

До разової спеціалізованої вченої ради PhD 9880
Тернопільського національного педагогічного
університету імені Володимира Гнатюка
(46027, Тернопіль, вул.Максима Кривоноса, 2)

ВІДГУК

офіційного опонента, кандидата біологічних наук, старшого дослідника,
старшого наукового співробітника відділу генетичної інженерії Інституту
клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

ЛИСТВАН Катерини Володимирівни

на дисертаційну роботу **Колісник Христини Михайлівни**

**“Розробка біотехнологічних підходів до підвищення адаптивного
потенціалу рідкісних видів роду *Carlina* L. *in vitro*”,** подана на здобуття
наукового ступеня доктора філософії 091 “Біологія” (09 – Біологія)

Актуальність теми дисертації. Сучасний розвиток фармації супроводжується зростанням інтересу до екологічно чистої рослинної сировини. Приблизно чверть лікарських препаратів містить складники рослинного походження, однак безконтрольне використання рідкісних видів призводить до виснаження природних ресурсів. До таких рослин в Україні належать представники роду *Carlina*, зокрема *Carlina onopordifolia*, *C. cirsioides* і *C. acaulis*, які потребують охорони. Їхні екстракти містять низку біологічно активних сполук із протизапальною, антиканцерогенною та інсектицидною дією, проте через обмежену поширеність ці види досі мало використовуються в офіційній медицині.

Тому важливим завданням є створення можливості їх використання як джерела лікарської сировини, для реалізації чого перспективним напрямом є використання біотехнологічних методів культивування *in vitro*. Таке вирощування дає змогу контролювати умови росту, мінімізувати ризик

генетичних змін і формувати оздоровлений посадковий матеріал. Проте для досягнення ефективного результату потрібна розробка індивідуальних схем культивування для кожного виду та генотипу. Також важливо ще на ранніх стадіях культивування створити умови, які сприятимуть формуванню адаптивного потенціалу. Відомо, що умови вирощування вихідної рослини можуть впливати на успішність її подальшого пристосування до асептичних умов, що, в тому числі, й досліджувалось в роботі з використанням видів роду *Carlina*. Тому дослідження, виконані автором роботи, є актуальними.

Структура та зміст дисертації, її завершеність та відповідність встановленим вимогам.

Дисертація Колісник Христини Михайлівни викладена на 181 сторінці друкованого тексту, включаючи 11 таблиць, 27 рисунків, список використаних джерел, що налічує 302 найменування, та 6 додатків. Дисертація складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, чотирьох основних розділів, узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел і додатків. Така структура є логічною, змістовною та відповідає сучасним вимогам до оформлення дисертаційних досліджень.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми, визначено мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, наукову новизну, практичну цінність одержаних результатів, зв'язок роботи з науковими програмами, наведено короткі відомості про апробацію, публікації та структуру роботи. Авторка чітко сформулювала мету – розробити оптимальні умови культивування *in vitro* рослин роду *Carlina* з урахуванням їх біологічних та ґрунто-рослинних особливостей, що дозволить отримати високожиттєздатний рослинний матеріал та підвищити їх адаптивний потенціал. Визначено 9 конкретних завдань, які послідовно розв'язуються упродовж усієї роботи.

Перший розділ присвячено аналітичному огляду літератури з проблем інтродукції рідкісних видів у культуру *in vitro*, охорони генофонду рослин та біотехнологічного забезпечення відтворення рослинного ресурсу. Детально розглянуто хорологічні, біоекологічні особливості досліджуваних видів, фізико-хімічні властивості ґрунтів у місцях їх зростання, проблеми отримання

асептичних культур, а також сучасні підходи до оптимізації світлового режиму та живильного середовища. Обґрунтовано доцільність застосування біотехнологічного підходу до вирощування рослин *Carlina* як шляху збереження їх популяцій та забезпечення фармацевтичної сировини.

