

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Івановича Ярослава Івановича «Генетичне профілювання для маркер-опосередкованого добору сортів черешні (*Prunus avium* L.) української селекції», подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика

Черешня займає важливе місце серед промислових плодкових культур в Україні. Для сільськогосподарських виробників особливо вагоме значення мають сорти, що володіють специфічними та бажаними господарсько цінними ознаками: характерним габітусом, стійкістю до хвороб та шкідників, самоплідністю та інше. Тому вивчення генетичного різноманіття сортів на сучасному рівні є вкрай важливим завданням для якісної генетичної оцінки та розвитку подальших селекційних стратегій. Слід зазначати, що більшість сортів черешні вітчизняної селекції не вивчалися на молекулярно-генетичному рівні.

Таким чином створення генетичних профілів сортів черешні української селекції для проведення цілеспрямованих селекційних досліджень, контролю сортової ідентичності та генетичної стабільності клонів, створення референтних колекцій генетичних ресурсів та захист прав селекціонерів є вкрай необхідним. Більш того, розробка сучасної системи оцінки сортової ідентичності черешні може базуватись винятково на комбінованому підході, що передбачає молекулярний аналіз у поєднанні з традиційними селекційними підходами та помологічними описами.

Отже, теоретичні й практичні проблеми, досліджені в дисертаційній роботі, є актуальними.

Головною метою цієї дисертаційної роботи було вивчення генетичного різноманіття українських сортів та диких форм черешні сучасними молекулярно-генетичними методами для визначення перспектив використання та консервації генофонду цієї культури в Україні.

Основні положення дисертації відображені в 15 наукових працях (з яких 6 у фахових виданнях), 1 глава – у монографії, науковий звіт та 7 тез доповідей – на наукових конференціях. Вони в повному обсязі висвітлюють зміст, результати та висновки дисертації.

Дисертація написана доволі гарною українською мовою. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень та їхнього обговорення (представлених чотирма розділами), висновків, списку літератури та додатків. Текст дисертації з переліком літератури (255 джерел), ілюстраціями (22 рисунки), таблицями (15 таблиць) викладено на 160 сторінках. Додатки складають 14 сторінок.

У вступі коротко обґрунтовується актуальність теми; зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами; мета та завдання досліджень; надане коротке визначення об'єкта, предмета та методів дослідження, викладені наукова новизна одержаних результатів та їхнє практичне значення; наведено дані про особистий внесок здобувача, апробацію результатів дисертації, публікації.

Перший розділ являє собою аналітичний огляд літератури. У ньому викладено сучасний стан досліджень щодо ботанічної та молекулярно-генетичної характеристики черешні. Описано основні типи молекулярних маркерів та сферу їхнього застосування, маркер-опосередкований добір у селекції сортів плодових культур та черешні зокрема. Також висвітлено стан досліджень найважливіших кількісних та якісних (менделівських) ознак черешні, за якими проводиться селекція на сучасному рівні.

У розділі "Матеріали та методи" наведено підходи та методи, що застосовувалися дисертантом для вирішення поставлених завдань. Це насамперед молекулярно-генетичні (екстракція та очищення ДНК, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), рестрикційне розщеплення

ампліфікованої поліморфної послідовності, електрофорез продуктів ампліфікації, сиквенування фрагментів ДНК); статистичні (визначення ряду дискримінаційних показників для різних типів молекулярних маркерів, побудова дендрограм та застосування Баєсівської статистики для вивчення генетичного різноманіття, спорідненості та генетичної структури (конституції) сортів та форм черешні, підбір мінімальних ефективних маркерних панелей для однозначної ідентифікації сорту); біоінформатичні (вирівнювання нуклеотидних послідовностей, ПЛР *in silico*, підбір ендонуклеаз рестрикції для розщеплення ампліфікованої поліморфної послідовності *in silico*).

Розділ 3 присвячений результатам досліджень.

