

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу ПОСТОВОЙТОВОЇ Анастасії Сергіївни «ПОЛІМОРФІЗМ ДОВЖИНИ ІНТРОНІВ ГЕНІВ АКТИНУ ЯК ЕФЕКТИВНИЙ ІНСТРУМЕНТ ВНУТРІШНЬО- ТА МІЖВИДОВОЇ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ РОСЛИН»,
представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук із спеціальності 03.00.22 – молекулярна генетика

Актуальність теми. Молекулярні маркери є невід'ємною складовою сучасних досліджень як теоретичного напрямку, так і суто практичних, зокрема, маркерний добір і селекція, пірамідкування генів, детекція збудників захворювань. Незважаючи на значну кількість різноманітних видів ДНК-маркерів, продовжуються пошуки більш ефективних та більш відповідних певним задачам. Першим і необхідним етапом досліджень для надання нуклеотидній послідовності статусу маркерної є аналіз поліморфізму певних регіонів геному. Отже, актуальність теми наукових досліджень не викликає сумніву, так як дисертаційна робота присвячена оцінці поліморфізму довжини інтронів генів актину його використання для диференціації та генотипування різних видів рослин. Для досягнення мети автором були сформульовані такі завдання: - дослідження поліморфізму генів актину вищих рослин біоінформатичними методами та розробити дизайн праймерів для подальшого аналізу *in vitro*; - провести диференціацію різних видів рослин (пшениці, ячменю, рису, егілопсу, льону-довгунця, томату, картоплі, ріпаку); порівняти ефективність роботи запропонованого методу оцінки поліморфізму довжини інтронів генів актину з SSR- та TBP-маркерами на прикладі аналізу внутрішньосортного поліморфізму у льону-довгунця. 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. Робота є складовою частиною бюджетних науково-дослідних робіт «Створення молекулярно-генетичних маркерів для диференціації різних

генотипів рослин на основі вивчення поліморфізму інтронів генів їх цитоскелетних білків» (2015–2019 р., номер держреєстрації 0115U005025), «Диференціація різних генотипів та сортів рослин шляхом оцінки поліморфізму довжини інтронів актину» (2018–2019 р., номер держреєстрації 0118U006867).

Оцінка обґрунтованості наукових положень, висновків, рекомендацій.

Дисертація Постовойтової А.С. 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 проаналізовано автором та порівняно із результатами 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, узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, який включає 245 джерел. Матеріал викладений логічно на 185 сторінках, містить 13 таблицю та 26 рисунків.

У розділі «Огляд літератури» виконаний аналітичний огляд сучасної наукової літератури, що дозволило автору обґрунтувати актуальність, мету та завдання дисертаційної роботи. Автором охарактеризовано особливості застосування методу оцінки поліморфізму довжини інтронів різних генів як перспективного напрямку для розроблення молекулярно-генетичних маркерів. Окрему увагу зосереджено на принципі методів оцінки поліморфізму довжини інтронів генів β -тубуліну та їх верифікації. Узагальнено дані щодо особливостей організації генів актину рослин.

У розділі «Матеріали ті методи досліджень» охарактеризовано рослинний матеріал - представники однодольних та дводольних рослин з родин *Poaceae*, *Linaceae*, *Solanaceae* та *Brassicaceae*. Представлено достатньо широкий спектр сучасних молекулярно-генетичних методичних підходів, в т.ч. біоінформатичних.

У розділах 3-4 дисертантом наведено результати експериментальних робіт та їх первинний аналіз. Кожен з етапів роботи автор завершує обговоренням отриманих результатів та проміжними висновками. Представлено новий підхід для генотипування, що базується на оцінці поліморфізму довжини інтронів генів актину. Вивчено можливість його використання для ДНК-профілювання та диференціації рослин на видовому, популяційному, сортовому та внутрішньосортовому рівнях. Спираючись на результати біоінформатичного пошуку та аналізу генів актину в геномах однодольних та двудольних рослин, здійснено дизайн універсальних праймерів для проведення полімеразної ланцюгової реакції, з використанням яких досліджено поліморфізм довжини інтронів генів актину у різних рослин родин *Poaceae*, *Linaceae*, *Solanaceae* та *Brassicaceae*. На прикладі аналізу внутрішньосортного поліморфізму льону-довгунця підтверджена ефективність підходу оцінки поліморфізму довжини інтронів генів актину в порівнянні з популярними SSR-маркерами та TBP-методом. Отримані дані свідчать про те, що розроблений метод оцінки поліморфізму довжини інтронів генів актину є інформативним інструментом для проведення молекулярно-генетичного аналізу рослин, який може знайти застосування в селекційних та популяційно-генетичних дослідженнях.

