

До разової спеціалізованої ради ДФ 35.051.098
Львівського національного університету
імені Івана Франка
м. Львів, вул. Університетська, 1

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу

Макар Орисі Орестівни

«Фізіологічні основи продуктивності і якості зерна ярої пшениці»,

яка представлена на здобуття ступеня доктора філософії

з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації. Актуальність теми дисертаційної роботи зумовлена прогнозованим ростом населення Землі, тому людству, для уникнення продовольчої кризи, потрібно істотно збільшити виробництво рослинної продукції. Оскільки пшениця (*Triticum* spp.) є одним з найважливіших продуктів харчування для більше ніж половини населення світу, одночасно з підвищенням врожайності варто звертати увагу і на поживну цінність зерна. Як один із ефективних можливих способів вирішення проблеми якості врожаю розглядають біофортificaцію, яка полягає у зміні властивостей самої рослини, а не в додатковому внесенні мікронутрієнтів у харчові продукти. Біозбагачення сортів пшениці мікроелементами є пріоритетним напрямком досліджень для генетиків і селекціонерів пшениці. Тому, актуальним на сьогодні є вивчення складних фізіологічних механізмів підтримання необхідної концентрації макро-і мікроелементів у рослинних тканинах та створення сортів пшениці з підвищеною здатністю до їх нагромадження в зерні у процесі біофортificaції, яка передбачає використання методів молекулярної селекції та генної інженерії.

У сталому сільському господарстві значно ширше застосовуються мікробіологічні препарати, особливої уваги надають застосуванню ріст-стимулювальних бактерій, які здатні доповнити фенотипову пластичність і адаптаційну здатність рослин. Це надзвичайно перспективна технологія майбутнього для забезпечення якісними харчовими продуктами населення світу: доступними ресурсами і якомога меншим негативним впливом на навколишнє середовище. Збільшення концентрації мікроелементів в зерні пшениці шляхом інокуляції ендofітами різних родів останніми роками заявлено як один із підходів до біофортificaції пшениці. Для низки ендofітних RGPB експериментально показано здатність покращувати умови

мінерального живлення рослин, унаслідок солюбілізування, мобілізації та полегшення переміщення необхідних мікроелементів до різних. Такі мікроорганізми можна використати для збільшення концентрації (біофортificaція) потрібних макро- та мікроелементів у зерні пшениці більш ніж половини населення світу.

У своїй роботі Макар О.О. досліджує цю проблему через вивчення фізіологічних основ формування якісного врожаю зерна різних сортів пшениці ярої вітчизняної селекції за умов польового експерименту за різної біодоступності мікроелементів, із акцентом на посухостійкість і вміст мікроелементів Феруму (Fe), Цинку (Zn), Купруму (Cu); та ідентифікування бактерій-ендофітів у зв'язку із їх потенційним впливом на врожайність та якість зерна. Вибір теми дослідження цілком виправданий, має важливе практичне значення, а актуальність роботи не викликає сумніву.

Зв'язок дисертаційної роботи з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі фізіології та екології рослин біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка в рамках проекту CRDF «Сталі підходи до збільшення врожайності та харчова цінності пшениці» (OISE 16-62755, 2017-18 pp.), в межах співпраці Львівського національного університету імені Івана Франка та Корнельського Університету (США); частково дослідження проводились на базі кафедри біології та біотехнології мікроорганізмів Інституту Біотехнології Люблінського католицького університету імені Івана Павла II (Польща) в межах стипендій Visegrad Scholarship «Bacterial endophyte of the spring wheat varieties» (№ 51810815, 2018-19 pp.) та Visegrad Scholarship «Bacterial endophyte of the spring wheat varieties with different micronutrient acquisition ability» (№ 52010505, 2020-21 pp.). Дисертантка була виконавцем усіх проєктів.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації. Статистичну обробку результатів проведено з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel 2013, Statistica 12 та Past 4.03. Кожен дослід проведено у 3-разовому повторенні і відтворено в залежності від експерименту від 3-5 разів. Біохімічні аналізи виконано у 3-разовому біологічному повторенні, у 3-5 незалежних дослідженнях. Вірогідність статистичної значущості відмінностей між груповими середніми оцінено на основі однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Для перевірки достовірності різниці даних використано t-критерій Стьюдента та односторонній дисперсійний аналіз

тест Тьюкі. Вірогідною вважали різницю при $i \geq 0.95$ (рівень значимості $P < 0.05$).

