

## РІШЕННЯ СПЕЦІАЛІЗОВАНОЇ ВЧЕНОЇ РАДИ ПРО ПРИСУДЖЕННЯ СТУПЕНЯ ДОКТОРА ФІЛОСОФІЇ

Спеціалізована вчена рада ДФ 35.051.087 Львівського національного університету імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України, м. Львів, прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» на підставі прилюдного захисту дисертації «Фізіологічні аспекти стійкості рослин *Salix viminalis* L. в умовах техногенного забруднення» за спеціальністю 091 «Біологія» 27 січня 2023 року.

**Фецюх Анастасія Богданівна**, 28.03.1995 року народження, громадянка України, освіта повна вища. Народилась у м. Львів. У 2018 році закінчила Львівський національний університет імені Івана Франка, здобула ступінь магістра з відзнакою за спеціальністю «Біологія» та отримала професійну кваліфікацію «Магістр біології, викладач».

З 09.2018 р. і до цього часу навчається в аспірантурі на кафедрі фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка (денна форма навчання).

Дисертацію виконано на кафедрі фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України, м. Львів, та на кафедрі мікології лісу та патології рослин Шведського університету сільськогосподарських наук (м. Уппсала, Швеція).

*Науковий керівник:* **Терек Ольга Іштванівна**, доктор біологічних наук, професор, професор кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України, м. Львів.

Здобувачка має 19 наукових публікацій за темою дисертації, з них 1 стаття у міжнародному виданні, що входить до наукометричної бази Scopus, 5 статей у наукових фахових виданнях України, 0 монографій:

1. Fetsiukh, A., Bunio, L., Patsula, O., Timmusk, S., & Terek, O. (2022). Content of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in *Salix viminalis* L. grown on the Stebnyk tailing. *Acta Agrobotanica*, 75, 1–13. <https://doi.org/10.5586/aa.752> (Scopus).
2. Фецюх, А. Б., Буньо, Л. В., Пацула, О. І., & Терек, О. І. (2020). Вплив засолення на склад білків і вміст проліну в органах рослин *Salix viminalis* L. *Фізіологія рослин і генетика*, 52(5), 412–421.
3. Фецюх, А., Буньо, Л., Пацула, О., & Терек, О. (2019). Накопичення важких металів рослинами *S. viminalis* за росту на субстраті з Стебницького хвостосховища. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, (81), 96–110.

У дискусії взяли участь голова і члени спеціалізованої вченої ради та присутні на захисті фахівці:

1. **Антоняк Галина Леонідівна**, доктор біологічних наук, професор, професор кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка МОН України, без зауважень.

2. **Романюк Наталія Дмитрівна**, кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка МОН України, надала позитивну рецензію із зауваженнями:

1. У другому розділі “Матеріали та методи...”:

1) Загальне побажання опису усіх методик: звертатися до оригінальних статей, а не методичних вказівок. Якщо метод визначення описаний як ДСТУ, то в списку літератури потрібно надати посилання на цей конкретний ДСТУ, як наприклад ДСТУ 4288:2004 (с. 48). Бажано також вказувати назви приладів (водяна баня, спектрофотометр, сонікатор тощо), та їхніх виробників.

2) На жаль, в описі підрозділу 2.5 “Визначення ВМ у субстраті та рослинному матеріалі” допущено помилку в назві приладу та методу: вказано “*атомно-абсорбційної спектрофотометрії на спектрофотометрі СТЭ-1*”, тоді як СТЭ-1 — це за описом виробника — спектрограф, а метод визначення називається атомно-абсорбційна спектрометрія.

3) Враховуючи, що “... впливу іонів кадмію і цинку на різні клони рослин верби було встановлено, що деякі клони були толерантними до цих металів, інші – лише до одного... (Landberg, Greger, 1996). С.81”, доцільно вказувати звідки отримували живці *S. viminalis*, використані для експерименту.

4) Назва підрозділу 2.10 “Хроматографічне розділення низькомолекулярних білків”, вказана помилково, оскільки описує методику отримання витягів низькомолекулярних білків та їх електрофоретичне розділення, на жаль, наважка матеріалу для виділення білків, опис параметрів електрофоретичного розділення, назва приладу, який використовували з цією метою, не наведені. Так само відсутній опис методики аналізу спектрів розділених білків.

