

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

ВІДГУК
офіційного опонента
доктора біологічних наук,
старшого наукового співробітника,
провідного наукового співробітника
відділу генетичного поліпшення рослин
Інституту фізіології рослин і генетики НАН України
ПРЯДКІНОЇ Галини Олексіївни

на дисертаційну роботу **КОЛІСНИК Христини Михайлівни**
«Розробка біотехнологічних підходів до підвищення адаптивного
потенціалу рідкісних видів роду *Carlina* L. *in vitro*»,
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
в галузі знань 09 – Біологія,
за спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність теми досліджень. Дисертаційна робота КОЛІСНИК Христини Михайлівни присвячена розробці біотехнологічних підходів для збереження чисельності популяції рідкісних видів роду *Carlina* L., а саме: рослин відкасника татарниколистого (*Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl), відкасника осотоподібного (*Carlina cirsioides* Klokov) та регіонально-рідкісного в Україні відкасника безстеблового (*Carlina acaulis* L.).

Відомо, що рослини цих 3-х видів активно застосовують у народній медицині та у ветеринарній практиці, завдяки їхній ефективності при лікуванні багатьох захворювань, нетоксичності та відсутності побічних дій. Актуальність роботи, з одного боку, обумовлена як зменшенням чисельності їх популяції внаслідок людської діяльності – надмірною заготівлею цих рідкісних лікарських видів рослин та випасанням худоби, з другого – біологічними особливостями (відкасник татарниколистий цвіте лише один раз у житті, відкасник осотоподібний має порівняно низьку насінневу продуктивність через відсутність ефективного запилення), а з третього – кліматичними змінами, що супроводжуються зменшенням кількості опадів та зміною їх характеру: в

останні роки спостерігаємо збільшення кількості сильних злив, які можуть завдавати більше шкоди, ніж користі.

Одним з можливих шляхів збереження чисельності популяції рідкісних видів рослин є використання біотехнологічних методів, які дозволяють отримувати екземпляри, генетично ідентичні вихідній формі, збільшувати кількість отриманих рослин з мінімального обсягу донорів, тим самим зберігаючи генофонд рідкісних рослин, та одержувати рослинний матеріал для досліджень особливостей їх функціонування.

Важливим аспектом відновлення популяцій рідкісних видів рослин є визначення критеріїв, за якими можна оцінити їх стан на різних біотехнологічних етапах. Оцінка особливостей адаптації рослин до умов вирощування за ознаками змін вмісту та співвідношень хлорофілу і каротиноїдів, а також активності фотосинтетичного апарату обумовлена тим, що пігменти та первинні реакції фотосинтезу, в ході якого світлова енергія перетворюється на хімічну, є чутливими до умов навколишнього середовища. Вибір показників водного обміну в якості таких ознак також пов'язаний з його впливом на ключові фізіологічні процеси та продуктивність рослин.

Ще одним важливим завданням є розробка методів підвищення адаптивного потенціалу рідкісних видів рослин, які мають нижчу, ніж поширені види, виживаність, оскільки зміни кліматичних умов, антропогенний фактор, обмежений ареал розповсюдження та їх біологічні особливості, можуть негативно вплинути на їх чисельність у природі, зокрема й видів роду *Carlina*.

Отже, дисертаційна робота Христини КОЛІСНИК, присвячена науковому обґрунтуванню та розробці оптимальних умов культивування *in vitro* рослин рідкісних видів роду *Carlina* та біотехнологічних підходів щодо підвищення їхнього адаптивного потенціалу, безумовно є актуальною і практично значимою.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дослідження виконано у лабораторії екології та біотехнології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка у рамках держбюджетної теми «Розробка універсальної багатоступінчастої біотехнології «*in vitro* – *ex vitro* – *in situ*» для стабілізації популяцій рідкісних видів рослин» (номер державної реєстрації 0119U100475), а також науково-технічної роботи «Особливості структурно-функціонального стану рослин *in vitro* за різних світлових умов культивування» (номер державної реєстрації 0122U200695).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше визначено критерії-маркери для оцінки функціонального стану рослин 3-х рідкісних видів роду *Carlina* у природних умовах. Показано, що основою для оптимізації умов культивування та підвищення адаптивного потенціалу рослин *in vitro* є врахування едафічних умов росту рослин з їх природних локалітетів, а також вивчення особливостей їх фізіології. Уперше підібрано умови для оптимізації культивування та вкорінення *in vitro* видів роду *Carlina*. Уперше запропоновано схему інтегрального підходу до підвищення адаптивного потенціалу рослин видів роду *Carlina in vitro*.