Автором було продемонстровано рівень генетичної спорідненості та з'ясовано генетичну конституцію сортів та форм черешні за молекулярними маркерами. У ході виконання роботи було відібрано та встановлено найефективніші для оцінки поліморфізму генотипів черешні ISSR-праймери та MC локуси. Було показано обмежену придатність для генетичного профілювання сортів черешні IRAP- та REMAP-ПЛР маркерів. Слід зазначити, що в ході виконання дисертаційного дослідження було сформовано референсну колекцію ДНК із 102 сортів та 36 форм черешні та запропоновано алгоритм її використання для ідентифікації та перевірки сортової ідентичності. Було створено базу даних ДНК-типування та генетичні профілі з використанням IRAP-, REMAP-, ISSR-, CAPS-, MC маркерів та S-локусу для більше 100 сортів та форм черешні. Було виявлено чотири раніше неописані генетичні пули серед сортів та форм черешні українського походження. У ході виконання роботи було відібрано маркери мікросателітних локусів (CPSCT038 та BPPCT034) та CAPS-маркери, що можуть бути використані в маркер-опосередкованій селекції (MAS) та селекції гібридних сіянців (MASS) для селекційних робіт.

Дуже цікавим результатом цих досліджень є впровадження нового та надійного експрес-методу ідентифікації алельних варіантів гена *PavCNR12* із застосуванням кодомінантних CAPS-маркерів, що дозволяють відрізнити гомо- та гетерозиготні форми. Застосування такого підходу дозволило встановити алельний стан гена *PavCNR12* у 70 сортів черешні української та закордонної селекції та виявлено суттєве переважання частоти алеля *PavCNR12-1* над алелями -2 та -3. Було з'ясовані алелі самонесумісності (алелі S-локусу) та групи перехресної несумісності (ГПН, СІГ) для оптимізації планування та закладання промислових насаджень черешні у 120 зразків сортів черешні та форм дикої черешні. Було виявлено щонайменше один новий S-алель, ще два потребують подальшого вивчення.

У розділі 4 проведено аналіз та узагальнення результатів.

Автором пропонується ціла низка пояснень ефектів, що спостерігались у ході проведення роботи та порівняння їх із даними інших експериментальних досліджень, що цілком пов'язані з темою дисертації. Висновки роботи витікають із експериментальних даних, одержаних автором.

Основні матеріали роботи опубліковані у фахових виданнях. Автореферат достатньо повно висвітлює основний зміст дисертації, одержані експериментальні дані та повністю відповідає основним положенням дисертації.

Незважаючи на загалом позитивне враження щодо наукових надбань, форми їхнього осмислення та викладення, у дисертаційній роботі є деякі недоречності, недоліки та упущення.

1. У тексті дисертації зустрічаються орфографічні та стилістичні помилки. Також є місце калькам з російської мови, зокрема «в якості», чи невдале використання термінів, а саме ДНК-ампліфіканти. Доцільніше використовувати термін «амплікони».

2. У тексті зустрічаються невдалі назви малюнків, а саме Рис. 3.3. (Рис. 1. Автореферат). «Електрофореграма продуктів ампліфікації праймерів до МС локусу PseGA34 та геномної ДНК сортів та форм черешні.» На мій погляд, відбувається ампліфікація не праймерів, а послідовностей ДНК. Тому назва на кшталт «Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих з використанням праймерів...» буде доречнішою.

3. У кладограмі генетичної спорідненості 94 сортів та форм черешні побудована методом N-J на основі маркерів із 18 МС локусів та S-локусу (Рис. 3.11.) незрозумілими залишаються дистанції. Було б набагато краще, коли б ця кладограма показувала б значення дистанцій чи масштабування.

Попри все, вказані недоліки не впливають на загальну позитивну оцінку роботи та не зменшують її наукове значення.

Представлена робота є самостійним завершеним дослідженням, що є актуальним, виконаним на сучасному науковому та методологічному рівні, характеризується новизною одержаних експериментальних даних та обґрунтованістю висновків. За обсягом та рівнем виконаних досліджень, їхнім аналізом дисертаційна робота заслуговує позитивної оцінки.

Все вище наведене цілком переконливо доводить, що дисертаційна робота Івановича Ярослава Івановича «Генетичне профілювання для маркер-опосередкованого добору сортів черешні (*Prunus avium* L.) української селекції» за актуальністю висвітлених питань, їхнім теоретичним та практичним обґрунтуванням, обсягом проведених досліджень цілком відповідає чинним вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою кабінету Міністрів України від 24.07.2013р. №567, а її автор Іванович Ярослав Іванович заслуговує на присудження наукового

ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

Офіційний опонент

Завідувач відділу рослинних харчових продуктів та біофортificaції

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»

доктор біол. наук, старший наук. співробітник



С.В. Ісаєнков

Згідно з д.б.н. С.В. Ісаєнкова завіряю.

Учений секретар ДУ «ІХБТ НАН України»

к.б.н., с.н.с. Я.В. Тірко