2. У розділі “Результати досліджень та їхнє обговорення” частина тверджень авторки в обговоренні спираються лише на дію засолення на рослини верби, тоді як у випадку субстратів Стебницького хвостосховища маємо комплексний вплив і засолення (сульфатного і хлоридного), і важких металів. Зокрема, “В листках дослідних рослин помічено вплив засолення, який проявлявся у зменшенні вмісту білка відносно контролю” (с.110), аналогічно с. твердження “Виявлено достовірне зниження вмісту фенольних сполук відносно контролю, що могло виникнути на фоні адаптації рослин до нових умов зростання, або ж за токсичної дії засолення” (с.115), та підсумки на с.119. В обговоренні: “Згідно із результатами, стебла *S.viminalis* зазнавали найбільшого сольового навантаження в умовах хвостосховища”. Водночас, авторка не враховує впливу важких металів, які теж спричиняють за даними літератури зростання вмісту проліну та інших неензиматичних антиоксидантів. І саме в стеблі зосереджувалися токсичні кадмій і свинець. Таких неточностей вдалося б

уникнути з використанням відповідних статистичних методів досліджень для оцінювання частки впливу кожного з факторів.

Окрім цього, є низка неточностей:

1) с.75 “Результати польових досліджень показали, що найменше води накопичується у стеблах дослідних рослин, на 4 % нижче відносно контролю”. В цьому випадку різниця не достовірна і про це слід вказувати.

2) Як розуміти позначення К+, Д+ в Таблиці 3.3. Вміст ВМ у субстраті хвостосховища м. Стебник (до і після вирощування рослин *S. viminalis*), мг/кг (с.80)? За описом у тексті можна зрозуміти, що це Контроль і Дослід, до і після росту верби, проте у назві таблиці чи примітках потрібно уточнити це. Так, як це зроблено в наступному розділі, табл. 3.5.

3) Неточність у назві Таблиця 3.7. Коефіцієнти безпеки (Кб) ґрунтів Стебницького хвостосховища (с.91). Очевидно, це субстрат або технозем, але не ґрунти.

4) Уточнення щодо назви підрозділу 3.6: “Визначення АСС-поглинаючих ендоефітних бактерій”. Доцільніше використати назву виявлення, оскільки в роботі здійснено саме виявлення здатності бактерій до поглинання АСС.

5) Згідно із даними досліджень (Фещох та ін., 2019), вміст кадмію перевищував ГДК у органах рослин *S. viminalis*, вирощених на субстраті хвостосховища. Відповідно це вказує на високий рівень акумуляції металу рослинами. Враховуючи ці результати, варто взяти до уваги ймовірність зростання вмісту фітохелатинів (роботи О. Vatamaniuk et al.) і білків металотіонеїнів, молекулярна маса яких теж близька до Мг 10, а не концентрувати увагу в обговоренні лише на нмБТШ. Зрештою, твердження, наведене на с.110 “Отримані результати підтверджують значення нмБТШ у запобіганні пошкодження за стресових умов, а також підкреслюють їх участь у рості та розвитку рослин” це лише припущення, оскільки за допомогою використаних дисертанткою методів неможливо ідентифікувати ці білки як БТШ.

6) КФ 1.11.1.7 — за міжнародною класифікацією ензимів — це гваяколпероксидаза, окрім цієї пероксидази в рослин функціонують інші форми цього ензима, зокрема, аспартатпероксидаза, глутатіонпероксидаза тощо. Активність якого ензима визначали у роботі? Загальну пероксидазну активність? Чи гваяколпероксидазну, як вказано в роботі?

та суперечливих тверджень:

- про зменшення доступності елементів “... це може свідчити про те, що ВМ знаходились у субстраті у менш доступній формі для поглинання рослинами” (с. 93-94). Тоді як пояснити той факт, що в органах верби накопичуються значні кількості ВМ?

- С.75: “Вміст води у листках та стеблах 30-ти добових рослин був у межах похибки, а у коренях – більшим на 25 %, порівняно із контролем”. Тоді як на с. 133: “Згідно із отриманими даними, у коренях 30-ти добових *S. viminalis* виявлено зниження вмісту води відносно контролю”.

