

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Самофалова Михайла Олександровича «Теоретичне обґрунтування та розробка прийомів адаптації мікроклонів винограду до умов *in vivo*»,

подану до захисту у разову спеціалізовану вчену раду Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» Національної академії аграрних наук України на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 203 – Садівництво та виноградарство з галузі знань 20 – Аграрні науки та продовольство

Ступінь актуальності обраної теми дисертації. Сучасний стан та перспективи розвитку галузі виноградарства значною мірою визначаються можливістю забезпечення виробництва якісним, вірусобезпечним та генетично однорідним садивним матеріалом. У цьому контексті метод мікроклонального розмноження (*in vitro*) є найбільш ефективним інструментом прискореного відтворення цінних і перспективних сортів, клонів та підщеп винограду.

Водночас ключовою «вузькою ланкою» біотехнологічного процесу залишається етап адаптації рослин-регенерантів до умов *in vivo*. Перехід із контрольованого середовища *in vitro* (з високою вологістю, гетеротрофним живленням та штучним мікрокліматом) до нестерильних умов довкілля супроводжується значною часткою загибелі або ушкодження рослин. Це зумовлено їхніми морфо-анатомічними та фізіологічними особливостями: недорозвиненою кутикулою, порушеннями функціонування продихового апарату, слабкою фотосинтетичною активністю, несформованою кореневою системою тощо.

Незважаючи на значну кількість праць, присвячених мікроклональному розмноженню винограду, більшість із них має фрагментарний характер. Поза увагою дослідників залишалися надважливі питання щодо фундаментальних фізіолого-біохімічних закономірностей формування регенераційного потенціалу експлантів, анатомічних перебудов продихового апарату та взаємозв'язку між умовами культивування *in vitro* (модифікація середовищ, використання мінеральних субстратів, стимуляторів росту) і подальшою життєздатністю мікроклонів *in vivo*.

Таким чином, актуальність дисертаційної роботи здобувача зумовлена як науковою необхідністю розкриття біологічних закономірностей морфогенезу та фізіолого-біохімічного стану мікроклонів винограду під час передадаптації *in vitro* для підвищення їх адаптаційного потенціалу, так і практичною потребою розробки та удосконалення технологічних прийомів (оптимізація складів поживних середовищ, використання нових субстратів – агроперліту, вермикуліту та біопрепаратів), які дозволяють мінімізувати втрати садивного матеріалу на етапі адаптації та підвищити вихід якісних саджанців.

Усе це свідчить про те, що дисертаційна робота присвячена вирішенню актуального науково-практичного завдання сучасного виноградарства та

біотехнології рослин, а обраний автором напрям досліджень є своєчасним, обґрунтованим і має важливе значення для науки та практики.

Дисертаційне дослідження є складовою частиною науково-дослідної роботи відділу розсадництва, розмноження і біотехнології винограду Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» НААН і виконане відповідно до завдань, що мають державну реєстрацію.

Наукова новизна і загальнонаціональне або світове значення результатів. Одержані здобувачем результати характеризуються науковою новизною, зокрема у дисертаційній роботі наведено теоретичне обґрунтування та розробка прийомів адаптації мікроклонів винограду до умов *in vivo*.

Вперше:

- встановлено 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*;

- 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*;

- встановлено 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;

- на основі дисперсійного аналізу 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, біохімічних та анатомічних показників вегетативної маси мікроклонів, а також на їх подальшу життєздатність в умовах *in vivo*.

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*). Низка положень набули подальшого розвитку.

Практична значущість результатів дисертації полягає в удосконаленні прийомів, що доповнюють наявну технологію прискореного мікроклонального розмноження винограду і сприятимуть вирощуванню садивного матеріалу винограду біологічних категорій якості – вихідний і базовий. Розроблені технологічні прийоми пройшли виробничу перевірку та застосовуються для вирощування мікроклональних підщепних саджанців винограду для ДП «ДГ «Таїровське» ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства

ім. В. Є. Таїрова» НААН. Результати, отримані під час виконання дисертаційної роботи, 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».