Загалом дисертаційне дослідження Макар О.О. виконано на достатньо високому методичному рівні з використанням комплексу сучасних методів експериментального дослідження та аналізу даних. Основні наукові положення та висновки, сформульовані в дисертації, логічно випливають із одержаних результатів. Вони відповідають поставленій меті та завданням дослідження.

Основні наукові результати, одержані автором, та їх новизна.

Дисертантка отримала значний обсяг наукових результатів, що характеризуються новизною:

- уперше визначено концентрації мікроелементів Fe, Cu, Zn в прапорцевих листках, колосі, зернівках 24 різних сортів м'якої і твердої пшениці української селекції в польових умовах, на дослідних ділянках, які різнилися за рН, вмістом органічної речовини та концентрацією доступних форм мікроелементів. Оцінено здатність до транслокації мікроелементів для окремих сортів. Відібрано сорти здатні накопичувати високі концентрації мікроелементів в зерні за умов різного рівня біодоступності.
- уперше для дослідних сортів здійснено кореляційний аналіз залежності між врожайністю, її компонентами та здатністю рослин до поглинання та акумуляції в зерні Fe, Cu та Zn.
- уперше виділено бактеріальні ендofіти з зернівок сортів пшениці ярої Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська, які мали різну здатність до нагромадження мікроелементів. Ізольовано, культивовано та ідентифіковано 20 штамів бактеріальних ендofітів, що належать до родів *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Sphingobium*, *Bacillus*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Kocuria* та *Corynebacterium*. Ідентифіковані послідовності внесено в базу GenBank під номерами MT302194 – MT302204, MT312840 та OP445710 – OP445717. Проаналізовано ймовірний вплив окремих ізольованих штамів бактерій-ендofітів на врожайність та концентрацію Fe, Cu та Zn в зерні.
- уперше проведено метагеномний аналіз бактеріальних ендofітів у тканинах коренів та листків проростків пшениці сортів Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська, вирощених в умовах *in vitro*. Ідентифіковано 14 родів бактерій. Доведено існування механізмів вертикальної передачі ендofітних бактерій родів *Staphylococcus*, *Bacillus*.

- уперше ізольовано та ідентифіковано бактеріальні ендосити з зернівок та тканин проростків півчистої полби *T. turgidum* subsp. *dicocum* сорту Голіковська.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження. Теоретична цінність наукових результатів представленої роботи полягає у детальному вивченні взаємовпливу умов вирощування, сортоспецифічності та ендоситної мікрофлори на якість зерна 24 сортів пшениці української селекції. Отримані експериментальні дані доповнюють сучасні знання про поглинання, транспорт та акумуляування Fe, Zn та Cu різними органами пшениці за росту на ґрунтах з низьким вмістом їх біодоступних форм. Виокремлено сорти пшениці з високою здатністю акумуляувати мікроелементи в зерні за низької їх біодоступності в ґрунтах. Використання певних штамів бактеріальних ендоситів може сприяти росту та покращенню мінерального живлення пшениці, що, своєю чергою, покращить харчову цінність зерна. Виділено, ідентифіковано та культивовано штами бактерій-ендоситів, які можуть бути використані для розробки нової групи біопрепаратів – фітопробіотиків. Окрім цього, отримані дані, як і апробовані методики досліджень, можуть використовуватися у науковій роботі та викладанні навчальних дисциплін біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, а також інших установ.