3. У тексті дисертаційної роботи інколи трапляються орфографічні та механічні помилки, які дещо погіршують сприйняття наукової інформації. Доцільно використовувати однакові назви елементів, уникаючи поєднання в одному абзаці тексту і купрум, і мідь; і ферум, і залізо (с.79, абзац. 2). Проте, ці зауваження дидактичного характеру і помилки можна легко виправити.

4. Розділ “Узагальнення” варто доопрацювати і поєднати в єдину схему отримані результати, які варто представити у вигляді рисунка. В цьому розділі не потрібно багато цитувань, натомість бажано подати власне бачення фізіологічних реакцій верби енергетичної на полікомпонентний вплив техногенного субстрату м. Стебник. А також узагальнити механізми толерантності цього виду, в т.ч. і з застосуванням РГРВ, що уможливають використання *S. viminalis* з метою фіторемедіації в умовах м. Стебника та інших, схожих до цих умов, техногенно забруднених локацій. Підкреслити унікальність цієї роботи, адже таких досліджень не проводили.

5. У “Висновках”, пункт 6 висновків надто довгий, варто лаконічніше його сформулювати, обов’язково врахувавши достовірність різниці між контролем і дослідом, зокрема, це стосується вмісту аскорбінової кислоти: “... у листках та стеблах *S. viminalis* її вміст (АК) є більшим відносно контрольних рослин на 7,7 %...”, на жаль, ця зміна недостовірна щодо контролю.

**3. Джура Наталія Миронівна**, кандидат біологічних, доцент, доцент кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка МОН України, надала позитивну рецензію без зауважень.

**4. Косаківська Ірина Василівна**, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу фітогормонології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, надала позитивний відгук із зауваженнями:

1. Якою була мотивація обрання для досліджень різновікових рослин верби прутovidної? Чи не вплинули різний вік рослин та різні умови вирощування на формулювання узагальнених висновків?

2. Які були умови вирощування живців верби прутovidної в лабораторії: чи був попередньо прожарений субстрат, якими були інтенсивність і періодичність освітлення, температурний режим, вологість ґрунту і повітря? Чому для поливу рослин в лабораторних умовах впродовж 30 діб використовувалась дистильована вода?

3. Які компоненти АОС досліджувались в рослинах верби прутovidної на 30 добу вегетації в лабораторних умовах, а які – на 120 добу в польових умовах? У яких зразках живців верби прутovidної досліджувались компоненти АОС: інокульованих ризосферними бактеріями *Salicornia europea* чи неінокульованих?

4. Дисертантці доцільно було більш детально проаналізувати власні результати про зміни у вмісті фенольних сполук в рослинах верби за умов техногенного навантаження, враховуючи при цьому біологічні особливості цієї рослини і умови її

виращування. При обговоренні власних результатів потрібно було охопити більший масив сучасних літературних джерел, присвячених вивченню впливу засолення та ВМ на вміст фенолів.

5. Оскільки дисертантка проводила визначення неферментативних антиоксидантів у зразках верби, що росла в польових умовах, при обговоренні отриманих результатів потрібно було враховувати не лише вплив засолення або забруднення ВМ, а комплекс інших факторів, зокрема перепади температур, освітлення, вологість ґрунту та повітря, активність ґрунтової мікрофлори, присутність патогенів тощо. Якщо ґрунт для лабораторних досліджень не був стерилізований (а це присутність ґрунтової мікрофлори, яка впливає на ріст і розвиток рослин), були перепади температури або освітлення тощо, тоді і вміст антиоксидантних сполук мав змінюватись у відповідь на ці зовнішні чинники.

6. Потребує уточнення методика визначення білків. На якому приладі проводилось розділення білків і хто автор використаного методу? Якщо це електрофорез за методом Лемлі, потрібно навести посилання та вказати модифікації, які були застосовані. Дисертанткою не вказані режим проведення електрофорезу (години та вольт-амперна характеристика), кількість білку, який наносили у кишеню (це важливо, оскільки нанесення різної кількості білку у кишені чи електрофоретичні лунки унеможливує порівняння), і характеристики маркерів. Ілюстративний матеріал низької якості, відсутня денситограма. Тому, висновок щодо пріоритетності результатів вивчення впливу техногенного забруднення на синтез низькомолекулярних стресових білків можна вважати коректним лише для досліджених рослин і досліджених умов.