Теоретичне значення результатів досліджень. Проведені авторкою дослідження вносять суттєвий вклад у вирішення фундаментальних питань обґрунтування біотехнологічних підходів для отримання високожиттєздатного рослинного матеріалу видів роду *Carlina* на першому етапі культивування (*in vitro*). Результати дослідження кліматичних та едафічних умов росту відкасників та особливостей їх культивування в умовах *in vitro*, наведені у дисертації, поглиблюють та розширюють уявлення про морфометричні та фізіологічні механізми, задіяні у формуванні адаптивних реакцій цих видів у відповідь на зміну інтенсивності та спектрального складу світла, елементного складу живильного середовища та на екзогенні стимулятори росту. Закладено теоретичні основи для розробки біотехнологічних підходів для підвищення адаптивного потенціалу рідкісних лікарських видів роду *Carlina*.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблені на основі досліджень впливу світлових режимів та елементного складу живильного середовища на фізіологічні особливості відкасників способи дозволяють підвищити адаптивність вже на етапі *in vitro*, а також використовувати отриманий в культурі *in vitro* вихідний матеріал для подальшої акліматизації рослин до умов *ex vitro* та *in situ* та у природоохоронних цілях для підвищення потенціалу рослин цих та інших рідкісних видів рослин. Результати досліджень можуть бути використаними у навчальних та освітньо-наукових закладах при викладанні ботаніки, біотехнології, біохімії, фізіології та генетики рослин.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 14 робіт, з них – 6 статей у фахових вітчизняних журналах категорії Б, 5 статей та 2 тез у матеріалах вітчизняних міжнародних наукових та науково-практичних конференцій та 1 тези у матеріалах з'їзду.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертанткою проаналізовано значну кількість літературних джерел (289 найменувань) щодо біологічних особливостей рослин видів роду *Carlina*, їх світлового та водного режимів, а також умов мінерального живлення та культивування рослин в культурі *in vitro*. Базуючись на аналізі літературних джерел, авторкою обґрунтовано мету та завдання дисертаційної роботи. Ступінь обґрунтованості дисертаційної роботи підтверджується достатньою апробацією результатів на міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях.

Логічне планування досліджень дозволило виконати поставлені завдання та одержати значний обсяг експериментального матеріалу. Авторкою опанована ціла низка сучасних методів досліджень. Достовірність, надійність і обґрунтованість результатів підтверджується адекватністю використання сучасних методів досліджень, статистичною обробкою експериментальних даних і оцінкою достовірності одержаних результатів. Висновки відповідають поставленим завданням та отриманим результатам досліджень.

Структура та зміст дисертації, її завершеність та відповідність встановленим вимогам. У дисертаційній роботі чітко і логічно визначені ідея досліджень, мета, завдання, техніка постановки експериментів. Вона має

традиційну структуру і складається зі вступу, огляду літератури, опису експериментальних об'єктів і методів досліджень, опису результатів та їх обговорення, узагальнення, висновків, списку використаних джерел і додатків. Робота проілюстрована 9 таблицями та 27 рисунками. Список використаних джерел складається з 289 найменувань. Загальний обсяг рукопису становить 176 сторінок друкованого тексту.

У вступі, написаному відповідно до чинних вимог, обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету та завдання роботи та наведено основні положення наукової новизни і практичного значення отриманих результатів.