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, є об'єктивним і не викликає сумніву. Він підтверджується використанням адекватних методів досліджень, достатньою кількістю проведених лабораторних спостережень, обліків та аналізів, порівнянням з відомими закономірностями, встановленими іншими авторами. Емпіричні дані оброблені з використанням методів математичної статистики, зокрема багатофакторного дисперсійного аналізу, узагальнені у таблицях та графіках, детально описані та систематизовані. Обґрунтованість наукових положень, висновків і практичних рекомендацій дисертації та їх достовірність також підтверджується достатнім методичним рівнем поставлених експериментів, логічністю та послідовністю виконання серій досліджень, що дало можливість розширити межі наукового пізнання з окресленої теми та проблеми. Усі розділи дисертації є повними, завершеними, з логічними висновками, які витікають з результатів досліджень. Загальні висновки відображають нові встановлені закономірності та свідчать про глибокий аналіз отриманих результатів.

Повнота викладу основних результатів в наукових публікаціях, зарахованих за темою дисертації. Основні положення дисертації цілком достатньо та повно висвітлені у 18 наукових працях, зокрема одна стаття індексована в науково-метричній базі Scopus, три статті опубліковані у виданнях, включених до переліку фахових видань категорії Б, одна стаття – у зарубіжному виданні, 13 публікацій – матеріали і тези конференцій. Результати досліджень обговорювались на засіданнях вченої ради та достатньо апробовані на наукових конференціях різного рівня.

Структура та зміст дисертації, її завершеність та відповідність встановленим вимогам щодо оформлення. Кваліфікаційна наукова праця викладена на 371-ій сторінці, містить анотацію державною та англійською мовами, список опублікованих праць за темою дисертації, зміст, перелік умовних позначень, 9 розділів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел та додатки.

У **вступі** обґрунтовано науковий апарат дисертаційної роботи.

У **розділі 1** наведено критичний огляд достатньої кількості наукової літератури з досліджуваної теми і проблеми, особливу увагу зацентовано на таких етапах і особливостях мікроклонального розмноження рослин, як відбір, стерилізація та введення ініціальних експлантів у культуру *in vitro*, проліферація пазушних бруньок ініціальних експлантів та формування пагонів, укорінення (ризогенез) ініціальних експлантів та формування кореневої системи мікроклонів, постасептична адаптація рослин *in vitro*, перебіг фізіолого-біохімічних процесів

рослин в умовах *in vitro*, особливості анатомічної будови листкових пластинок рослин тощо.

У **розділі 2** описано об'єкти, методи, схеми та умови проведення досліджень.

У **розділі 3** розкрито регенераційну здатність ініціальних експлантів винограду *in vitro*. Доведено, що застосування оптимізованих (модифікованих) живильних середовищ на основі MS зі зменшеним вмістом фітогормонів (0,3 мг/л ІОК і 0,2 мг/л 6-БАП) та у поєднанні з біологічно активними препаратами (Радіфарм 2,5 мл/л і Clonex gel) і структуроутворювальними компонентами (агроперліт, вермикуліт та їх суміш) супроводжувалося інтенсифікацією регенераційної здатності ініціальних експлантів.

Розділ 4 присвячений встановленню біометричних показників росту і розвитку мікроклонів винограду *in vitro*. Автором виявлено, що розвиток вегетативної надземної маси мікроклонів винограду *in vitro* істотно залежав від складу живильного середовища, концентрації фітогормонів, застосування біологічно активних препаратів, типу мінерального субстрату та сортових особливостей. Формування та морфологічна структура кореневої системи мікроклонів винограду *in vitro* визначалася насамперед використанням ризогенноактивних препаратів та фізико-структурними властивостями мінеральних субстратів.

