровичем удосконалені технологічні прийоми, представлені у дисертаційній роботі, які доповнюють наявну технологію прискореного мікроклонального розмноження винограду і сприятимуть вирощуванню садивного матеріалу винограду біологічних категорій якості – вихідний і базовий. Важливим є те, що розроблені технологічні прийоми пройшли виробничу перевірку та застосовуються для вирощування мікроклональних підщепних саджанців винограду для ДП «ДГ «Таїровське» ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» НААН України, про що свідчить наведений в дисертаційному додатку А1 акт впровадження.

Суттєвим є те, що отримані під час виконання дисертаційної роботи результати з питань технології вирощування мікроклональних саджанців винограду високих біологічних категорій якості, пройшли апробацію і використовуються в освітньому процесі під час підготовки аспірантів, які навчаються за ОНП «Виноградарство» в ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», що підтверджується наведеним актом впровадження в додатку А. 2 дисертації.

Повнота викладу матеріалу в наукових публікаціях, зарахованих за темою дисертації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано вісімнадцять наукових праць, у тому числі: одна стаття у виданні, яке включене до міжнародної наукометричної бази Scopus, три статті у виданнях, включених до переліку фахових періодичних видань України, одна стаття – у зарубіжному виданні, тринадцять публікацій – це матеріали і тези конференцій.

Оцінка змісту дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 371 сторінках друкованого тексту, що охоплює: вступ, дев'ять розділів, висновки,

практичні рекомендації, список використаних літературних джерел (із них 70 кирилицею, 201 латиницею), додатки. Робота містить 12 таблиць, 60 рисунків.

Загальна характеристика роботи відповідає вимогам МОН України до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня доктора філософії за змістом, новими теоретичними і практичними розробками, що отримані в галузі сільськогосподарських наук зі спеціальності 203 Садівництво, плодоовочівництво і виноградарство.

У вступі висвітлено актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, мету і завдання досліджень, наукову новизну отриманих результатів та практичне значення одержаних результатів. Виділено особистий внесок здобувача та детально охарактеризовано апробацію результатів дисертації.

У розділі 1 «Мікроклональне розмноження рослин, його етапи» детально описано відбір, стерилізація ініціальних експлантів, введення ініціальних експлантів у культуру *in vitro*, проліферація пазушних бруньок, укорінення (ризогенез) ініціальних експлантів, власне мікророзмноження рослин, постасептичну адаптація мікроклонів *in vitro* до умов *in vivo*. Виділено окремими підрозділами особливості перебігу фізіолого-біохімічних процесів рослин в умовах *in vitro* та особливості анатомічної будови листкових пластинок рослин в умовах *in vitro*.

У розділі 2 «Об'єкти, методи та умови проведення дослідження» охарактеризовано місце проведення, матеріали, схеми, обліки, аналізи і методи дослідження.

Експериментальна частина дисертаційної роботи Самофалова Михайла Олександровича, а саме розділи 3,4,5,6,7,8,9 представлено у динамічній послідовності, які показують результати дослідження особливостей морфогенезу мікроклонів підщепних і технічних сортів винограду за культивування їх на різних типах живильних середовищ, мінеральних субстратів *in vitro*.

У розділі 3 «Регенераційна здатність ініціальних експлантів винограду *in vitro*» встановлено, що найвища приживлюваність ініціальних експлантів винограду була на поживних середовищах з нижчим вмістом фітогормонів (0,2 мг/л 6-БАП; 0,3 мг/л ІОК) у поєднанні з препаратом Clonex gel, агроперлітом, вермикулітом та їх сумішшю. Доведено, що на поживних мінеральних субстратах перші кореневі зачатки формувалися ближче до 15 доби, тоді як на стандартних поживних середовищах MS – на 7–10 добу. Вже на 30-ту добу дослідження кількість ініціальних експлантів із кореневими зачатками становила в середньому 50,0–73,5 % для підщепних і 54,0–69,0 % для технічних сортів, що на 18,2–41,7 % перевищували контроль (48,9 % та 41,0 % відповідно). За сортовими особливостями підщепні сорти («Добриня», «Гарант») відзначалися вищими

показниками приживлюваності, проліферації та ризогенезу порівняно з технічними («Ярило», «Загрей»), що свідчить про їх кращу регенераційну здатність.

