

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Колісник Христини Михайлівни на тему:
«Розробка біотехнологічних підходів до підвищення адаптивного
потенціалу рідкісних видів роду *Carlina* L. *in vitro*»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії
у галузі знань 09 Біології за спеціальністю 091 Біологія

Проблема збереження біорізноманіття, особливо рідкісних та зникаючих видів рослин, є одним із ключових викликів сучасної біології та екології. Антропогенний тиск, деградація природних екосистем та неконтрольована заготівля лікарської сировини призводять до катастрофічного скорочення популяцій багатьох цінних видів. Яскравим прикладом є представники роду *Carlina* L., які мають не лише значну фармацевтичну цінність, але й важливий природоохоронний статус, оскільки деякі з них занесені до Червоної книги України. Традиційні методи охорони виявляються недостатньо ефективними для відновлення їхніх популяцій. У цьому контексті розробка та впровадження сучасних біотехнологічних підходів для збереження генофонду та отримання рослинного матеріалу в умовах *in vitro* є надзвичайно актуальним і перспективним науковим напрямом.

Дисертаційна робота Христини Колісник присвячена саме цій проблематиці і є комплексним дослідженням з оптимізації умов культивування рідкісних видів роду *Carlina*.

В основу роботи покладено логічно обґрунтований підхід: аналіз фізіологічних характеристик рослин у природних умовах (стан фотосинтетичного апарату, водний баланс, едафічні фактори) став базою для розробки відповідних умов культивування *in vitro*. Цей інтегрований підхід дозволив авторці мінімізувати стрес від лабораторних умов і підвищити адаптивний потенціал рослин-регенерантів, що є ключовим для їх подальшого успішного повернення в природу. Дослідження підкреслює, що еволюційні адаптації видів відіграють вирішальну роль, а тому розроблені протоколи мають видоспецифічний характер, що свідчить про наукову обґрунтованість роботи.

Наукова новизна роботи полягає в тому, що авторкою вперше комплексно досліджено фізіологічні та біохімічні особливості трьох рідкісних видів роду *Carlina* в їхніх природних локалітетах та в умовах *in vitro*. Встановлено критерії-маркери для оцінки стану рослин, розроблено ефективні протоколи мікроклонального розмноження та ризогенезу. Вперше показано, що оптимізація елементного складу середовища на основі аналізу природних ґрунтів та корекція світлового режиму дозволяють значно підвищити життєздатність та адаптивний потенціал рослин-регенерантів.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблені авторкою біотехнологічні підходи є основою для створення програм зі збереження та відновлення популяцій рідкісних видів роду *Carlina*. Вони можуть бути використані ботанічними садами, природоохоронними установами та фармацевтичними компаніями для отримання стандартизованої рослинної сировини без шкоди для природних популяцій. Запропонована інтегральна схема підвищення адаптивного потенціалу є універсальним інструментом, що може бути адаптований для інших рідкісних видів рослин.

Виходячи із зазначеного, дисертанткою виконано теоретичні і практичні завдання, зміст досліджень розкриває проблему, що розглядається, глибина досліджень достатня для обґрунтування гіпотези та формулювання зроблених висновків.

Дисертаційна робота викладена на 181 сторінках машинописного тексту, складається з україномовної та англomовної анотацій, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, двох розділів власних досліджень (розділи III та IV), аналізу та узагальнення результатів (розділ V), висновків та списку використаних джерел та додатків. Робота містить 9 таблиць і 27 рисунків. Бібліографічний список складає 302 найменувань, з яких значна частина — англійською мовою.

В огляді літератури (розділ I) проведено глибокий аналіз сучасного стану вивчення біології, екології видів роду *Carlina* та проблем їх культивування *in vitro*. Авторка не лише узагальнює дані про їх природоохоронний статус та фармацевтичну цінність, але й критично аналізує існуючі біотехнологічні підходи. Це дозволило чітко окреслити наукову проблему: необхідність розробки комплексних підходів, які враховують видоспецифічні екологічні потреби рослин для їх успішного збереження та підвищення адаптивного потенціалу. Літературний огляд є достатньо інформативним, ґрунтується на посиланнях на актуальні наукові дослідження останніх років і логічно обґрунтовує постановку мети та завдань дослідження.