Апробація результатів дисертації, повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій. Основні наукові результати та висновки дисертації пройшли апробацію на міжнародних наукових конференціях та опубліковані у фахових наукових виданнях. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано: 19 наукових праць, серед яких: 2 статті у науковому фаховому виданні України категорії Б, з яких одна стаття проіндексована у наукометричній базі Scopus, 1 стаття у міжнародному виданні, що індексується наукометричною базою Scopus (IF 1,97), та 13 праць – у матеріалах і тезах вітчизняних і міжнародних конференцій.

Сукупність усіх публікацій відображає викладені в дисертації результати дослідження, що відповідає вимогам п. 8, 9 вимог до присудження ступеня доктора філософії «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 від 12 січня 2022 р. № 44.

Відомості про дотримання академічної доброчесності. У наукових публікаціях і дисертаційній роботі Макар Ориси Орестівни на тему «Фізіологічні основи продуктивності і якості зерна ярої пшениці» не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертанткою представленого наукового дослідження. Текст є оригінальним, всі цитати коректно позначені та вказані в списку використаних джерел.

Структура та зміст дисертації. Дисертаційна робота відповідає вимогам щодо оформлення дисертацій, відповідно Постанові Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії».

Дисертацію викладено на 244 сторінках українською мовою, основна частина складає 154 сторінки, проілюстровано 36 рисунками та 14 таблицями. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень, узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел і додатків. Рукопис містить список цитованої літератури, до якого входять 489 найменування.

Дисертаційна робота розпочинається з анотації, ключових слів і списку публікацій за темою дисертації, які написані державною та англійською мовами. В анотації стисло представлені основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення.

У «**Вступі**» (с. 24-31) обґрунтовано актуальність обраної тематики, сформульовано мету та завдання дослідження, визначено наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, описано методи досліджень, анотовано результати дослідження, ступінь їх апробації та публікації, а також особистий внесок здобувача.

У першому розділі дисертації «**Огляд літератури**» (с. 32-56) розглянуто дані наукових публікацій щодо посухи та теплового стресу як фактори зниження врожаю, харчової якості зерна пшениці, зокрема вміст білків, мікроелементів, описано бактеріальні ендофіти та їх роль в покращенні харчової цінності зерна. Цей розділ проілюстровано оригінальною схемою про імовірні механізми ріст-стимулювального впливу ендофітних бактерій на рослину. Проведений аналіз літературних джерел дозволив здобувачці зробити висновок про пріоритетність обраного напрямку наукової роботи.

У другому розділі «**Умови, матеріали та методи досліджень**» (с. 57-72) достатньо детально описано методика досліджень, яка відповідає меті та завданням дисертаційної роботи. Представлена узагальнена інформація про етапи, об'єкти, методи та обсяг досліджень. Описано характеристику досліджуваних сортів пшениці, умови польових досліджень, визначення основних фізико-хімічних показників ґрунту, посівної якості насіння, площі прапорцевого листка, методика визначення основних показників водного режиму рослин, загального вмісту білків у зерні, врожайності зерна та структури врожаю, концентрації мікроелементів в рослинному матеріалі, методика виділення бактеріальних ендоспориїв зі зерна пшениці, бактеріальної ДНК, бактеріальної здатності до синтезу ауксиноподібних сполук (IRCs), отримання асептичної культури проростків пшениці в умовах *in vitro*, екстрагування та секвенування бактеріальної ДНК, отриманої з рослин *in vitro*. Також описано статистичну обробку результатів із використанням програмного забезпечення Microsoft Excel 2013, Statistica 12 та Past 4.03.

У третьому розділі «**Результати досліджень**» (с. 73-159) відображено результати дослідження основних фізико-хімічних характеристик ґрунтів, морфометричних показників рослин пшениці ярої за умов вирощування на ґрунтах із різною біодоступністю мікроелементів, показників водного режиму прапорцевих листків, якісних та кількісних показників структури врожаю пшениці ярої за умов вирощування на ґрунтах із різними фізико-хімічними характеристиками, бактеріальних ендоспориїв пшениці ярої та їх ймовірна роль у засвоєнні Fe, Cu та Zn рослинами за низької біодоступності цих елементів у ґрунті. Отримані результати досліджень висвітлено у таблицях та рисунках.