У Розділі 4. «Біометричні показники росту і розвитку мікроклонів винограду *in vitro*» встановлено, що інтенсивність формування вегетативної надземної маси та кореневої системи мікроклонів винограду суттєво залежала від складу поживного середовища, зокрема від концентрації фітогормонів, наявності біологічно активних препаратів, мінеральних субстратів (у т. ч. структуровані поживні середовища: MS + агроперліт, MS + вермикуліт, MS + агроперліт + вермикуліт) та сорту винограду. Найсприятливішим для росту вегетативної надземної маси мікроклонів більшості сортів виявився вермикуліт, який забезпечував оптимальне співвідношення вологоємності та аерації, сприяючи активному росту пагонів і листків. Коренева система мікроклонів підщепних сортів винограду характеризувалася інтенсивнішим утворенням основних осьових коренів на вермикуліті та суміші агроперліт + вермикуліт, тоді як технічні сорти формували більш розгалужену кореневу систему з підвищеною кількістю коренів II порядку.

У розділі 5 встановлено фізіолого-біохімічні показники мікроклонів винограду *in vitro*. Після культивування мікроклонів винограду на різних типах поживних середовищ було встановлено, що найбільшим показником обводнення тканин приросту характеризувалися мікроклони винограду у контрольних варіантах (MS + 0,3 мг/л ІОК + 0,2 мг/л 6-БАП та MS + 0,6 мг/л ІОК + 0,5 мг/л 6-БАП) та варіантах із додаванням БАП – Clonex gel і Радіфарм (третій–шостий варіанти): 91,5–93,2 % («Добриня»), 91,2–91,9 % («Гарант»), 91,8–93,8 % («Ярило») та 90,9–92,1 % («Загрей»). Вміст сухих речовин у коренях мікроклонів винограду також суттєво залежав від типу середовища для культивування. У рослин контрольних варіантів він дорівнював 4,0–5,5 % (підщепні сорти) та 4,6–6,4 % (технічні сорти), на поживних середовищах із коренеутворюючими препаратами – 2,1–3,9 % (підщепні сорти) та 4,2–7,6 % (технічні сорти), на структурованих поживних середовищах – відповідно 4,5–8,9 % (підщепні сорти) та 8,2–10,0 % (технічні сорти).

У розділі 6 наведено результати вивчення показників анатомічної будови продихового апарату нижнього епідермісу листків мікроклонів винограду в умовах *in vitro* та *in vivo*. Загальна тенденція, яку було встановлено у процесі дослідження, полягала у тому, що структуровані поживні середовища та мінеральні субстрати забезпечували інтенсивніше формування продихів, ніж стандартне поживне середовище MS, у т. ч. з високою концентрацією фітогормонів. Показано, що контрольні мікроклони винограду підщепних сортів мали 26,7–32,2 шт., а технічних – 23,0–25,0 шт. продихів на 1 мм² листової

пластинки; загальна кількість продихів на листовій пластинці змінювалася в межах 469,3–643,3 шт. у підщепних та 292,1–357,5 шт. у технічних сортів.

У Розділі 7 наведено отримані в результаті досліджень приживлюваність мікроклонів винограду в умовах *in vivo*. Встановлено, що рівень приживлюваності мікроклонів винограду залежав від складу поживних середовищ, на яких їх культивували в умовах *in vitro*. Найвищі показники життєздатності рослин протягом 30, 60 та 90 діб адаптації були характерні для варіантів із структуроутворювальними компонентами (агроперліт, вермикуліт та їх суміші), які додавали до стандартного поживного середовища MS у поєднанні з фітогормонами у кількості 0,3 мг/л ІОК та 0,2 мг/л 6-БАП.

У Розділі 8 висвітлено статистичний аналіз результатів наукових досліджень автора.

У Розділі 9 детально викладена економічна ефективність удосконалених технологічних прийомів культивування винограду *in vitro*.