Другий розділ містить опис об'єктів дослідження, місць локалізації природних популяцій, детальний виклад методик *in vitro*-культивування, спектрофотометричних визначень пігментів, флуоресцентних досліджень фотосинтетичного апарату, вимірювання водного режиму, дослідження хімічного складу середовища та екзогенних регуляторів / стимуляторів росту на морфофізіологічні параметри рослин *in vitro*; методи статистичної обробки отриманих числових даних.

Методичний апарат розроблено ретельно, що забезпечує достовірність та відтворюваність експериментальних результатів.

У третьому розділі представлено результати вивчення функціонування фотосинтетичного апарату, вмісту хлорофілів та каротиноїдів, флуоресценції хлорофілу а, а також особливостей водного режиму в умовах природного середовища. Окремо проаналізовано фізико-хімічні властивості ґрунтів у місцях зростання рослин. Встановлено залежності між станом фотосинтетичного апарату та погодними умовами, а також між показниками водного режиму та віковою структурою популяцій. Ці результати створюють підґрунтя для подальшого моделювання умов вирощування рослин *in vitro*.

Четвертий розділ присвячений розробці та експериментальному обґрунтуванню ефективних технологічних рішень для вирощування рослин *Carlina* в культурі *in vitro*. Розглянуто ефекти застосування регуляторів росту, спектрального складу освітлення, модифікацій живильного середовища. Показано, що підібрані умови сприяють підвищенню вкоріненості, покращенню морфометричних показників та стабільності фотосинтетичної системи. Запропоновано інтегральну технологічну схему вирощування, яка дозволяє підвищити адаптивний потенціал рослин на ранніх етапах розвитку.

Узагальнення результатів дослідження та висновки підтверджують повне виконання поставлених завдань. Запропоновано схему інтегрального

підходу до підвищення адаптивного потенціалу рослин видів роду *Carlina in vitro*.

Дисертаційна робота є завершеним самостійним дослідженням, виконаним на хорошому науковому та методичному рівні. Отримані результати можуть бути використані у подальших наукових дослідженнях, а також у практиці природоохоронної діяльності, фіторекультивациї та фармацевтичної галузі. Оформлення роботи відповідає вимогам Міністерства науки та освіти України.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано у лабораторії екології та біотехнології ТНПУ у рамках держбюджетної теми “Розробка універсальної багатоступінчастої біотехнології “*in vitro – ex vitro – in situ*” для стабілізації популяцій рідкісних видів рослин” (ДР № 0119U100475, 2019–2021 рр.), а також науково-технічної роботи “Особливості структурно-функціонального стану рослин *in vitro* за різних світлових умов культивування” (ДР № 0122U200695, 2022–2026 рр.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертанткою проаналізовано великий обсяг сучасної наукової літератури щодо проблем інтродукції та біотехнологічного вирощування рідкісних видів рослин, зокрема роду *Carlina*, а також особливостей їх фізіолого-біохімічної адаптації до умов *in vitro* та природного середовища. На основі цього аналізу літературних даних обґрунтовано мету й завдання дослідження, вибір об'єктів і методів.

Дисертантка успішно реалізувала поставлені завдання та отримала репрезентативний обсяг експериментального матеріалу, застосовуючи при цьому застосувала низку сучасних методів: біотехнологічних, морфометричних, фізіолого-біохімічних, спектрофотометричних, мікроскопічних, що забезпечило комплексність дослідження. Статистична обробка результатів із використанням адекватних методів аналізу підтверджує достовірність отриманих висновків. Висновки роботи є логічними, впливають безпосередньо з отриманих результатів, відповідають меті й завданням дослідження. Таким чином, ступінь