7. Цікаві результати були отримані дисертанткою при вивченні ризосферних бактерій *Salix* sp. та їхньої ролі у мобілізації та фітоекстракції мікроелементів на забруднених ґрунтах. Шкода, що поза увагою залишилися розробки вітчизняних фахівців у цій галузі, а також незрозуміла відсутність власних повноцінних публікацій на основі викладеного матеріалу.

8. Для проведення оцінки впливу факторів використовується одно-, дво- або багатофакторний дисперсійний аналіз, який дисертанткою не був проведений. З представлених в роботі результатів не зрозуміло, який з факторів техногенного забруднення (засолення або ВМ) найбільше впливав на морфометричні та фізіологічні показники верби прутувидної в лабораторних і польових дослідженнях. Статистично не показано ступінь впливу факторів техногенного забруднення, нажаль не встановлені кореляційні зв'язки між морфометричними та фізіологічними показниками рослин верби прутувидної і засоленістю ґрунту та забрудненням ВМ. Основні статистичні методи, використані в роботі, носять описовий характер аналізу даних. Використання дисперсійного та кореляційного аналізів значно б доповнило висновки отриманих результатів.

**5. Колупаєв Юрій Євгенович**, доктор біологічних наук, професор, завідувач лабораторії біохімії рослин Інституту рослинництва імені Ю.Я. Юр'єва НААН України, надав позитивний відгук із зауваженнями:

1. Дизайн експериментів описано неповно. Зокрема, неясно, який саме субстрат для вирощування рослин використовувався в контрольних варіантах у лабораторних і польових дослідах. На с. 47 зазначається: «для контролю обрано місця відновленого біогеоценозу», у чому полягало відновлення не ясно. Також варто було б хоча б узагальнено вказати у розділі 2, чим принципово відрізнялися контрольні і дослідні варіанти, дані про хімічний склад субстратів наводяться, але вони розпорошені у різних таблицях дисертації, що ускладнює сприйняття. Є й інші незрозумілі моменти в організації польового дослідження: чи проводився він протягом одного року, чи повторювався в різні роки, в які саме роки? Не зайвим було хоча б згадати погодні умови в період проведення експериментів. Також не описано, як саме додавали у відповідні варіанти нативні ризосферні бактерії *S. europaea*.

2. Умови лабораторного експерименту також описано неповно, зокрема, не вказані світловий (освітленість, довжина дня) та температурний режими вирощування рослин.

3. Не обгрунтовано, чому саме відбір зразків рослин для аналізу в польових дослідах проводили на 120-у добу, а в лабораторних на 30-у? І, головне, не ясно, чи достатньо одноразового відбору проб для оцінки таких динамічних показників, як активність антиоксидантних ферментів, вміст низькомолекулярних антиоксидантів, осмолітів, стресових білків? Ці показники на різних фазах адаптації рослин до росту в стресових умовах можуть змінюватися. Крім того, вони залежать від фази розвитку рослин, а у дослідних рослин ріст помітно пригнічувався.

4. До вибраних для досліджень показників функціонування антиоксидантної системи не потрапили супероксиддисмутаза (ключовий антиоксидантний фермент, єдиний ензим, що знешкоджує радикальну АФК – супероксидний аніон-радикал), а також вміст відновленого й окисненого глутатіону – важливий показник, що характеризує окиснювально-відновну рівновагу.

5. Викликають сумнів величини вмісту білка в органах 30-ти добових рослин *S. viminalis*, вони становлять лише 1-2 мг/г сирової речовини. Виникає питання про повноту вилучення білків або ж про коректність розрахунків. В 7 опису методики немає посилань на вибрані умови екстрагування білків. Не виключено, що вилучення білків з наважки ацетоном з подальшим розчиненням у фосфатному буфері було недостатнім для виявлення повного вмісту білків. Якщо ж завдання полягало у вилученні певної групи білків, це необхідно було відзначити і обгрунтувати вибраний спосіб.