В огляді літератури, в якому серед джерел переважають сучасні публікації, проаналізовано біоекологічні особливості рослин видів роду *Carlina* та охарактеризовано фізико-хімічні властивості ґрунтів та складові ґрунтових профілів у ареалах їх поширення (у Карпатах та Прикарпатті). Розглянуто найважливіші проблеми отримання живих колекцій рослин рідкісних видів в умовах *in vitro*. Зокрема, вибір експланту та підбір стерилізуючого агента, способи уникнення інтоксикації вторинними метаболітами, зменшення генетичних мутацій рослинного матеріалу за тривалого культивування, покращення вкорінення та акліматизації до умов відкритого ґрунту. Також проаналізовано структурно-функціональні зміни рослин, вирощених в умовах *in vitro*: недостатній розвиток кореневої системи, вплив складу повітря на фотосинтетичні процеси, гормональної стимуляції ростових процесів тощо. Розглянуто особливості отримання асептичних рослин видів роду *Carlina*, їх мікроклонального розмноження та введення в культуру *in vitro*.

В останньому підрозділі огляду дисертантка характеризує сучасні підходи до відновлення морфо-фізіологічного стану рослин в умовах *in vitro*, приділяючи основну увагу можливості оптимізації світлового режиму та компонентів живильного середовища. Вибір саме цих двох чинників обґрунтовано їх найважливішими функціями для рослинного організму, в тому числі впливі на фотосинтетичний апарат, процеси експресії генів, органогенез, морфологію та диференціацію органів, ріст та розвиток.

В цілому, проаналізовано значний обсяг наукової літератури щодо сучасного стану проблем культивування рідкісних рослин *in vitro* для збереження їх генофонду.

У розділі 2 «Матеріали і методи досліджень» надано інформацію щодо органів, які використовували для досліджень, перелік локацій, з яких було відібрано рослини для інтродукції та наведено узагальнену схему проведення досліджень. Описано умови відбору ґрунтів та надано посилання на методики аналізу їх хімічних властивостей. Представлено детальний опис методик введення в культуру *in vitro*, мікроклонального розмноження відкашників та термін аналізу його результативності. Описано умови відборів зразків та методики визначення вмісту фотосинтетичних пігментів, а також охарактеризовано варіанти інтенсивності та спектрального складу освітлення. Наведено відомості щодо методу індукції флуоресценції хлорофілу *a*, який використовували для оцінки ефекту світлових режимів на проходження первинних процесів фотосинтезу. Також описано умови відборів зразків та методики

визначення показників водного режиму. Охарактеризовані середовища для культивування асептичних проростків видів роду *Carlina* та наведено дані щодо вмісту макросолей у них. Описано схему обробки насіннєвого матеріалу рекультивантом композиційним «Trevitan®» та наведено варіанти середовищ для культивування. В останньому підрозділі описано методи статистичної обробки результатів та оцінки достовірності виявлених ефектів.

У розділі 3 «Оцінювання екологічних умов росту та фізіологічних особливостей рослин роду *Carlina* у природних ценозах» логічно узявши за основу припущення, що для розробки біотехнологічних технологій вирощування та акліматизації до умов *ex vitro* рідкісних видів рослин необхідно знати їх найважливіші фізіологічні параметри у природних умовах, дисертантка обґрунтовує важливість обрання в якості таких показників ознаки фотосинтетичного апарату та водного балансу рослин.

Оцінка вмісту та співвідношень пігментів у листках рослин досліджуваних видів у природних місцях росту показала, що загальний вміст пігментів (хлорофілів та каротиноїдів) у рослин *C. onopordifolia* на генеративній стадії був нижчим, ніж на прегенеративній, тоді як для рослин *C. cirsioides*, навпаки – вищий у генеративних рослин. З'ясовано, що у виду *C. onopordifolia*, що належить до світлолюбних рослин, загальний вміст пігментів на 24–39 % перевищував значення у тіньовитривалих рослин виду *C. cirsioides*. При цьому вміст загальних каротиноїдів в усіх вікових групах останнього виду був значно меншим, ніж у рослин першого виду. Встановлено також, що у видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* у всіх вікових групах (за виключенням генеративних рослин *C. cirsioides*) в 1,1–3,7 рази підвищився вміст хлорофілу *b*. При цьому, відповідно, було виявлено і значну різницю у співвідношеннях груп пігментів: так, у *C. acaulis* співвідношення хлорофілів *a/b* варіювало в межах 4,36–4,65, тоді як у *C. onopordifolia* – було значно нижчим (2,0). Також значно відрізнялося співвідношення суми хлорофілів (*a + b*) до каротиноїдів: на обох локалітетах воно виявилось найнижчим у *C. acaulis*, найвищим – у *C. onopordifolia*. Дисертантка пояснює зміни вмісту хлорофілу *b* і каротиноїдів та їх співвідношень як еволюційним пристосуванням видів до екологічних умов їх зростання, так і змінами у структурі світлозбиральних комплексів фотосистем залежно від зовнішніх умов, стресових факторів у тому числі. Враховуючи значну різницю у видів роду *Carlina* за величинами співвідношень хлорофілу *a* до *b* та сумарного хлорофілу (*a + b*) до каротиноїдів, саме ці два критерії обрані в якості ознак оцінки функціональних змін у рослинах під час культивування *in vitro*.

