

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Римар Юлії Юріївни,
«Особливості біогенезу продихового апарату у пшениці», подану до
захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії за
спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Функціонування продихового апарату безпосередньо пов'язано з транспірацією, газообміном, фотосинтезом, що, врешті-решт, визначає рівень продуктивності рослини. Крім того, продихи є місцем проникнення багатьох патогенів. Дослідження всіх аспектів біогенезу, функціонування цих структур та поліморфізму генів, що контролюють розвиток продихів, є надзвичайно важливим питанням з точки зору перспективи забезпечення стабільної продуктивності рослин в умовах змін клімату. Тому дисертаційна робота Римар Юлії Юріївни, присвячена вивченню особливостей морфології і фізіології продихового апарату, поліморфізму генів біогенезу продихів у пшениці м'якої та споріднених видів є, безумовно, актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дослідження проведено в Інституті клітинної біології та генетичної інженерії НАН України за бюджетними темами III-9-17 «Дослідження цінних генетичних детермінант і нових алельних ефектів генів для поліпшення хлібних злаків в умовах негативного впливу глобальних кліматичних змін (державний реєстраційний номер 0117U000385), III-7-22 «Системи молекулярних маркерів для добору сприятливих генотипів культурних рослин» (державний реєстраційний номер 0122U001512) та III-7-25 «Молекулярно-генетичний супровід селекційного поліпшення рослин» (державний реєстраційний номер 0125U002197), а також за грантами НАН України дослідницьким лабораторіям/групам молодих вчених НАН України для проведення досліджень за пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки «Дослідження молекулярно-генетичних чинників біогенезу продихів в контексті підвищення посухостійкості пшениці» (державний реєстраційний номер 0122U002213) і «Роль механізмів регуляції редокс протеому у поліпшенні посухостійкості пшениці» (державний реєстраційний номер 0125U001842).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше вивчено нуклеотидні послідовності й анотовано поліморфізми у промоторних ділянках генів біогенезу продихів EPF1, EPF2 і MUTE пшениці м'якої, розроблено ДНК-маркери для детекції поліморфізму в промоторних ділянках генів EPF1 та EPF2, генотиповано зразки різних видів пшениці та досліджено частоти трапляння певних алелів у колекціях зразків пшениці м'якої та споріднених видів. Вперше виміряно морфологічні параметри продихового апарату рослин *Triticum sinskajae*, *T. dicoccum* та *T. sphaerococcum*. Вперше показано кореляцію між морфологією, кількістю продихів та їх функціонуванням (газообмін, фотосинтез, продихова провідність, ефективність використання води) у *T. dicoccum* та *T. spelta*.

Практичне значення досліджень Розроблені ДНК маркери можуть застосовуватись в подальших наукових дослідженнях з вивчення особливостей біогенезу продихів, для пошуку алелів, пов'язаних з бажаним рівнем розвитку господарчо-важливих ознак, та для досліджень з популяційної генетики, історії селекції та еволюції пшениць. Результати дослідження може бути використано у навчальних дисциплінах біологічного профілю для викладання студентам закладів вищої освіти.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень і висновків, аналіз структури та змісту дисертації. Дисертаційна робота викладена на 210 сторінках (з них 140 сторінок – основна частина), містить 24 таблиці та 24 рисунки. Дисертація складається із вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел, який містить 132 найменування, та 4 додатків.

У **Вступі** обґрунтовано актуальність теми і наведено загальну характеристику роботи.

У **розділі 1 «Огляд літератури»** на основі аналізу літературних джерел надано загальну характеристику пшениці м'якої, а також спельти і полби як генетичних ресурсів для її поліпшення, описано типи транспірації, характеристику продихів, їх еволюцію і та роль у процесі газообміну рослин, гени біогенезу продихів та особливості біогенезу продихів в однодольних і дводольних, роль продихів у стійкості до проникнення патогенів.

У **розділі 2. «Матеріали і методи»** наведено перелік зразків пшениці, які було досліджено, описано методики вирощування злаків у польових дослідах, визначення елементів структури врожайності і продуктивності рослин, оцінювання стійкості рослин до збудників септоріозу листя і борошнистої роси, мікроскопічного вивчення продихового апарату рослин, проведення вегетаційного досліду з моделюванням короткочасної ґрунтової посухи, вимірювання показників газообміну та фотосинтезу, виділення ДНК, вимірювання концентрації ДНК, проведення ПЛР, електрофорезу ДНК, біоінформатичні та статистичні методи, наведено розроблені ДНК-маркери

Розділ 3. «Результати та їх обговорення» складається з семи підрозділів 3.1 – 3.7, що відповідають 7 завданням дослідження. Після кожного підрозділу наведено висновки та публікації за матеріалом підрозділу.

У **підрозділі 3.1** наведено результати дослідження колекції зразків пшениці м'якої, спельти, полби, тритикале, жита та інш. Зразки колекції було охарактеризовано за стійкістю до збудників септоріозу листя і борошнистої роси, що дозволило виділити стійкі зразки. Для вибірки представників різних видів пшениці було здійснено аналіз ознак продуктивності.

