

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу *Хаблака Сергія Григоровича* «Генетичний контроль розвитку кореневої системи у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.», представлену на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук із спеціальності 03.00.15 – генетика

Актуальність теми. Серед можливих претендентів на роль генетичної моделі, що включали такі культури як кукурудза, тютюн і петунія, перевага була віддана арабідопсису Таля *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. зокрема, завдяки невеликому розміру генома. Арабідопсис став першою рослиною, чий геном був повністю секвенований (2000 р.), а також виявився першою рослиною, вирощеною в космосі, в умовах відсутності гравітації. І по теперішній час арабідопсис залишається пріоритетним модельним об'єктом для генетичних, молекулярно-біологічних та інших досліджень.

Розшифровка повної нуклеотидної послідовності генома *A. thaliana* дозволила реально перейти до вирішення центральної проблеми молекулярної генетики вищих рослин - ідентифікація функції генів. Отже, актуальність теми наукових досліджень не викликає заперечень, так як дисертаційна робота присвячена з'ясуванню механізмів генетичного контролю морфогенезу кореневої системи арабідопсису. Для досягнення мети досліджень автором були сформульовані завдання: вивчити закономірності розвитку корневих систем двох рас арабідопсису; – з'ясувати роль генів, що регулюють функціонування апікальної меристеми кореня, в утворенні кореневої системи; – дослідити генетичну і гормональну регуляцію галуження коренів й розвитку корневих волосків; – дослідити взаємозв'язок сигнальних систем регуляції розвитку рослини і взаємодії генів при успадкуванні ознак кореневої системи; – вивчити чутливість до умов мінерального живлення мутантних ліній зі зміненою будовою кореневої системи. Сформовані здобувачем завдання справляють цілісне враження та є детальним планом для проведення досліджень за темою дисертації.

Зв'язок роботи з державними науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано впродовж 2011–2017 років. Вона є складовою частиною досліджень в Уманському національному університеті садівництва за темою «Розробка генетичних та біотехнологічних методів у селекції сільськогосподарських культур» (затверджено Вченою радою факультету агрономії, протокол № 4 від 01.02.2012 р.); ТП «Оптимізація використання природного і ресурсного потенціалу агроєкосистем Правобережного Лісостепу України» (номер ДР 0116U003207).

Оцінка обґрунтованості наукових положень, висновків, рекомендацій. Дисертація Хаблака С.Г. являє собою завершену наукову роботу, яка має всі необхідні елементи: від обґрунтування актуальності та напрямів досліджень до детального аналізу отриманих результатів та висновків. Рукопис дисертації написаний з використанням фахової термінології.

Робота характеризується логічною послідовністю викладення експериментального матеріалу та його аналізу. Достовірність отриманих результатів підтверджується використанням статистичного аналізу даних. Результати порівняно із даними інших дослідників, описаними у науковій літературі.

Оцінка змісту дисертації та її завершеності. Дисертація складається з таких частин: вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, експериментальної частини, висновків, списку використаних джерел, який включає 521 джерело, у тому числі 358 – іноземних. Матеріал викладений логічно й завершено на 331 сторінці, містить 41 таблицю, 39 рисунків і чотири додатки.

У розділі «Сучасний стан досліджень генетичного контролю розвитку кореневої системи *Arabidopsis thaliana*» виконаний аналітичний огляд сучасної наукової літератури, що дозволило автору обґрунтувати актуальність, мету, завдання дисертаційної роботи. Автором охарактеризовано гени арабідопсису,

що контролюють довжину, потовщення, галуження коренів, а також що визначають особливості будови кореневих волосків. Показано недостатній рівень вивчення фізіологічних і генетичних механізмів, що визначають генотипову специфіку чутливості рослин на вміст рухомих поживних речовин у зоні коренів.

У розділі «Матеріали ті методи досліджень» детально охарактеризовані мутантні лінії *Arabidopsis thaliana*, що використані у роботі. Представлено достатньо широкий спектр методичних підходів. Автор застосовує класичні методики вегетаційного, порівняльно-морфологічного, гібридологічного аналізів та сучасні методи статистичного аналізу.

У розділах 3-7 дисертантом наведено результати експериментальних робіт та їх первинний аналіз. Кожен з етапів роботи автор завершує обговоренням отриманих результатів та проміжними висновками.