Також досліджено вплив низки метеорологічних чинників на вміст фотосинтетичних пігментів рослин видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* у трирічному експерименті. За результатами кореляційного аналізу з'ясовано, що тіснота залежності між ними змінювалися по роках. Встановлено, що стан пігментного комплексу рослин обох видів більшою мірою залежав від умов водозабезпечення, ніж від температури повітря.

У наступному підрозділі представлені результати порівняльного аналізу показників активності фотосинтетичного апарату рослин видів *C. cirsioides* і

C. onopordifolia у природних умовах, отриманих за допомогою неінвазивного методу флуоресценції хлорофілу *a*. Встановлено, що у природному середовищі обидва види зазнають впливу абіотичних стресів, що підтверджується зростанням втрат енергії світлових квантів через теплову дисипацію та процеси фотоінгібування, а також істотним прискоренням транспорту електронів в електрон-транспортному ланцюгу. На цей факт також вказують істотно менші, ніж оптимальне значення, коефіцієнти спаду флуоресценції хлорофілу *a*, або індексу життєздатності: у виду *C. onopordifolia* – удвічі, у виду *C. cirsioides* – в 1,6 рази.

Оцінка параметрів водного режиму рослин видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides in situ* показала, що інтенсивність транспірації у рослин різних вікових груп першого виду була у 2–3 рази нижчою, ніж у рослин другого виду. Інтенсивність транспірації обох видів залежала від вікової стадії, проте у *C. onopordifolia* найвищою вона була в іматурних рослин, тоді як у *C. cirsioides* – у віргінільних та генеративних, між якими не виявлено статистично значущих відмінностей.

У досліджених видів також виявлено диференціацію серед вікових груп за іншими показниками водного режиму рослин: ступенем загальної оводненості, дефіциту вологи та здатністю до утримання вологи. Так, у рослин виду *C. onopordifolia* рівень оводненості генеративних рослин в середньому удвічі менший, порівняно з представниками іматурної та віргінільної груп. У них також відмічено найбільший рівень водного дефіциту (16,5%) та найменшу вологоутримувальну здатність (6,8%) поміж усіх вікових груп. Рослини іматурної вікової групи *C. cirsioides* за ступенем загальної оводненості, дефіциту вологи та здатністю до утримання вологи займають посереднє положення між віргінільною і генеративною групами. Як і у генеративних рослин *C. onopordifolia*, у цієї вікової групи *C. cirsioides* спостерігали найвищий рівень водного дефіциту (13,8%) і найнижчу оводненість тканин (7,0 %). Встановлено, що за наявності міжвидових відмінностей за параметрами водного режиму, молодші вікові групи обох видів мають вищу стійкість до нестачі вологи, ніж старші. У той же час, генеративні рослини *C. cirsioides* зберігають значний рівень стійкості, а *C. onopordifolia* – є більш вразливими до нестачі води.