У **підрозділі 3.2** наведено результати біоінформатичного аналізу генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* на основі сиквенсів сортів Наталка і Подолянка. У промоторних ділянках ідентифіковано низку SNP та делецій-інсерцій та охарактеризовано ці поліморфізми щодо появи або елімінації цис-регуляторних елементів. Докладний опис цього аналізу наведено в додатку А.

У **підрозділі 3.3** описано результати розробки маркерів на основі виявлених поліморфізмів в промоторних ділянках *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* та оптимізації умов ПЛР для маркерів до *EPF1*, *EPF2*. Ці маркери можуть бути

корисними для проведення широкого спектру генетичних досліджень пшениці.

У підрозділі 3.4 описано результати генотипування трьох вибірок зразків пшениці та споріднених видів (більше 200 зразків) за маркерами prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE2B1 та дослідження частот трапляння різних алелів. Зокрема, визначено частоти алелів для вибірки українських сортів пшениці. Результати генотипування зразків наведено в додатку Б.

У підрозділі 3.5 представлено результати дослідження морфології продихового апарату у вибірки сортів і ліній пшениці м'якої та зразків інших видів пшениці. Вивчено такі показники: довжина, ширина і площа продихової щілини, довжина, ширина і площа замикаючої клітини, кількість продихів на квадратний міліметр площі листка, сумарна площа продихових щілин на одиницю площі листка на адаксіальній і абаксіальній поверхні. Визначено генотипи з контрастними рівнями ознак. Зокрема, показано, що сорт Колонія мав максимальну кількість продихів як на адаксіальній, так і на абаксіальній поверхні, а рослини сорту Реформ мали максимальну загальну площу продихових щілин на одиницю площі адаксіальної та абаксіальної поверхні листка. Рослини зразка *T. dicoccum* var. *aeruginosum* мали найбільшу кількість продихів, але найменші розміри замикаючих клітин та площу окремої продихової щілини.

У підрозділі 3.6 докладно описано результати дослідження інтенсивності газообміну в умовах оптимального поливу та короткочасної ґрунтової посухи (вегетаційний дослід) у зразка пшениці м'якої (сорт-дворучка Зимоярка), по одному ярому зразку спельти та полби (*T. dicoccum* var. *aeruginosum*). Виявлено відмінності між тетраплоїдною та гексаплоїдними пшеницями у продиховій провідності та інтенсивності транспірації як у контролі, так і в умовах посухи.

Підрозділ 3.7 є узагальнюючим щодо пов'язаності поліморфізму в генах біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* та морфологічними ознаками продихового апарату, де зазначено про істотний ефект певних змін в нуклеотидних послідовностях як промоторної ділянки, так і кодуючої на параметри замикаючої клітини, продихової щілини і кількість продихів, але, результати були б ще більш вагомими, якби було наведено конкретні дані, на основі яких зроблено ці висновки.

Структура роботи є логічною і продуманою. Висновки відповідають поставленим завданням. Наукові положення і висновки є обґрунтованими.

Висвітлення результатів у наукових публікаціях. Матеріали дисертаційної роботи достатньо повно висвітлено у наукових працях: опубліковано 15 наукових праць, з них 4 наукові статті, у тому числі 3 – у фахових наукових виданнях України та 1 опубліковано у зарубіжному науковому періодичному виданні, включеному до міжнародних наукометричних баз Web of Science і Scopus, та 11 тез доповідей на наукових конференціях

Академічна доброчесність. Дисертація та наукові публікації, у яких висвітлені основні наукові результати дисертаційної роботи, не мають ознак

академічного плагіату. Для всіх публікацій у співавторстві зазначено особистий внесок дисертантки.

Зауваження та побажання щодо змісту і оформлення.

Зустрічаються різні стилі оформлення у списку посилань. Є незакінчене посилання (Степаненко А. І., Лахнеко О. Р., Зборівська О. В, Моргун Б. В., Кіщенко О. М., Лопато С.В., Борисюк М. В. (2021). Молекулярні чинники регуляції поверхні листя пшениці у зв'язку із посухостікістю.)

Назву роду (*Triticum*) треба писати курсивом. «Співродичі» є калькою з російської, краще, споріднені види. "Spiny» – не дуже вдалий переклад терміну «остистий» (awned). «Короткоостистий» можна було б перекласти «awnletted».

Є невдалі фрази, наприклад, «було проаналізовано щодо рахунок впливу змін між сортами» на ст. 86.

Назва сорту пшениці має бути 'Chinese Spring', а не 'China Spring' (ст. 92)

Сорти можуть бути гетерогенними, а не гетерозиготними, як написано на ст. 104 та на рис. 3.8.

Тритикале Борівітер Харківський – гексаплоїд, як зазначено у Державному реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні (2025 р) (<https://minagro.gov.ua/file-storage/reyestr-sortiv-roslin>), тому його геномна формула в табл. 2.1 має бути ABR, а не ABDR. Borislav не українське, а болгарське тритикале, гексаплоїдне (ABR), а не октоплоїдне (ABDR).

