

До разової спеціалізованої вченої ради
Інституту клітинної біології та генетичної інженерії
вул. Академіка Заболотного, 148, м. Київ, 03143

РЕЦЕНЗІЯ

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

Симоненка Юрія Вікторовича

на дисертаційну роботу Хоми Юлії Андріївни на тему:

**«БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ СТІЙКОСТІ ШВИДКОРОСЛИХ
ДЕРЕВ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ ДЛЯ СТАЛОГО ВИРОБНИЦТВА БІОПАЛИВА»**

подану на здобуття ступеня доктора філософії
за спеціальністю 091 Біологія та біохімія
галузь 09 Біологія

Актуальність теми дисертаційного дослідження.

Швидкорослі дерева тополі і верби, що належать до родини Salicaceae, є цінними рослинами, які використовуються у різних сферах діяльності. Протягом останніх років створення короткоротаційних плантацій цих швидкорослих дерев для виробництва біопалива стає все більш актуальним враховуючи залежність нашої держави від традиційних видів палива. Проте, із-за сучасної зміни клімату, а також того, що плантації даних дерев створюють на непридатних для сільського господарства землях, існує необхідність щодо аналізу чутливості даних дерев до дії абіотичних стресорів, таких як посуха та засолення. Тому, дисертаційна робота Хоми Ю.А., на тему «Біотехнологічні підходи дослідження стійкості швидкорослих дерев до дії абіотичних стресів для сталого виробництва біопалива», що полягає у необхідності вивченні стійкості швидкорослих дерев тополь і верб до дії водного дефіциту та засолення, є дуже актуальною в наш час, оскільки завдяки даним дослідженням можна підібрати найбільш стійкі до дії абіотичних стресорів клони, а це в свою чергу дозволить стабільно отримувати біомасу швидкорослих дерев для виготовлення твердого біопалива і уникнути непередбачуваних економічних втрат. Крім цього, створення короткоротаційних плантацій швидкорослих дерев для виробництва біопалива матиме не тільки економічні переваги, а також і екологічні, що дуже актуально в наш час.

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

Дисертаційна робота Хоми Ю. складає 156 сторінок друкованого тексту. В даній роботі чітко визначені мета, завдання та постановка експериментів.

Дисертаційна робота складається з анотації та ключових слів, які написані українською та англійською мовами, списку публікацій здобувача за темою дисертації, переліку умовних скорочень і змісту роботи. Робота містить такі розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати дослідження та їх обговорення», «Узагальнення результатів», «Висновки», «Список використаних джерел» та «Додатки». Робота проілюстрована 30 рисунками та 11 таблицями.

У першому розділі **«Огляд літератури»** здобувачка Юлія Хома описує сучасний стан відновлюваної енергетики та актуальність використання біомаси швидкорослих дерев тополь і верб та виробництва твердого біопалива, зокрема пелет. В даному розділі також описано про використання біотехнологічних підходів, зокрема таких, як введення в культуру *in vitro*, мікроклонального розмноження швидкорослих дерев у культурі *in vitro*, дослідження чутливості тополь до дії засолення поживного середовища хлоридом натрію *in vitro* для отримання якісного посадкового матеріалу.

У другому розділі **«Матеріали і методи»** здобувачка детально надає опис об'єктів, матеріалів та методів, які використовувалися для проведення необхідних досліджень.

У третьому розділі **«Результати досліджень та їх обговорення»** Ю. Хома представила отримані результати досліджень. Зокрема, було введено в культуру *in vitro* клони тополь 'Новоберлінська-3' та 'Волосистоплідна', а також проведено непряму регенерацію. Вищу ефективність регенерації виявлено у тополі 'Новоберлінської-3', де відсоток регенерації становив 92,3% з листових і 90% – з черешкових експлантів, порівняно з тополею 'Волосистоплідною', де відсоток регенерації становив 50% – як із листових, так із черешкових експлантів.

Проаналізовано вплив водного дефіциту на ростові показники у 9 клонів швидкорослих дерев тополі та верби і показано, що найбільш чутливими до дії водного дефіциту – 25% зволоження від контролю, виявилися клони верби 'Житомирська-1', 'Печальна' та клони тополі 'Гулівер' і 'Новоберлінська-3', тоді як тополі 'Волосистоплідна' і 'Слава України', а також 'Канадська х Бальзамічна' та 'Стрілоподібна' проявили найбільшу толерантність до посушливих умов.