В останньому підрозділі дисертантка характеризує результати визначення елементного складу у пробах ґрунтів з природних місць росту рослин. Виявлено, що значення обмінної кислотності у місцях зростання виду *C. acaulis* значно нижчі, ніж у місцях, де ростуть *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*. Також з'ясовано, що рослини першого виду поширені у локалітетах із підвищеним вмістом біодоступного Фосфору, проте, з нижчим вмістом Калію, Кальцію, амонійної та нітратної форм Нітрогену, на відміну від двох останніх видів. Аналіз хімічних елементів ґрунтів із природних місць видів роду *Carlina* в подальшому слугував основою для оптимального підбору елементного складу середовища для культивування в умовах *in vitro*.

На основі отриманих результатів щодо умов зростання та фізіологічних особливостей рослин роду *Carlina* у природних ценозах були з'ясовані критерії для подальшого культивування рослин в культурі *in vitro*.

У розділі 4 «Оптимізація умов культивування *in vitro* задля підвищення адаптивної здатності рослин» проаналізовано можливості збільшення адаптивного потенціалу рослин відкасників на стадії *in vitro* шляхом регуляції складу середовища для культивування. Оцінку проведено за аналізом реакцій показників фотосинтетичної системи та водного режиму рослин на різні умови вирощування.

Результати, представлені у першому підрозділі, засвідчують, що найефективнішим стерилізуючим агентом для поверхневої обробки насіння видів роду *Carlina* виявився 15% розчин перекису водню, а час витримання в ньому насіння – 35 хвилин. Крім цього, було модифіковано відомий двоетапний метод культивування *in vitro* рослин *C. onopordifolia*, що дозволило збільшити інтенсивність утворення коренів рослин відкасників до 80–100 % та зменшити утворення калюсу в межах основи пагону та травмування асептичних проростків. Встановлено відсутність істотного впливу тривалості зберігання насіння на його проростання в подальшому. Встановлено, що найбільший відсоток проростання насіння для всіх 3-х видів *Carlina* спостерігали у жовтні.

Порівняльний аналіз способів активації ризогенезу у проростків відкасників показав, що через 30 днів культивування кількість сформованих мікроклонів на середовищі МС/2 з 0,1 мг/л НОК та з додаванням 1 мг/л або 3 мг/л Кін коливалась у одному діапазоні: відповідно, 1,4–3,5 та 2,5–2,6 штук на один висаджений живець. З'ясовано, що кількість мікроклонів на живець за 6 місяців вирощування значно збільшувалась у всіх 3-х видів, хоча і не однаково. Для виду *C. cirsioides* кількість мікроклонів не залежала від складу середовища: 6,8 та 6,6 штук, відповідно для першого та другого середовища, тоді як для *C. acaulis* (4,2 та 5,0) та *C. onopordifolia* (4,8 та 5,2) – кількість мікроклонів була більшою на другому середовищі. Також встановлено, що середовище для культивування МС/2 з додаванням 0,2 мг/л ІОК, 0,5 мг/л ГК₃ та 0,1 мг/л НОК було найбільш сприятливим для вкорінення відкасників – тобто збільшення їх кількості, проте, через 6–10 місяців вирощування довжина коренів не перевищувала 8–10 мм.

З'ясовано, що для усіх досліджених видів роду *Carlina* найвищий сумарний вміст пігментів спостерігали у варіанті з інтенсивністю освітлення 30 мкмоль/(м²·с): 113,3 мг/100 г сирової речовини для виду *C. onopordifolia*, 8,6 – для *C. acaulis* та 67,8 – для *C. cirsioides*. Також встановлено, що за цього режиму освітлення у двох останніх видів співвідношення хлорофілу *a* до *b*, яке є показником адаптації рослини до освітлення, було найвищим. Отримані результати засвідчили, що за культивування з цією інтенсивністю освітлення як величина співвідношення хлорофілів *a/b*, так і показники загального вмісту пігментів у рослин видів *C. acaulis* і *C. onopordifolia* наближені до показників рослин *in situ*.

Отримані результати щодо змін співвідношень пігментів рослин, які характеризують структурно-функціональні перебудови фотосинтетичного

апарату, дозволили встановити, що спектральний склад та інтенсивність світлового потоку варіанту 3 з інтенсивністю світлового потоку в області ФАР 39 мкмоль/(м²·с) та спектральним складом $E_c : E_z : E_{ch} = 33\% : 42\% : 25\%$ є найбільш близьким до природних умов для рослин *C. onopordifolia*. Також зроблено висновок, що жодний із досліджених варіантів світлової корекції не відповідав потребам у світлозабезпеченні виду *C. cirsioides*.

