

До разової спеціалізованої вченої ради

Інституту клітинної біології та генетичної інженерії

вул. Академіка Заболотного, 148, м. Київ, 03143

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, члена-кореспондента НАН України, професора, завідувача відділу генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики НАН України **КУНАХА Віктора Анатолійовича** на дисертаційну роботу **ХОМИ Юлії Андріївни «Біотехнологічні підходи дослідження стійкості швидкорослих дерев до абіотичних стресів для сталого виробництва біопалива»**, подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія

Актуальність теми досліджень. Тополі (*Populus*) та верби (*Salix*) відіграють важливу роль у забезпеченні потреб людини у деревині. Вирощування цих швидкорослих дерев має також й екологічне значення, зокрема це депонування вуглецю, вивільнення значної кількості кисню, покращення властивостей ґрунтів, вітро- та водозахисні функції, забезпечення біорізноманіття тощо. Широкого розповсюдження набуває використання біомаси швидкорослих дерев для виробництва біопалива. Для цього створюються спеціальні біоенергетичні плантації і використання біомаси швидкорослих дерев тополь і верб є одним із важливих напрямків розвитку галузі відновлюваних джерел енергії.

Дисертаційна робота Хоми Юлії Андріївни **«Біотехнологічні підходи дослідження стійкості швидкорослих дерев до абіотичних стресів для сталого виробництва біопалива»** присвячена дослідженню біотехнологічних підходів, таких як введення в культуру *in vitro*, регенерації, мікроклонального розмноження швидкорослих клонів тополь і верб, а також вивченню механізмів

стійкості цих дерев до абіотичних стресорів, що сприятимуть виявленню найбільш толерантних клонів та отриманню високої продуктивності біомаси для сталого виробництва біопалива. Робота є актуальною і практично значимою, оскільки надає можливість використовувати розроблені біотехнологічні підходи для створення стійких до засолення та посухи насаджень швидкорослих дерев тополь і верб, а це, в свою чергу, дозволить отримувати стабільну продуктивність біомаси для виробництва твердого біопалива, зокрема пелет.

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

Дисертаційна робота Хоми Ю.А. виконувалася у відділі біофізики і радіобіології Інституту клітинної біології і генетичної інженерії НАН України в рамках бюджетних тем та проектів за програмою «Біопаливні ресурси та біоенергетика» (2018-2019 та 2020-2021 рр.), державні реєстраційні номери 0118U005379 та 0120U000278), «Вплив стресових чинників на синтез білків з пріонними властивостями у рослин» (державний реєстраційний номер 0120U104870), де дисертантка була виконавицею окремих розділів за планом науково-дослідних робіт.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у вивченні впливу посухи та засолення на різні клони швидкорослих дерев тополь і верб переважно української селекції, а саме вперше здійснено їх введення в культуру *in vitro*, підібрано протокол регенерації та оптимальний склад живильних середовищ для подальшого культивування та мікроклонального розмноження високопродуктивних клонів тополь 'Новоберлінська-3' та 'Волосистоплідна', які є цінними для виробництва біомаси для біоенергетичної галузі. Уперше досліджено ростові параметри, вміст вільного проліну та визначено рівні експресії генів (*AQUA1* та *DREB68*) у вивчених клонів тополь і верб за дії водного дефіциту. Уперше проаналізовано фенологію розкривання бруньок швидкорослих дерев тополь і верб в умовах відкритого та закритого ґрунту, а також за дії водного дефіциту. Досліджено вплив засолення живильного середовища хлоридом натрію в культурі *in vitro* на ростові параметри, фізіологічний стан та вміст вільного проліну у вивчених клонів тополь та верби.

Уперше розроблено спосіб для покращення фізичних властивостей пелет із деревини осики звичайної та клону тополі ‘Стрілоподібна’ шляхом додавання водного розчину гліцерину перед пелетуванням.

Практичне значення одержаних результатів.

Дисертаційна робота має практичне значення, впровадження отриманих результатів дослідження із застосування біотехнологічних підходів дозволить одержувати стабільну продуктивність біомаси для потреб відновлюваної енергетики, що дозволить знизити залежність від традиційних джерел енергії, а також покращити як економічний, так і екологічний стан в державі. Отримані результати досліджень можна використовувати також у навчальних та наукових закладах при викладанні таких дисциплін як біотехнологія, біохімія, фізіологія та генетика рослин, а також біоенергетика.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 20 наукових праць, з них 5 статей, дві з яких індексуються у наукометричних базах даних «Scopus» і «Web of Science», три статті у виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України, 13 тез міжнародних та всеукраїнських науково-практичних конференцій, авторкою отримано також 2 патенти України.