Також, проведено аналіз фенології бруньок у швидкорослих дерев тополь і верб в умовах відкритого та закритого ґрунту, а також за дії водного дефіциту, і представлено, що на дослідній ділянці швидше розкривання бруньок було у верб ніж у тополь. Проте в умовах закритого ґрунту швидше розкривання бруньок відбувалося у тополь. Найшвидше розкривання бруньок як за нормальних умов, так і за дії водного дефіциту спостерігали у клонів тополь 'Гулівер' та 'Новоберлінська-3'.

Проаналізовано вплив засолення хлоридом натрію в умовах культури *in vitro* на виживаність та ростові параметри тополі клонів 'Новоберлінська-7', 'INRA 353-38' та верби клону 'Житомирська-1', і виявлено, що найбільше

пригнічення росту під дією засолення було у верби клону 'Житомирська-1' порівняно із тополями.

Досліджено вплив довго- та короткотривалої дії водного дефіциту на вміст вільного проліну у клонів тополь 'Слава України', 'Гулівер', 'Стрілоподібна' та у верби клону 'Печальна'. Показано, що вміст вільного проліну за дії довготривалого впливу водного дефіциту не залежав від інтенсивності дії стресу, тоді як за дії короткочасного впливу водного дефіциту вміст вільного проліну зростав в залежності від інтенсивності стресу. Проаналізовано вплив засолення хлоридом натрію в умовах культури *in vitro* на вміст вільного проліну в тополі 'Новоберлінська-7' та у верби 'Житомирська-1', і виявлено, що найвищий вміст вільного проліну був у верби 'Житомирська-1'.

Виявлено відмінності у експресії генів аквапорину *AQUA1* та *DREB68* за дії водного дефіциту в тополі клонів 'Гулівер', 'Слава України' та у верби 'Печальна'. В даному дослідженні авторка припускає, що відмінність у відповіді різних клонів на однакові стресові фактори вказує на наявність відмінностей у відповіді на стрес у різних генотипів рослин.

Виготовлено пелети із деревини осики звичайної та із тополі 'Стрілоподібна' із додаванням водного розчину гліцерину та проаналізовано фізичні властивості в залежності від додавання гліцерину.

Результати досліджень показали, що абіотичні стресори, такі як водний дефіцит та засолення, негативно впливали на ріст і розвиток швидкорослих дерев, а також призводили і до загибелі рослин. Найбільш чутливим до дії посухи та засолення виявився клон верби 'Житомирська-1', а клони тополь 'Слава України', 'Стрілоподібна' та 'Волосистоплідна' є найбільш перспективними для вирощування на короткоротаційних біоенергетичних плантаціях, які створюватимуть на посушливих чи засолених ґрунтах. Вважаю, що дисертаційна робота Хоми Юлії виконана на достатньо високому рівні, має наукову новизну та перспективне практичне значення.

В рецензованій роботі є певні недоліки та дискусійні питання. Зокрема, назва роботи «Біотехнологічні підходи...», але в роботі висвітлюються не тільки біотехнологічні підходи, але й фізіологічні, фенологічні і т.д. Бажано при першому згадуванні назв рослин використовувати латину (тополі (*Populus*) та верби (*Salix*)) або українську назву (рослини *Quercus robur* L., стр. 40). При першому згадуванні назви генів, фітогормонів, середовищ їх необхідно розшифровувати (гени – *AQUA1* та *DREB68*, БАП, ІМК, MES, MS). Можливо, при першому згадуванні в анотації необхідно вказати функціонал цих генів, а не всередині роботи (стр. 46) (Під час стрес-реакції та адаптації до різноманітних абіотичних стресів активуються гени, пов'язані зі стресом. Зокрема, важливу роль у цих процесах відіграють гени синтезу білків аквапоринів (*AQUA1*, *AQUA2*) та гени синтезу білків DREB (Dehydration responsive element binding), що мають вирішальну роль у реакції рослин на абіотичні стреси [Ariani et al., 2019; Konzen et al., 2019]). Необхідно вказувати де це можливо довірчі інтервали, середнє значення або стандартну похибку середнього. Щодо завдань: можливо краще не підібрати протокол введення в культуру, а ввести в культуру конкретні клони; визначити рівні експресії генів у клонів тополь і верб, які залучені у відповідь на дію водного дефіциту