6. Дуже суперечливе враження справляють результати дослідження електрофоретичного спектра низькомолекулярних білків *S. viminalis* (с. 107). Низька якість електрофореграми, чорно-біле зображення змушують уважно читати розділ з описаними методами. А там в п. 2.10 (с. 55) взагалі пишеться про «Хроматографічне розділення низькомолекулярних білків». При цьому з опису неможливо зрозуміти,

яким методом проводився аналіз, тому що про розділення білків після нанесення зразків на 12% поліакриламідний гель жодного слова! Посилання наприкінці тексту наведено на дуже старе джерело (Павлинова, 1971) і незрозуміло, якої саме частини методики воно стосується – екстракції, розділення, забарвлення чи всього аналізу? Не додає ясності і стаття дисертантки, в якій опубліковано цю частину результатів досліджень (Фецюх А.Б. та ін. Фізіологія рослин і генетика. 2020. Т. 52, № 5. С. 412-421), там взагалі не названий метод розділення білків, а методика «описана» так: «Вміст білка в пробі визначали за калібрувальним графіком, вміст низькомолекулярних білків — за методикою Павлинової [12] із додаванням буфера Лемлі, який містив меркаптоетанол...». Можна лише припускати, що використовувався все ж електрофорез в ПААГ. Зважаючи на такі серйозні методичні огріхи, твердженню про те, що «Вперше встановлено наявність низькомолекулярних стресових білків (8 – 30 кДа) у органах *S. viminalis* та показано їх участь у адаптаційних процесах *S. viminalis* до стресових умов Стебницького хвостосховища за лабораторних умов вирощування» (с. 24), яке автор постулює як «наукову новизну», довіряти дуже важко.

7. У роботі низка невдалих або помилкових тверджень, зокрема, «Фенольні сполуки, що містять гідроксильний іон...» (с. 114); «В залежності від виду рослин та від місцевості, на якій вони зростають, біологічна активність фенольних речовин є різною» (с. 114). А скільки фактичних помилок можна знайти у реченні «Біохімічні реакції синтезу вітаміну корелюють з вуглеводневим обміном, оскільки головні шляхи біосинтезу АК [аскорбінової кислоти] відбуваються внаслідок перетворення вуглеводнів, особливо глюкози і галактози, які є головними продуктами фотосинтезу».

8. Дисертантка дуже некритично підходить до вибору джерел для цитування. Третину списку складають джерела кирилицею, серед них багато статей в провінційних журналах і збірниках, підручники, практикуми, 8 методичні вказівки, є навіть посилання на бакалаврську (!) дипломну роботу (джерело під № 93), до того ж з неповним бібліографічним описом.

9. У роботі трапляються технічні огріхи, відсутня уніфікована система оформлення рисунків.

**Загальна оцінка роботи і висновок.** Дисертаційне дослідження **Фецюх Анастасії Богданівни** на тему «Фізіологічні аспекти стійкості рослин *Salix viminalis* L. в умовах техногенного забруднення» є самостійною та ґрунтовною науковою працею, що виконана з дотриманням вимог академічної доброчесності. У ній досліджено полікомпонентний вплив техногенного забруднення Стебницького хвостосховища на фізіологічні аспекти адаптації рослин верби прутувидної, а також фіторе mediaційний потенціал рослин; приділено значну увагу дослідженню угруповань ендofітних бактерій коренів *S. viminalis* за комплексного впливу умов хвостосховища та ризосферних бактерій *Salicornia europaeae* L., які розглядаються дисертанткою як один з прийомів, що може сприяти адаптації рослин до токсикантів.

Результати досліджень, які наведені у дисертаційній роботі та опубліковані у наукових статтях, належать автору і є його науковим доробком. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

За кількістю і рівнем публікацій, апробацією на наукових конференціях дисертація «**Фізіологічні аспекти стійкості рослин *Salix viminalis* L. в умовах техногенного забруднення**» відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (Постанова Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44), а її автор, **Фецюх Анастасія Богданівна**, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

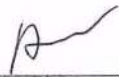
Результати відкритого голосування:

«За» – 5 (п'ять) членів ради,

«Проти» – немає членів ради.

На підставі результатів відкритого голосування спеціалізована вчена рада ДФ 35.051.087 Львівського національного університету імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України, м. Львів, присуджує **Фецюх Анастасії Богданівні** ступінь доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Голова спеціалізованої  
вченої ради  
ДФ 35.051.087



проф. Галина АНТОНЯК