За результатами досліджень, представлених в розділі 3 «Загальні закономірності розвитку кореневої системи *Arabidopsis thaliana*», встановлено, що у арабідопсису протягом онтогенезу розвивається коренева система змішаного типу, що об'єднує в собі систему головного кореня і систему додаткових коренів. Хід розвитку кореневої системи в життєвому циклі з урахуванням онтогенетичної мінливості можна представити у вигляді шести типів розвитку, основним з яких є базімесотонний тип (проста коренева система – складна коренева система, розгалужена у верхній частині – складна коренева система, розгалужена у верхній і середній частині – складна коренева система, розгалужена по всій осі).

Розділ 4 «Генетика ознак кореневої системи *Arabidopsis thaliana*» присвячений вивченню ролі генів, що регулюють активність апікальної меристеми кореня, у формуванні будови кореневої системи. Результати вказують на ключову роль генів *SHR1*, *SCR1* і *WOL1* у цьому процесі. Автором показано, що перехід кореневої системи від одного типу до іншого в процесі онтогенезу

генетично обумовлений і залежить від генів, що регулюють функціонування апікальної меристеми кореня. Також у даному розділі представлено результати досліджень впливу мутацій ауксин-індукованих генів на галуження коренів. Отримані дані свідчать про те, що утворення кореневої системи у рослин залежить від генів, що контролюють активність не тільки апікальної меристеми кореня, але й функціонування клітин перициклу. Одночасно з верхівковою меристемою кореня перициклу центрального циліндра належить важлива роль у морфогенезі кореневої системи рослин.

У розділі 5 «Генетика морфогенезу кореневих волосків» представлено результати досліджень впливу на будову волосків епіблеми мутантних алелів генів *AXR1*, *AXR2*, *AXR3*, *AUX1*, що беруть участь в сигналізації ауксину, генів *CTR1*, *ETO1*, *ETR1*, *EIN2*, що беруть участь у метаболізмі й сигналізації етилену, генів *RHD3*, *RHD4*, *RHD6*, *SHV3*, *BST1*, *PHYA*, *PHYB*, *CPC1*, *GL2*, *RHL1*, *RHL2*, *RHL3*, *TTG1*, *WER1*, *COW1*, що беруть участь у передачі світлового сигналу. Дані досліджень дозволили класифікувати мутації, що впливають на формування волосків епіблеми, за кількістю виростів клітин шкірки кореня та їх довжиною.

Дослідженню взаємодії генів присвячений розділ 6 «Взаємозв'язок сигнальних систем рослини та взаємодії генів при успадкуванні ознак кореневої системи». З'ясовано взаємодію генів *RHD3*, *RHD4*, *CEN1*, *SAR1* при утворенні форми волосків епіблеми, що проходить за типом комплементарної дії генів, при якому кожний з генів характеризується власним специфічним ефектом. Визначено характер взаємодії генів *GPA1* і *SLR1* та *CTR1* і *ALF3* на ознаки кореневої системи, який відбувається за типом рецесивного епістазу у відношенні 9:3:4. Встановлено роль домінантних мутацій *Etr1-1*, *Etr2-1* генів *ETR1* та *ETR2* у виникненні гетерозису, яка полягає у домінуванні у гібридів F₁ мутантного гена над геном дикого типу. З'ясовано особливості успадкування

ознак кореневої системи при взаємодії генів *SHY2* і *MSG1*, *NPH4* і *IAR2* та *ETR1* і *ETR2*, що визначають полімерний характер дії генів.

На різних фонах живлення у рослин мутантних ліній, у яких порушено розвиток коріння, виявлено наявність генетичного поліморфізму за ознаками кореневого живлення і адаптації до стресів мінерального живлення, на основі чого доведено необхідність ведення спрямованої селекції за зміною рівня ознак, пов'язаних з ефективним використанням рослинами поживних речовин з ґрунту і добрив. Ці результати представлено в розділі 7 «Генетика мінерального живлення *Arabidopsis thaliana*».

У розділі «Висновки» надано 16 пунктів. Загальні висновки відображають наукову й практичну значимість дисертації та логічно завершують узагальнення отриманих результатів.

Повнота викладення основних результатів роботи в наукових фахових виданнях. Дисертаційна робота Хаблака С.Г. є самостійним оригінальним дослідженням. Робота апробована на конференціях міжнародного та національного рівнів. За темою дисертації опубліковано 45 наукових праць, у тому числі 1 монографія, 23 статті – у наукових фахових виданнях України, 9 статей – у профільних наукових періодичних виданнях інших держав та 12 тез доповідей – у матеріалах наукових конференцій.

Відповідність змісту автореферату та основних положень дисертації. Зміст та структура автореферату відповідає структурі, основним положенням та висновкам, приведеним в дисертації.