Розділ 5 описує виявлені фізіолого-біохімічні показники мікроклонів винограду *in vitro*. Доведено, що застосування запропонованих середовищ сприяє покращенню водного режиму вегетативної надземної маси і кореневої системи, підвищенню вмісту сухих речовині фотосинтетичних пігментів, збільшенню водоутримувальної здатності тканин, зменшенню інтенсивності транспірації, перебудові продихового апарату, інтенсивному розвитку вегетативної надземної маси та формуванню розгалуженої кореневої системи.

У **розділі 6** наведено результати вивчення анатомічної будови продихового апарату нижнього епідермісу листків мікроклонів винограду в умовах *in vitro* та *in vivo* та схарактеризовано їх зв'язок з фізіологічними ознаками. Встановлено, що умови культивування *in vitro*, зокрема тип поживного середовища, рівень фітогормонального навантаження та використання структурованих поживних середовищ і мінеральних субстратів визначають морфогенез і функціональний стан продихового апарату мікроклонів.

Розділ 7 присвячений дослідженням приживлюваності мікроклонів винограду в умовах *in vivo* і є одним з головних в даній дисертаційній роботі. Адаптація мікроклональних рослин винограду після культивування *in vitro* є вирішальним етапом формування життєздатного садивного матеріалу, оскільки саме в цей період відбувається перебудова основних фізіолого-біохімічних процесів, пов'язаних із переходом рослин до неконтрольованих умов вирощування. Рівень приживлюваності мікроклонів винограду залежав від умов їх попереднього культивування *in vitro* та формування адаптаційного потенціалу.

У **розділі 8** репрезентовано результати статистичної обробки емпіричних даних, їх обговорення та узагальнення. Дисперсійний аналіз підтвердив, що за культивування мікроклонів винограду на поживних середовищах основним

фактором впливу для більшості показників були додаткові компоненти живильного середовища MS (БАП, структуроутворювальні компоненти). За культивування мікроклонів винограду на поживних мінеральних субстратах основним фактором впливу був фактор «тип поживних мінеральних субстратів».

У **розділі 9** показано, що основні показники економічної ефективності розроблених, удосконалених прийомів культивування винограду *in vitro* залежали від рівня приживлюваності мікроклонів винограду в умовах *in vivo*. Найбільший економічний ефект забезпечували протоколи з використанням структурованих поживних середовищ та мінеральних субстратів, де рівень рентабельності дорівнював 75,0–145,7%, що було суттєво більше за відповідні показники контрольних варіантів, які були малоефективними або збитковими.

Висновки логічно випливають з результатів досліджень, маючи комплексний характер, відображають логічну послідовність етапів дослідження (від оптимізації умов *in vitro* до оцінки адаптації *in vivo* та економічної ефективності), а **практичні рекомендації** є цінними для розсадницьких господарств та фахівців, які вирощують садивний матеріал винограду *in vitro*.

Загалом, дисертація Самофалова М. О. має логічну, цілісну і глибоко продуману структуру. Кожен із розділів відзначається відповідними внесками у вирішених поставлених автором при виконанні досліджень завдань. Обсяг і оформлення дисертації є такими, що відповідають вимогам МОН України.

Відповідність дисертації спеціальності і галузі знань, за якими вона подана до захисту. За своїм змістом дисертація цілком відповідає задекларованій спеціальності 203 – Садівництво та виноградарство і галузі знань 20 – Аграрні науки та продовольство.

Відсутність (наявність) академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації. Порухень академічної доброчесності (академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації) в дисертаційній роботі не виявлено. Використані здобувачем окремі ідеї, наведені в огляді літератури результати та тексти інших авторів мають посилання на відповідне джерело інформації. Вказано внесок здобувача в опубліковані у співавторстві наукові праці.

Дискусійні положення та зауваження до дисертації. Відзначаючи високий науково-методичний рівень поданої до захисту дисертаційної роботи, необхідно звернути увагу на наявні в ній окремі недоліки, дискусійні положення та запитання, що потребують уточнення чи пояснення:

1. У вступі бажано навести прізвища видатних вчених, які зробили найбільш вагомий внесок у теоретичне обґрунтування та розробку прийомів адаптації мікроклонів винограду до умов *in vivo*.