Структура та зміст дисертації, її завершеність та відповідність встановленим вимогам. Дисертаційна робота Хоми Ю. А. складається із 156 сторінок машинописного тексту. У роботі чітко визначені мета, завдання та постановка експериментів. Дисертаційна робота розпочинається з анотації та ключових слів, які написані державною та англійською мовами, списку публікацій здобувача за темою дисертації, переліку умовних скорочень і змісту роботи. Робота містить наступні розділи: “Вступ”, “Огляд літератури”, “Матеріали та методи досліджень”, “Результати дослідження та їх обговорення”, “Узагальнення результатів”, “Висновки”, а також “Список використаних джерел” до кожного з розділів та “Додатки”. Робота проілюстрована 30 рисунками та 11 таблицями, а список використаних джерел складається із 193 найменувань.

Вступ дисертаційної роботи написаний згідно чинних вимог. Тут чітко обґрунтовано актуальність даної роботи, сформульовано мету та завдання роботи, описано основні положення наукової новизни і практичного значення отриманих результатів.

У розділі 1 «Огляд літератури» розглянуто особливості та перспективи використання біотехнологічних підходів, таких як введення в культуру *in vitro* та мікроклональне розмноження швидкорослих дерев для отримання значної кількості асептичного матеріалу за невеликий проміжок часу. Обґрунтовано актуальність використання фенологічних досліджень розкривання бруньок як важливого фактора для визначення тривалості вегетативного періоду рослин. Проаналізовано основні механізми стійкості тополь і верб до дії абіотичних факторів, що є важливим аспектом при створенні біоенергетичних плантацій. У цілому, дисертанткою проаналізовано значний обсяг сучасної наукової літератури, як вітчизняних так і іноземних джерел, що надало їй можливість підняти низку ще не вивчених питань, яким і присвячено дану дисертаційну роботу

У розділі 2 «Матеріали і методи дослідження» описано досліджені клони тополь і верб, реактиви та методи досліджень, серед яких - протоколи введення в культуру, регенерації та мікроклонального розмноження швидкорослих дерев у культурі *in vitro*. Представлено схеми проведення експериментів із вивчення впливу водного дефіциту на різні клони тополь і верб. Описано методики вивчення фенології розкривання бруньок у вивчених тополь і верб як у відкритому, так і у закритому ґрунті, а також за дії водного дефіциту. Представлено методику визначення чутливості вивчених дерев до засолення хлоридом натрію в умовах культури *in vitro*. Наведено детальний опис методик визначення вмісту вільного проліну та змін експресії генів, які задіяні у відповідь на дію водного дефіциту та описано умови реакції зворотної транскрипції, а також запропоновано методику виготовлення та покращення якості фізичних властивостей пелет. Описано також методи статистичної обробки результатів.

У розділі 3 «Результати дослідження та їх обговорення» представлено, зокрема, результати дослідів із введення в культуру *in vitro* та регенерації двох клонів тополь зі стеблових, листових та черешкових експлантів та вивчення впливу складу живильного середовища на їх подальше вирощування. Виявлена різна ефективність регенерації з різних експлантів у різних клонів на різних за складом живильних середовищах. відрізнявся. Проаналізовано вплив водного дефіциту на різні клони тополь і верб і встановлено, що найстійкішими до дії водного дефіциту є тополі ‘Волосистоплідна’ і ‘Слава України’.

Далі наведено і проаналізовано результати аналізу розкривання бруньок тополь і верб в умовах відкритого та закритого ґрунту, а також за дії водного дефіциту. Показано, що існує відмінність у термінах початку розкривання бруньок між вивченими клонами. Найшвидше розкривання бруньок спостерігали у клонів тополь ‘Гулівер’ та ‘Новоберлінська-3’. Найбільше дефіцит води пригнічував розкривання бруньок у клонів тополь ‘Волосистоплідна’, ‘Канадська × Бальзамічна’, і ‘Стрілоподібна’. Найменший вплив водного дефіциту на розкривання бруньок виявлено у клонів тополь ‘Гулівер’, ‘Слава України’ та ‘Новоберлінська-3’.