У розділі «Матеріали та методи» (розділ II) детально описано об'єкти, методики польових та лабораторних досліджень, що свідчить про високий методичний рівень роботи. Авторкою застосовано сучасний та адекватний до поставлених завдань арсенал методів, що включає стандартизовані методики агрохімічного аналізу ґрунтів, спектрофотометричне визначення пігментів, біофізичний метод індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ), а також валідні статистичні інструменти. Важливо відзначити, що в підрозділі 2.1 наведено узагальнену схему проведення досліджень (рис. 2.1), яка наочно демонструє логічну структуру та взаємозв'язок усіх етапів роботи. Це значно покращує сприйняття комплексності та цілісності виконаного дослідження. Опис умов культивування та дизайну експериментів є вичерпним і забезпечує надійність та відтворюваність отриманих результатів.

Разом з тим, для ще більшої повноти викладу методології, можна висловити кілька зауважень:

Слід більш детально обґрунтувати вибір статистичних методів. Так, для повної прозорості методології варто було б у підрозділі 2.4 не лише вказати на використання ANOVA, але й додати інформацію про те, чи проводилася перевірка експериментальних даних на відповідність основним вимогам параметричної статистики. Це зняло б будь-які питання щодо коректності вибору даного інструментарію.

У розділі III представлено результати оцінки екологічних умов та фізіологічних особливостей рослин *Carlina* в природних ценозах. На основі аналізу фотосинтетичного апарату та водного балансу авторкою встановлено ключові фізіологічні маркери (співвідношення фотосинтетичних пігментів, параметри ІФХ), виявлено видоспецифічні адаптивні стратегії (світлолюбність, тіньовитривалість) та доведено, що рослини в природі перебувають під дією абіотичного стресу. Визначення хімічного складу ґрунтів дозволило виявити унікальні едафічні потреби кожного виду, що стало фундаментальною науковою основою для подальших експериментів з оптимізації умов *in vitro*.

Разом з тим, для ще більшої повноти методологічного обґрунтування фізіологічної суті параметрів ІФХ, зокрема моделі розподілу енергії (фPSII, фNPQ та фNO), посилення на оглядову статтю Pospíšil (2016) варто було б доповнити посиланнями на першоджерела, де ця модель була запропонована та детально описана Kramer et al., 2004. Хоча стаття Pospíšil є фундаментальною у вивченні механізмів фотопошкодження, вона безпосередньо не описує згадані параметри, що є важливим для точності цитування.

У розділі IV наведено результати експериментів з оптимізації умов культивування *in vitro*, що є основною експериментальною частиною дисертації. Цей розділ логічно продовжує попередній, застосовуючи отримані знання на практиці. У підрозділі 4.1 розроблено та оптимізовано ефективні підходи до отримання стерильного матеріалу та, що особливо важливо, до вкорінення рослин, вирішуючи одну з ключових проблем біотехнології *Carlina*. Підрозділ

4.3 системно досліджує реакцію фотосинтетичної системи та водного режиму рослин *in vitro* на варіації спектрального складу та інтенсивності освітлення, що дозволило підібрати світлові режими, які найкраще відповідають природним потребам видів.

Особливої уваги заслуговує підрозділ 4.4, де порівнюється ефективність комерційного рекультиванту та середовищ, оптимізованих на основі аналізу природних ґрунтів. Результати переконливо доводять основну ідею розділу: глибоке розуміння природних потреб видів є більш надійним шляхом до підвищення їх адаптивного потенціалу.

У розділі V проведено глибокий аналіз та узагальнення отриманих результатів, що завершується розробкою інтегральної схеми. Цей розділ логічно пов'язує дані досліджень *in situ* та *in vitro*, синтезуючи їх у цілісну концепцію. Авторка не просто констатує факти, а й пояснює їх з точки зору еволюційно-адаптивних особливостей видів. Запропонована схема є головним науково-практичним результатом роботи, що наочно демонструє обґрунтованість розробленого підходу до підвищення адаптивного потенціалу рідкісних рослин.

Слід зауважити, що подекуди у тексті дисертації подекуди зустрічаються спеціалізовані терміни та абревіатури, які не мають відповідного визначення у списку умовних скорочень або опису в розділі "Матеріали та методи". Наприклад, у Таблиці 4.1 наведено дані для параметра, позначеного як "SPAD", проте його розшифрування, методика вимірювання та фізіологічна інтерпретація в роботі відсутні. Наявні посилання на наукові праці, які відсутні у списку використаних джерел. Зокрема, на сторінці 46 є посилання на (Bull et al., 1991; Gupta and Jatothu, 2013), однак у бібліографії ці роботи не представлені.