2. Бажано почути пояснення закономірності зменшення висоти рослин у варіантах, де застосовувався Clonex gel, порівняно з контролем (розділ 4, стор. 107), чим саме зумовлений такий ефект і як це пов'язано з дією екзогенних фітогормонів на ростові процеси рослин?

3. Емпіричні дані таблиць 5.1, 5.2, 5.3 і 5.4 були б більш

інформативними після статистичної обробки, наприклад, використання *t*-критерію Стюдента або визначення НІР.

4. Збільшення щільності продихів зазвичай корелює з потенційно вищою інтенсивністю транспірації за умови їх відкриття. Як автор пояснює наступний факт: щільність продихів суттєво зростає (до 67,6%), але загальна інтенсивність транспірації рослин *in vitro* зменшується у 1,8–2,7 рази (розділ 5 і 6, загальний висновок 4 і 5)?

5. У загальному висновку 8 зазначено, що «використання стандартних поживних середовищ MS та середовищ із додаванням біологічно активних препаратів (Радіфарм, Clonex gel) без структуроутворювальних компонентів супроводжувалося значно нижчою приживлюваністю (21,5–50,0%)». Залишається незрозумілим біологічний механізм, чому стимулятори, які впливали на потужний розвиток кореневої системи *in vitro* (загальна кількість коренів збільшилась у 1,4–1,6 рази), призводили до низької життєздатності рослин на 90-ту добу *in vivo*? З чим пов'язана загибель рослин, вирощених із застосуванням біологічно активних препаратів на етапі адаптації?

6. Факт розгалуження коренів винограду подається як однозначно позитивний, проте часто на практиці надмірне вкорочення осьових коренів може свідчити про механічний опір субстрату або локальний дефіцит/надлишок певних елементів. Потребує пояснення з фізіологічної точки зору, чи не було зменшення довжини коренів ознакою стресу або пригнічення росту в довжину через щільність субстрату? Який тип архітектури кореневої системи (довгі осьові корені підщепних чи короткі розгалужені технічних сортів) виявився більш ефективним під час адаптації *in vivo*?

7. Економічні показники (вартість енергоносіїв, перліту, вермикуліту, праці тощо) є дуже динамічними. У розділі 9 дисертації наведено абсолютні цифри без зазначення року, в цінах якого проводився розрахунок. Потребує уточнення, для якого саме року (чи періоду досліджень) є актуальними наведені показники собівартості?

8. У тексті дисертації наявні окремі мовні помилки.

Водночас висловлені зауваження принципово не знижують наукову цінність дослідження. Вони відображають наукову позицію опонента та можуть стати мотивом для дискусії під час захисту дисертаційної роботи.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Самофалова Михайла Олександровича є завершеною оригінальною науковою працею, що характеризується науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, виконанням на належному науково-методичному рівні. Здобувач має високий рівень фахової підготовки, що дозволяє йому правильно й глибоко трактувати результати отриманих досліджень і трансформувати їх в технології для практичного використання, творчо підходити до вирішення наукової проблеми.

На основі викладеного вище, враховуючи актуальність теми досліджень та отримані автором наукові результати, які підтверджені достатнім обсягом публікацій та апробовані в умовах виробництва, вважаю, що дисертація «Теоретичне обґрунтування та розробка прийомів адаптації мікроклонів

винограду до умов *in vivo*» повністю відповідає вимогам до аналогічних кваліфікаційних робіт, зокрема Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а її автор, Самофалов Михайло Олександрович, цілком заслуговує присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 203 – Садівництво та виноградарство (галузь знань 20 – Аграрні науки та продовольство).

Офіційний опонент,
доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник,
доцент кафедри біології, здоров'я людини
та методики навчання Глухівського
національного педагогічного
університету імені Олександра Довженка

Сергій МІЩЕНКО