У четвертому розділі «**Аналіз та узагальнення результатів дослідження**» (с. 160-169) дисертантка аналізує отримані результати, а також дає узагальнену характеристику взаємозв'язків між ендоспориївними бактеріями зерна, концентраціями Fe, Cu та Zn в зерні та врожайністю ярих сортів *T. aestivum* L. і *T. turgidum* subsp. *dicoccum*, які вирощувалися у польових умовах на ґрунтах з обмеженою біодоступністю цих мікроелементів. У цьому розділі подано проведений дисертанткою аналіз порівняння даних щодо концентрації мікроелементів в зерні із врахуванням мінерального складу ґрунту із видовим складом бактеріальних ендоспориїв і їх здатністю до синтезу IRCs. Встановлено ймовірний вплив ендоспориївної колонізації на діапазон надходження мікроелементів у рослину, їх доставку до репродуктивних органів та мобілізації в зерно.

Висновки (с. 170-173) Сформульовано 13 висновків, які логічно випливають з одержаних результатів, науково обґрунтовані, відповідають меті та завданням дослідження.

Список використаних джерел (с. 174-234) сформовано в алфавітному порядку, оформлено за встановленим стандартом.

Рукопис завершується додатками. Додаток А містить список опублікованих праць за темою дисертації, перелік наукових праць, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації. Додаток Б включає таблицю цифровими даними кількості та чистоти ДНК, яку використовували в реакції ПЛР, фото електрофорезу в агарозному гелі продуктів ампліфікації ПЛР, фото ідентифікованих ізолятів, отриманих із чотирьох сортів зерна ярої пшениці. Додаток В містить акт впровадження методики вирощування рослин пшениці з ізольованих зародків в умовах *in vitro* в лабораторний практикум та лекційні курси для студентів кафедри фізіології та екології рослин.

Зауваження до дисертації. Подана дисертаційна робота свідчить про наукову зрілість дисертантки, її вміння бачити актуальні проблеми фізіології рослин і біології в цілому. Загалом, дисертаційна робота Макар О.О. за своїм змістом і формою є завершеним самостійним науковим дослідженням. Високо оцінюючи наукове і практичне значення дисертаційної роботи, висловимо деякі зауваження та побажання:

1. При порівнянні морфометричних показників рослин, які вирощувались на 2 дослідних ділянках, основною причиною зниження цих параметрів рослин на ділянці Д. Лужок названо високу біодоступність Fe, який інгібував ріст рослин, хоча більш очевидною причиною такої різниці є значно менший вміст органічних речовин порівняно з ділянкою с. Дмитрів.
2. У тексті часто вживається словосполучення «завантаження елементів у колос», хоча коректніше було б вживати «транспортування» чи «мобілізація».
3. На с. 89 наведено результати дослідження енергії проростання і схожості насіння, але достовірної різниці між цими показниками немає, про що слід вказати в обговоренні.
4. У тексті роботи є орфографічні та стилістичні помилки, які дещо погіршують сприйняття наукової інформації.

Однак, вищенаведені зауваження істотно не впливають на науково-практичну цінність роботи і загальну позитивну оцінку дисертації.

Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Макар Ориси Орестівни на тему «Фізіологічні основи продуктивності і якості зерна ярої пшениці» є завершеною науковою працею, що за актуальністю проблеми, методичними підходами, обсягом, ґрунтовністю аналізу та інтерпретацією отриманих даних, повнотою викладу принципів наукових положень, науково-теоретичним та практичним значенням повністю відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а дисертантка, з урахуванням виконання у повному обсязі освітньої складової освітньо-наукової програми та індивідуального плану наукової роботи, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент:

к.б.н., завідувач кафедри
фізіології та екології рослин
Львівського національного університету
імені Івана Франка, доцент

Мирослава КОБИЛЕЦЬКА