Порівняльний аналіз змін індукції флуоресценції хлорофілу *a* у рослин *in situ* та з умов *in vitro* показав значні відмінності у перебігу первинних процесах фотосинтезу. Базуючись на вищих величинах показників фотохімічної ефективності з одночасним зменшенням коефіцієнтів спаду флуоресценції хлорофілу *a* та значень теплової дисипації поглинутої енергії встановлено, що біологічним потребам рослинам *in vitro* видів *C. onopordifolia* та *C. acaulis* освітлення відповідають умови варіанту 3.

Наступним етапом дослідження оптимізації умов культивування відкасників було дослідження змін показників водного режиму в залежності від режиму освітлення. Встановлено, що водний дефіцит у рослин *C. acaulis* при використанні ламп холодного білого світла та фітоламп виявився меншим (6,74 %), ніж за освітлення тільки лампами холодного білого світла (10,18 %), тоді як у рослин *C. onopordifolia* істотної різниці між цими варіантами не виявлено.

Аналіз впливу складу середовища для культивування рослин роду *Carlina* показав, що показники розвитку розетки листків залежали від таксономічної приналежності. Виявлено, що оптимальним для збільшення як довжини листків, так й їх кількості у виду *C. acaulis* виявилось середовище для культивування MC/2 з додаванням 1 мл/л препарату “Trevitan®”, тоді як для виду *C. cirsioides* максимальний приріст довжини спостерігали на цьому середовищі з додаванням комбінації 1 мл/л препарату “Trevitan®” та 0,1 мл/л ІОК, а кількості нових листових пластинок у розетці – у варіанті з додаванням 0,1 мл/л ІОК. Також з’ясовано, що склад середовища для культивування також мав видоспецифічний характер і на вкорінення відкасників.

Встановлено, що в умовах *in vitro* лише для рослин *C. acaulis* сприятливим і для ризогенезу, і для росту листків є середовище, оптимізоване відповідно до складу ґрунтів з природних місць росту, тоді як для видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* оптимальні середовища для коренеутворення та росту листків є різними.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» акцентується, що застосовані біотехнологічні підходи дозволили оцінити потреби рідкісних видів відкасників для їх успішного культивування *in vitro*. Встановлено, що основну роль для оптимізації умов вирощування в культурі *in vitro* рослин видів роду *Carlina* відіграють еволюційно сформовані особливості цих видів.

Закінчується текст дисертації традиційним переліком висновків, які є обґрунтованими, безпосередньо впливають з експериментальних даних і повністю відповідають меті й завданням досліджень.

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності. У роботі не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації. Використані ідеї та результати досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело, дотримано вимоги норм законодавства про авторське право. Всі ідеї та наукові положення, які викладені авторкою, отримані нею особисто. Публікації належним чином висвітлюють основні положення, поданої до захисту дисертаційної роботи. Отже, аналіз тексту дисертаційної роботи свідчить про відсутність порушення автором вимог академічної доброчесності.

Питання та зауваження до дисертаційної роботи.

1. Для мікроклонального розмноження рослин відкасників використовували проростки 2–3 місячних рослин. Яких рослин – з природного середовища чи вирощених Вами з насіння?

2. Загальний вміст пігментів окремих видів відкасників у природних умовах значно варіював по роках (рис. 3.2). Якій вміст Ви вважали оптимальним для умов *in vivo*?

3. Яке зі співвідношень хлорофілу *a* чи хлорофілу *b* до каротиноїдів є найбільш інформативним для оцінки адаптивності рослин до умов освітлення? (за даними рис. 4.7 та 4.9).

4. Чи враховували при постановці експериментів з інтенсивністю та спектральним складом світла, що види *C. onopordifolia* та *C. cirsioides*, відрізняються за потребою у світлі?