Наукова новизна отриманих результатів. Автором одержані нові для науки дані та узагальнення. Здобувачем з'ясовано механізми генетичного контролю морфогенезу кореневої системи *Arabidopsis thaliana*. На підставі взаємозв'язку сигнальних систем рослини і взаємодії генів при успадкуванні

ознак удосконалено концепцію щодо механізму взаємодії генів, яка базується на сучасних уявленнях про молекулярні принципи біологічної відповіді.

Практичне значення одержаних результатів. Практичне значення дисертаційної роботи витікає із зроблених автором теоретичних узагальнень. Встановлено напрями селекції у створенні сортів і гібридів культурних рослин, які ефективно використовують мінеральні елементи ґрунту і добрив, із заданими параметрами мінерального живлення, що дозволяє удосконалити оцінку селекційного матеріалу та ведення селекційної роботи.

Висловлення ряду побажань і зауважень. Принципових зауважень до дисертаційної роботи немає. Але робота не позбавлена деяких недоліків. Під час аналізу виникли певні запитання до здобувача.

1. Є невдалі вирази або неузгоджені твердження. Наприклад, «Ці мутації захоплюють всі 5 хромосом *A. thaliana*...», «... мутації, які захоплюють волоски епіблеми...», «Кастрацію та примусову гібридизацію проводили за допомогою мікроскопа...», «...маса надземної маси...».

2. Деякі повтори інформації з огляду літератури в розділах експериментальних досліджень.

3. Інформацію «Започатковано міжнародний проект «*Arabidopsis* TILLING Project» для отримання етилметансульфонат-індукованих і інсерційних мутацій за генами з метою визначення їх функцій...» підтверджено посиланням на публікацію 2002 р., тобто 17 років тому. На якій стадії проект зараз? Чи вирішив поставлені завдання? Або в 2002 році думали його розпочати, а стартував він тільки зараз, як витікає з речення?

4. В розділі «Матеріали і методи» вказано, що «Математичну обробку результатів досліджень проводили за методиками Б.О. Доспехова [414], Г.Ф. Лакіна [420]...». Які саме методики розробили Доспехов та Лакін і які

використано автором для статистичного аналізу даних? Необхідно посилатися або на першоджерела, або на сучасні загальноприйняті методи.

5. В продовження теми статистичного аналізу даних, запитання щодо виразу «значно відрізняються» (стор. 155, 166, 168, 189, 192, 258): чи достовірна різниця?

6. Не наведено обґрунтування вибору рас Колумбія і Ландберг саме з точки зору вивчення кореневої системи.

7. Щодо використання терміну «врожайність». Врожайність - кількість рослинницької продукції, одержуваної з одиниці площі (для культур відкритого ґрунту розраховують в центнерах з гектару (ц/га), в теплично-парниковому виробництві — в кг з 1 м²). Можливо, коректніше говорити про параметр «маса насінин».

8. Як побажання, опублікувати узагальнені результати дисертаційної роботи в спеціалізованому виданні «The Arabidopsis Book».

Сформовані зауваження та побажання не зменшують наукової та практичної цінності роботи.

Загальний висновок. Таким чином, дисертаційна робота Хаблака Сергія Григоровича «Генетичний контроль розвитку кореневої системи у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.» являє собою закінчену науково-дослідну роботу, яка містить рішення актуального завдання щодо визначення закономірностей генетичного контролю формування кореневої системи у *A. thaliana*, вивчення генів, що контролюють розвиток її ознак і властивостей, встановлення характеру успадковування цих генів, з'ясування генетично детермінованих властивостей та ознак чутливості до елементів живлення, встановлення фізіологічних і генетичних механізмів, що визначають генотипову специфіку чутливості рослин до умов кореневого живлення, їх стійкість до несприятливих чинників у зоні коренів. Результати цих досліджень, отриманих на модельному об'єкті, можуть

бути використані для вдосконалення і розробки нових селекційних програм зі створення сортів і гібридів, які ефективно використовують мінеральні елементи ґрунту і добрив.

На підставі проведеного аналізу вважаю, що за своєю актуальністю, обсягом проведених досліджень, новизною, достовірністю отриманих результатів, обґрунтованістю висновків дисертаційна робота «Генетичний контроль розвитку кореневої системи у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.» відповідає вимогам до докторських дисертацій згідно з «Порядком присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів від 24.07.2013 року № 657, а її автор Хаблак Сергій Григорович заслуговує присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
заступник керівника відділу
молекулярної генетики
та фітосанітарної експертизи
ТОВ «Україна Котекна Лімітед»



Н.Е. Волкова

30.04.2019 р.

Підпис Волкової Н.Е. засвідчую.