Варто звернути увагу і на стилістику наукового викладу. До прикладу, на сторінці 136 авторка пише: "Наукова література містить дуже мало інформації про введення в культуру *in vitro* видів *C. onopordifolia*, *C. cirsioides*, *C. acaulis*, які поширені на Заході України (Trejgell A., 2009...)". Це твердження є дещо спрощеним. У власному огляді літератури (с. 43) авторка посиляється на низку робіт (Trejgell, Побігушка, Кравець) саме по *in vitro* культивуванню *C. acaulis* та

C. cirsioides. “Дуже мало” інформації, ймовірно, стосується саме комплексного підходу з урахуванням екології, а не просто факту введення в культуру.

Загалом, одержані авторкою дані є ґрунтовно проаналізованими, обговореними, висновки логічно випливають з експериментальних даних, що свідчить про високий рівень виконання роботи.

Зауваження та запитання для дискусії:

1. Для повної прозорості методології варто було б у підрозділі 2.4 додати інформацію про те, чи проводилася перевірка експериментальних даних на відповідність основним вимогам параметричної статистики, що зняло б питання щодо коректності вибору даного інструментарію.
2. У розділі IV представлено детальні результати впливу різних варіантів живильного середовища на ростові параметри рослин (Таблиця 4.5). Результати статистичного аналізу наочно представлені за допомогою літерних індексів, що відображають результати пост-хок тесту Тьюкі. Разом з тим, в обговоренні цих даних авторка не завжди повною мірою інтерпретує статистичну значущість виявлених відмінностей. Часто обговорення зводиться до констатації найвищих чи найнижчих значень, без прямого коментаря, чи є ці відмінності між групами достовірними згідно з проведенням аналізом. Більш детальне обговорення саме статистично значущих відмінностей між експериментальними групами посилює б аргументацію та доказову базу роботи.
3. У дослідженні для стимуляції росту використовувався комерційний препарат «Trevitan®». Такий підхід має практичну цінність, однак, враховуючи, що склад препарату є комплексним і не повністю розкритим, це дещо ускладнює фундаментальну наукову інтерпретацію отриманих результатів. Неможливо однозначно визначити, який саме компонент або їх синергетична дія спричинили спостережуваний ефект

(стимуляцію чи пригнічення росту). Чи не вносить це елемент невизначеності в експеримент?

4. Розроблена інтегральна схема є потужним інструментом для роботи з видами роду *Carlina*. Як пропозиція для розширення дискусії, варто було б обміркувати, наскільки ця методологія є універсальною, та які модифікації можуть знадобитися для її застосування до рослин з іншими життєвими формами чи екологічними потребами.
5. У тексті дисертації, зокрема у висновках, зустрічається термін “ефективність запасання енергії світла ФСII”. Цей термін є дещо узагальненим і неспецифічним. Для більшої наукової точності було б доцільніше використовувати конкретні, загальноприйняті та виміряні в роботі параметри, такі як “ефективний квантовий вихід фотосистеми II (Φ_{PSII})”, щоб уникнути неоднозначності.

Вищезгадані зауваження і побажання не зменшують цінність дисертаційної роботи, а лише дають змогу провести цікаву наукову дискусію із зазначеного напрямку дослідження.

Апробація роботи. За матеріалами дисертації опубліковано 14 праць, у тому числі: 6 – у фахових виданнях України категорії Б; 7 – тези доповідей на наукових конференціях; 1 – на з’їзді.

Анотація у повній мірі відображає зміст роботи. Вона не містить тверджень чи ідей, які не наведені в основному тексті дисертації.

Праця написана змістовно, науковою мовою, стиль викладення матеріалу логічний та послідовний.

На основі всього вище переліченого вважаю, що дисертаційна робота Колісник Христини Михайлівни на тему «Розробка біотехнологічних підходів до підвищення адаптивного потенціалу рідкісних видів роду *Carlina* L. *in vitro*», яка подана на здобуття ступеня доктора філософії, за своїм науковим рівнем та

практичною цінністю, змістом та оформленням відповідає вимогам «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 від 12.01.2022 р. №44 та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

кандидат біологічних наук,
доцент кафедри загальної біології
та методики навчання природничих дисциплін
Тернопільського національного педагогічного
університету імені Володимира Гнатюка



Андрій ГЕРЦ