5. Чи спостерігали узгодженість між функціонуванням фотосинтетичного (показники активності) і продихового (транспірація) апаратів?

6. Чи економічно вигідним є додавання регуляторів росту для покращення ризогенезу та появи нових листків? Можливо, достатньою буде лише зміна світлового режиму?

7. Що входить до складу рекультиванту композиційного Trevitan® та чи є він зареєстрованим?

При загальному позитивному враженні щодо форми викладення та осмислення результатів, до роботи є кілька зауважень.

Стор. 59. Чи означають біологічні та аналітичні повторення у реченні: «Показники ІФХ для однієї особини обчислювали як середньоарифметичне із 5 значень, а по вибірці – зазначали посередні дані з 10-х рослин та додавали стандартні відхилення».

Стор. 68. У реченні «Окрім цього, рівень *Carot* в усіх вікових групах виду *C. cirsioides* в 1-2,5 рази виявився меншим...» ймовірно пропущені десяті у першого числа.

Стор. 80. Є посилання на зміни показників нефотохімічного розсіювання світла (ϕNO) та потоку фотосинтетичних електронів (LEF) на рис. 3.4, проте дані щодо їх величин на цьому рисунку відсутні.

Стор. 91. Невдалий вираз: «Встановлено, що метод ІФХ є дієвим інструментом для дослідження функціонування ФСА рослин роду *Carlina*». Метод є загальноновизнаним, тому не варто робити такий висновок.

Стор. 105, 107. У тексті хлорофіл позначений як Chl, а на рис. 4.6 та 4.7 як Cl.

Стор. 105. Дуже спірне твердження: «З літературних джерел відомо, що вміст хлорофілу *a* може визначати продуктивність рослин».

Стор. 113. Не у всіх колонках табл. 4.1 витримано принцип однакової розмірності середніх значень та їх похибок ($24,38 \pm 4,6$), в однієї колонці цієї таблиці розмірність величин, які вимірюються у десятках тисяч, надана з десятими, що немає сенсу ($17542, 3 \pm 1949,3$).

Стор. 114-115. Дещо незручно порівнювати зміни показників індукції флюоресценції хлорофілу *a* у рослинах 2-х видів, коли один для одного виду це надано у табличному вигляді (табл. 4.2), для іншого – на рисунку (рис. 4.11)

Стор. 121. Декілька серій експериментів, дуже багато варіантів, тому у підписах до рис. краще не давати 1 варіант, 2 варіант, 3 варіант, а розшифрувати ці варіанти (наприклад для рис. 4.13).

Стор. 140. Не завжди вдало сформульовані висновки. Наприклад: у першому навряд чи можна вважати висновком речення «Визначено вміст та співвідношення пігментів ФСА відкасників з природних місць росту»; у другому – «Досліджено ключові параметри індукції флуоресценції хлорофілу *a* рослин видів роду *Carlina in situ*».

У тексті підрозділу 4.4.1 (с. 121–125) немає посилань на рисунки; у списку літературі не завжди витримано однаковий стиль оформлення; у тексті зустрічаються стилістичні та граматичні помилки.

Як побажання:

На стор. 109. наведено літературні дані, що спектри світла можуть змінювати гормональний статус внаслідок чого відбуваються й морфологічні зміни листків, зокрема потоншення або потовщення листових пластинок. Тому в подальшому можна порівняти не тільки вміст хлорофілів, але й його валову кількість у листках.

Наведені зауваження не є принциповими і не знижують наукової цінності та загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

Загальна оцінка роботи і висновок. У цілому, за актуальністю, обсягом експериментального матеріалу, новизною, науковим і практичним значенням, 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 за спеціальністю 091 Біологія, є завершеною самостійною науковою працею, яке відповідає вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій» 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 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 спеціальності 091 – Біологія.

Офіційний опонент:

Прядкіна Галина Олексіївна
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
провідний науковий співробітник
відділу генетичного поліпшення рослин
Інституту фізіології рослин і генетики
НАН України

 Галина ПРЯДКІНА

10 липня 2025 р.

Лідрес Прядкіної Т.О. поспідаю
Нагаляючись відділу кадрів