(необхідно конкретизувати гени). Якщо згадуються співробітники, то перед прізвищем зазвичай вказується вчене звання та науковий ступінь, а не посада. Біомаса не є енергією (до таких видів енергії відносять біомасу – стр. 33, 34, біомаса як джерело біопалива). Рослини-регенеранти, одержані з експлантів листків і черешків, були отримані протягом двох тижнів в обох клонах тополі з різною ефективністю регенерації (за два тижні неможливо отримати повноцінні регенеранти, а тільки початок регенерації).

Є ряд орфографічних помилок (наприклад, стр. 64), пропущених букв (стр. 3), пропущених ком (стр. 3, 49, 66, 72), крапок (стр. 86), лишніх ком (стр. 6, 40, 45, 72, 77, 83, 85, 98, 113), окремих слів (калориметричний аналіз, а не колориметричний аналіз (стр. 62)). Є ряд невдалих фраз та виразів. Наприклад, тренду (тренди відносної експресії генів), нафталіноцтова кислота замість нафтілоцтової, емболія (стр. 47). Рослинний матеріал було відібрано. В одному випадку використовують експланти, в іншому – експлантати (бажано уніфікувати, стр. 55), 200 пар основ, прямо пропорційно (окремо пишеться). Деякі висновки досить довгі. Бажано також привести доі в списку використаної літератури та в списку публікацій. Однак ці недоліки не є суттєвими. Вони не впливають на загальний високий науковий рівень дисертації. Принципових зауважень до рецензованої роботи немає.

По роботі виникло декілька питань.

1. Розроблено спосіб для покращення фізичних властивостей пелет із деревини осики звичайної та клону тополі. Чому нема пелет інших клонів тополі та верби?

2. Найбільша площа посушливих земель цієї категорії розташована у Херсонській області – 15,7 тис. га, а решта земель – у Донецькій, Запорізькій, Луганській та Сумській областях. Чи дійсно Сумська область входить до посушливих районів?

3. В роботі використовували тополю (*Populus trichocarpa* Torr. Et Gray) – клон 'Волосистоплідна'. Але відомо, що тополя бальзамічна (*Populus trichocarpa*, також відома як тополя волосистоплода, каліфорнійська або чорна) – вид дерев із західної частини Північної Америки. Так 'Волосистоплідна' - це окремий клон чи вид?

4. Чому в різні роки висаджували різні клони верби та тополі?

5. Для чого розробляли методику регенерації?



6. Чи обґрунтовували ви економічну ефективність та економічну доцільність використання гліцерину, якщо його ціна становить 100 гр/л?

В загальному, не зважаючи на викладені недоліки, вважаю, що дисертаційна робота Хоми Юлії Андріївни на тему «Біотехнологічні підходи дослідження стійкості швидкорослих дерев до абіотичних стресів для сталого виробництва біопалива» є самостійним завершеним дослідженням, яке має безумовну актуальність, виконане на сучасному науковому рівні, характеризується новизною одержаних експериментальних даних, достовірністю висновків та практичною цінністю. Результати роботи повністю опубліковані в наукових виданнях, які відповідають вимогам для здобуття наукового ступеня. За обсягом та рівнем виконаних досліджень, їх ясним і чітким викладенням, оформленням і ілюстрованістю дисертаційна робота

повністю відповідає вимогам ПОРЯДКУ присудження ступеня доктора філософії, затвердженого Постановою Кабінету міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 з урахуванням змін, затверджених постановою Кабінету Міністрів України від 19 травня 2023 р. № 502, а її авторка - Хома Юлія Андріївна - заслуговує позитивної оцінки та присудження їй наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія та біохімія.

Рецензент

старший науковий співробітник
відділу генетичної інженерії
Інституту клітинної біології
та генетичної інженерії НАН України,
к. б. н., ст. досл.



Юрій СИМОНЕНКО

Підпис Симоненко Ю.В.
Затверджую Евдокімова Т.В.
Відділ кадрів [signature]