На ст. 71 написано «Також тетраплоїдний геном має сорт жита української селекції 'Пам'яті Дерев'янка'». У Державному реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні (2025 р) (<https://minagro.gov.ua/file-storage/reyestr-sortiv-roslin>) цей сорт зазначено як диплоїдний.

Сорти Гурт, Єдність, Журавка одеська, Зиск, Кірія, Красуня одеська, Куяльник, Мелодія одеська, Місія одеська, Нива одеська, Одеська 267, Панна, Соната одеська, Українка одеська створено в Селекційно-генетичному інституті – Національному центр насіннєзнавства та сортовивчення НААН України, м. Одеса, а не в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України, як наведено в табл. 2.2.

Про сорти Реформ, Колонія, Тобак та низку інших та американські селекційні лінії (з табл. 3.5), які досліджено за морфологією проростків, не згадано в підрозділі 2.1 Рослинний матеріал

У підрозділі 2.2 Методика вирощування злаків у польових дослідах треба було б вказати довжину ряду і кількість висіяних зерен в ряду.

У підрозділі 2.2.1 зазначено «.....Проводять статистичний обрахунок по Доспехову.». Треба було вказати, що саме обраховували і якими статистичними методами. В 2.2.1 також наведено, як розраховували коефіцієнт господарської ефективності (Кге), але в розділі 3 про цей коефіцієнт не згадується, очевидно це зайва інформація.

У підрозділі 2.2.2 або в табл. 3.1. треба було вказати скільки рослин проаналізовано за ознаками продуктивності для кожного зразка.

У табл. 3.3 координати генів EPF1, EPF2 дають занадто короткі довжини гена порівняно з графою «розмір гена»

У назвах таблиць додатку Б написано «Виявлений поліморфізм нуклеотидних послідовностей промоторів генів EPF1, EPF2 та MUTE ...», але за маркерами до MUTE ці зразки не аналізували.

На рис. 3.8 сумарні частоти алелів у вибірці сортів за кожним з маркерів prE1A1, prE1B1, prE1D1, не дорівнюють 1; така ж ситуація для prE1B1 на рис. 3.10.

У підрозділі 2.7 вказано, що «Результати виражені як середнє значення та стандартна помилка ($\bar{x} \pm SE$)», але на ст. 113 написано, що «...в табл. 3.4.... зазначено середнє та стандартне відхилення для порохованих показників.» В табл. 3.4 наведено стандартні похибки чи стандартні відхилення? На ст. 114, 116 (підрозділ 3.5), при описі ознак морфології продихів слід говорити про істотні відмінності за показником між певними сортами та лініями, а не про «зростання» або «зниження .. показника».

У підрозділі 2.1 зазначено «Для оцінки морфології продихів рослини пшениці м'якої та споріднених видів вирощували на дослідній ділянці ІФРГ НАН України протягом 2022–2024 років». Дані для рослин якого року наведено в табл. і рис. розділу 3.5.1?

У підрозділі 3.5 у таблицях з середніми значеннями та на діаграмах з величинами показників у сортів і ліній 3.12 і 3.13 треба було б додати позначення буквами для характеристики істотності/неістотності відмінностей на основі тесту Тьюкі. У підписі до рис. 3.14, 3.16 треба було б додати пояснення «буквами А, В позначено вірогідні відмінності між адаксіальною та абаксіальною поверхнями листка», як це зроблено на рис. 3.19.

У підрозділі 3.5.2. йдеться про сорт Миронівська. Такого сорту немає, очевидно, назва сорту неповна.

У табл. 3.6 не наведено реєстраційний номер зразка полби і спельти, тому незрозуміло, який саме зразок аналізували. Крім того, назва таблиці 3.6 «Характеристика морфології продихового апарату використаних сортів озимої пшениці», очевидно, неточна, оскільки зразки *T. spelta* var. *album*, *T. dicoccum* var. *aeruginosum*, *T. sinkajae* var. *sinskajae* – ярі.

На ст. 146 написано «Маса зерен рослин при дії короткочасної посухи у пшениці Зимоярки зменшилася на 10,7 % у порівнянні з оптимальним поливом,» проте на рис 3.20 видно, що вона, навпаки, зросла.

У підрозділі 3.7 не сказано, для яких саме сортів і ліній було проведено статистичний аналіз зв'язку відмінностей за маркерами і даними морфології продихів, і, відповідно, генотипи цих сортів або ліній за маркерами промоторних і кодуючих послідовностей досліджених генів (E1A1, E1B1, E1B2, E1D1, E1D2, E2A1 і MD1) не наведено ні в тексті, ні в додатках, як і дані щодо морфологічних ознак. У заголовку таблиці 3.11 треба було пояснити, які саме показники наведено в цій таблиці. Крім того позначення локусів в таблиці 3.11 не збігаються з назвами, описаними в тексті.

Відмічені недоліки не впливають негативно на зміст дисертації, не припиняють її актуальності, наукової новизни і практичного значення роботи.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.
Дисертація Римар Ю.Ю. є закінченою науковою працею. Наведена в ній