Аналіз чутливості швидкорослих дерев тополь і верб до засолення хлоридом натрію в умовах культури *in vitro* показав, що найменш стійкою до дії засолення виявилась верба клону ‘Житомирська-1’, тоді як клон гібридної осики з нижчими ростовими показниками, навпаки, характеризувався вищою солестійкістю. Авторка припускає, що клони з повільнішим ростом є менш вибагливими до умов засолення.

Представлено результати вивчення впливу водного дефіциту, як довготривалого, так і короткотривалого, а також засолення на вміст вільного проліну у листках клонів тополь і верб. За відсутності поливу протягом 10 днів у вивчених трьох клонів спостерігали значне збільшення вмісту вільного проліну. Враховуючи загально прийняті гіпотези, про те, що вміст вільного проліну є однією з ознак толерантності до посухи, авторка, припускає, що клон тополі ‘Стрілоподібна’ є найбільш стійким серед вивчених клонів, а зростання вмісту

вільного проліну за дії стресового чинника є відносно короткотривалою реакцією.

Дослідження експресії генів *AQUA1* та *DREB68* за дії водного дефіциту в листках клонів тополь та верби показали, що ген *AQUA1* мав тенденцію до підвищення активності. Ген *DREB68* виявляв зміну тренду зі зменшення при 25% та 75% зволоження до стрімкого підвищення за 50% зволоження порівняно з контролем. Проте виявлено і відмінності у відповіді різних клонів на однакові стресові фактори, що, на думку авторки, вказує на наявність генетичної компоненти у відповіді на стрес у різних генотипів рослин.

Представлено також результати вивчення фізичних властивостей пелет, виготовлених за власною, вперше розробленою авторкою методикою з додаванням 5%-го водного розчину гліцерину до біомаси швидкорослих дерев, і показано, що додавання даної добавки при пелетуванні мали набагато кращі фізичні властивості порівняно з контролем. Це в свою чергу свідчить про те, що така методика є ефективною і дозволяє отримати біопаливо (пелети) високої якості, які відповідають загальноєвропейським стандартам.

Текст дисертації завершується узагальненням результатів із переліком висновків, які є чітко обґрунтованими та відповідають меті та завданням даної роботи.

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, а також дотримано вимоги норм законодавства про авторське право, а це, в свою чергу, свідчить про те, що у тексті дисертаційної роботи авторки не має порушень вимог академічної доброчесності. В усіх публікаціях дисертантки у співавторстві зазначено її особистий внесок.

Пропозиції, питання та зауваження до дисертації.

Щодо оформлення дисертації: матеріал дисертаційної роботи викладено чітко і логічно, науковою мовою та проілюстровано якісними рисунками. Значних зауважень до роботи немає, в основному вони носять технічний характер.

Питання до дисертаційної роботи.

1. Чому дослідження впливу вивчених абіотичних стресорів проводили саме на цих 9-ти обраних клонах, чим керувалися при виборі рослин та параметрів оцінки?
2. Чому при виготовленні пелет як добавку використовували саме гліцерин і чому пелети виготовляли лише із деревини клону тополі 'Стрілоподібна'? (с. 6);
3. Як авторка може обґрунтувати застосування саме тополь, порівняно з іншими культурами, для альтернативної енергетики в Україні?

Зауваження до дисертаційної роботи:

1. В анотації наведено занадто багато ключових слів;
2. У змісті пропущена назва заголовку «РОЗДІЛ 3» (с.22);
3. Назви клонів швидкорослих дерев на рис.24 підписано латиницею (с. 109);
4. По всьому тексту дисертації автор вживає як правильний термін «живильні середовища», так і сумнівний для української мови в контексті даної дисертації термін «поживні середовища»;
5. Є неточності при викладенні авторських публікацій, зокрема, деякі повторюються двічі. Інші невірно пронумеровані, наприклад, у публікаціях авторки до розділів дисертацій не представлено публікацію №49 із списку літератури, яка є її публікацією, натомість зазначено №43, яка не є її публікацією.

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 Хоми Юлії Андріївни «Біотехнологічні підходи дослідження стійкості швидкорослих дерев до абіотичних стресів для сталого виробництва біопалива», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія та біохімія, 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 – ХОМА Юлія Андріївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія.

Офіційний опонент:

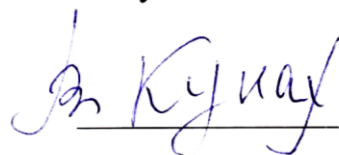
доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НАН України,

завідувач відділу генетики клітинних популяцій

Інституту молекулярної біології

і генетики НАН України



Віктор КУНАХ