Висновки та рекомендації виробництву мають наукове і практичне значення та відповідне економічне обґрунтування. На основі отриманих результатів сформовані практичні рекомендації для розсадницьких господарств та фахівців, які вирощують садивний матеріал винограду *in vitro*.

Дискусійні положення та зауваження щодо дисертаційної роботи.

В цілому позитивно оцінюючи дисертаційну роботу Самофалова Михайла Олександровича, повноту методичної, теоретичної та прикладної основи досліджень, високий рівень актуальності та практичної значимості, вважаю за доцільне вказати на окремі недоліки та висловити побажання до їх усунення у подальшій науковій діяльності:

1. В «Змісті» та тексті дисертації слід виділити розділи, що належить до «Результатів досліджень».
2. Структура дисертації перевантажена розділами. Наведені в розділі 8 результати статистичного аналізу наукових досліджень бажано було б оптимізувати і розмістити у відповідних попередніх розділах з отриманими результатами досліджень для підтвердження достовірності в текстовій послідовності
3. В огляді літератури зустрічаються посилання на технології, викладені в тезах доповідей три десятиріччя тому (Стицько С. А., Черевата Т. М. Технологія розмноження винограду *in vitro*. Промислова біотехнологія клонального мікророзмноження плодових і винограду : тези доповідей наук.-практ. конф. Херсон, 1995. С. 43.)
4. У розділі 2 при формулюванні визначення формування продихового апарату (с.76) не конкретизовано, що вираз (x40) – це збільшення мікроскопу.

5. Висновки до розділу 2 досить обширні, по змісту частину їх можливо перенести до основного тексту розділу.
6. Рис.3.6 (с.91), 3.7 (с.93), 3.8 (с.97) можливо було б доповнити графічними виразами достовірної різниці між варіантами досліджу
7. Для більш доступної оцінки отриманих результатів на деяких рисунках розділу 3 (рис 3.6, рис.3.10 -7і 10 доба) слід шкалу ординат з відсотками оптимізувати від нуля до певної позначки шкали, яку досягли варіанти досліджу, а не вказувати максимальні 100 відсотків. Також слід конкретизувати на рисунках, що означає шкала 100%.
8. Бажано оптимізувати шкалу ординат, де вказано втрати води мікроклонами (рис.5.6, с.150), оскільки важко визначити візуально відмінності між варіантами, а також рис.5.10 (с.173) – складно оцінити різницю між варіантами щодо вмісту легкоутриманої води у тканинах коренів мікроклонів винограду.
9. Висновки до розділів 3,4,5,6,9 досить обширні за обсягами. Бажано вказати у висновках до розділів 3,4,5,6 показники достовірної різниці між варіантами для оцінки результатів наукових досліджень.
10. Загальні висновки до дисертаційної роботи перевантажені текстовим матеріалом, а отримані результати відповідних розділів бажано підтвердити в кожному з висновків достовірною різницею.

Проте, наведені недоліки, неточності у роботі та побажання не впливають на загальну позитивну оцінку виконаних досліджень, дисертаційної роботи Самофалова Михайла Олександровича.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності. Рукопис дисертаційної роботи Самофалова Михайла Олександровича перевірено сервісом перевірки на плагіат. Рівень оригінальності тексту становить 96,33%. Під час вивчення матеріалів дисертації, аналізу наукових публікацій автора не було виявлено ознак академічного плагіату та фальсифікації. Таким чином, дисертаційна робота Самофалова Михайла Олександровича визначається самостійною оригінальною працею і не містить порушень академічної доброчесності.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота «Теоретичне обґрунтування та розробка прийомів адаптації мікроклонів винограду до умов *in vivo*» за актуальністю теми, обґрунтованістю і достовірністю результатів досліджень, висновків і рекомендацій, їх новизною, теоретичною і практичною значимістю, вирішенням важливої наукової проблеми відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня

доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (Постанова Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44), а її автор **Самофалов Михайло Олександрович** заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 203 Садівництво, плодовоовочівництво і виноградарство (галузь знань 20 Аграрні науки та продовольство).

Офіційний опонент

Доктор сільськогосподарських наук,
професор кафедри плодівництва
і виноградарства Уманського національного
університету

Заморський В.В.