обґрунтованості й достовірності положень, висновків і рекомендацій дисертації Христини Колісник відповідає науковим стандартам.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертанткою запропоновано новий підхід до збереження рідкісних видів роду *Carlina* шляхом поєднання біотехнологічних методів та екологічного аналізу природних умов зростання. Авторкою розроблено систему критеріїв-маркерів, які дозволяють об'єктивно оцінювати функціональний стан рослин у природному середовищі, що стало основою для подальшої оптимізації умов їх вирощування *in vitro*. З'ясовано, що врахування едафічних характеристик ґрунтів природних локалітетів і фізіолого-біохімічних особливостей досліджуваних видів має важливе значення для успішного культивування та підвищення адаптивного потенціалу рослин у культурі *in vitro*. У результаті експериментальних досліджень підібрано оптимальні умови для мікроклонального розмноження та вкорінення представників роду *Carlina* з використанням спеціалізованих живильних середовищ і світлових режимів. На основі отриманих даних запропоновано схему узагальненого підходу до підвищення адаптивного потенціалу рослин, яка може бути використана і для інших видів.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблені способи підвищення адаптивного потенціалу рослин ще на етапі *in vitro* можуть бути використані як для рослин досліджуваного роду, так і для інших рослин, котрі є рідкісними та/або мають значний потенціал для використання в фармацевтичній промисловості та інших галузях народного господарства.

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності. Аналіз даної роботи свідчить про відсутність порушень автором вимог оформлення дисертації, а також не виявлено ознак академічного плагіату. Усі використані ідеї, методики та результати досліджень інших авторів, мають відповідне посилання на джерело, елементів фальсифікації чи фабрикації тексту не виявлено.

Пропозиції, питання та зауваження до дисертації.

1. В роботі дещо недостатньо висвітлено, в чому саме полягає проблема культивування досліджуваних видів в умовах *in vitro*.

2. Досліджувані види відкасників внесені до Червоної книги, відповідно збір рослинного матеріалу і насіння потребує відповідних дозволів. Однак в роботі не вказано, чи наявні такі дозволи.
3. Якою мірою спектральний склад і рівні інтенсивності світла, що використовуються для вирощування рослин *in vitro*, відображають характеристики природного освітлення, за якого ростуть рослини в природних умовах?
4. Точність вимірювання (до сотих) деяких показників (наприклад, схожості насіння чи кількості коренів) в низці випадків не виглядає доцільною. Наприклад, ст. 99 – “За використання описаного методу було встановлено високі показники лабораторної схожості та інтенсивності проростання насіння, зокрема, у рослин *C. onopordifolia* це значення становило 98,40 %, у *C. cirsioides* – 95,58 %, а у *C. acaulis* – 83,87 %”; ст. 140 – “Показники утворення нових листків ($5,50 \pm 1,12$ шт.) і коренів ($3,75 \pm 1,44$ шт.) тощо.
5. В роботі як один з вагомих чинників впливу було використано рекультивант композиційний “Trevitan®”. Було б доцільно описати хоча б приблизно склад цього рекультиванта, щоб можна було уявляти, які саме речовини могли чинити той чи інший встановлений в роботі вплив. Також незрозуміло, чому саме цей препарат був обраний серед інших подібних препаратів.
6. В роботі було вивчено хімічний склад ґрунтів в місцях природнього місцезростання досліджуваних видів відкасників; в подальшому основні параметри було відтворено в модифікаціях поживних середовищ для культури *in vitro*. Чи були підстави вважати, що хімічний склад природних ґрунтів є найбільш оптимальним для росту цих видів рослин?

Загальний висновок та оцінка роботи. Представлені зауваження не є принциповими і не знижують наукової цінності, практичного значення та загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

Оцінюючи в цілому проведені дослідження, вважаю, що за актуальністю, обсягом експериментального матеріалу, новизною, науковим і практичним значенням та рівнем застосованих експериментальних підходів дисертаційна робота **Колісник Христини Михайлівни «Розробка біотехнологічних підходів до підвищення адаптивного потенціалу рідкісних видів роду *Carlina L. in vitro*»**, подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії 091 «Біологія» (09 – Біологія), є завершеною самостійною науковою працею, яка 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 № 44 від 12 січня 2022 р. та «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 19 травня 2023 року № 502, а її авторка – **Колісник Христина Михайлівна** заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (09 – Біологія).

Офіційний опонент:

кандидат біологічних наук, старший дослідник,

старший науковий співробітник

відділу генетичної інженерії

Інституту клітинної біології

та генетичної інженерії НАН України

Катерина ЛИСТВАН