У розділі «Висновки» надано 11 пунктів. Загальні висновки відображають наукову та практичну значимість дисертації, логічно завершують узагальнення отриманих результатів.

Повнота викладення основних результатів роботи в наукових фахових виданнях. Дисертаційна робота Постовойтової А.С. є самостійним оригінальним

дослідженням. Робота апробована на конференціях міжнародного та національного рівнів. За темою дисертації опубліковано 14 наукових праць, у тому числі 8 статей – у наукових фахових виданнях України та інших держав, 6 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 виявлено особливості екзонно-інтронної структури генів актину у різних видів рослин. Вперше за допомогою визначення поліморфізму довжини інтронів генів актину проведено генотипування та диференціація сортів таких господарсько цінних культур як рис, пшениця, ячмінь, льон-довгунець, томат та картопля.

Практичне значення одержаних результатів. Запропонована ДНК-маркерна система оцінки поліморфізму довжини інтронів генів актину рослин для диференціації різних видів, сортів та популяцій рослин при популяційно-генетичних та селекційних дослідженнях.

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.

Розділ «Огляд літератури»

Не можу погодитися з твердженням, що мікросателітні маркери є довільними. Автор пише, що такі маркерні системи «не потребують жодної попередньої інформації про нуклеотидні послідовності геному». Щодо мікросателітів, то про них мають таку інформацію, як послідовність та розмір повторюваної одиниці, хромосомна локалізація, дистанція від гену або внутригенне розташування.

Немає розшифровки деяких аббревіатур (WRKY, KNOX, UTR та інш.).

Немає узагальнюючої частини (кілька речень) після огляду, яка дозволяє зрозуміти, які питання описаної вище проблеми не вирішено і чому присвячено саме дисертаційну роботу.

Розділ «Матеріали і методи»

Що означає вираз «покращення умов проведення ПЛР» (стор. 44)?

«Концентрацію та чистоту отриманого генетичного матеріалу перевіряли ... з використання електрофорезу в 6 %-ному агарозному гелі» (стор. 57). Екстрагована високомолекулярна тотальна ДНК «застрягне» в слоті гелю, так як 6 % - дуже висока концентрація агарози для екстрагованої ДНК.

Занадто детальний опис збирання приладу для ПААГ (стор. 60).

Дані не обробляють, а аналізують статистичними методами (стор. 61).

Розділи власних досліджень

Три перші сторінки розділу 4 (стор. 83-85) відносяться до огляду літератури і не є власними результатами.

Твердження «Таким чином, було показано інформативність та доцільність подальшого використання оцінки поліморфізму довжини інтронів генів актину у подальших молекулярно-генетичних дослідженнях та в процесі селекції пшениці та ячменю» (стор. 88) потребує конкретизації. Як саме може бути використано?

На основі чого стверджується про «видоспецифічні ДНК-профілі рису» (стор. 89)? На електрофореграмі немає інших видів рослин, крім рису. Це відноситься і до «...видоспецифічних ДНК-профілів...» льону-довгунця (стор. 102), сортів томату (стор. 132), пшениці.

Часто зустрічається вираз «... амплікон довжиною близько XXX п. н.». Як розраховували розмір ампліконів? В розділі «Матеріали і методи» не вказано. Є безкоштовні програми у вільному доступі, наприклад, GelAnalyzer.

При дослідженні міжвидових гібридів ріпаку і дикорослих видів (стор. 135) доцільним було б побудувати дендрограми за даними маркерного аналізу і оцінити таким чином походження та філогенетичні зв'язки. Також це відноситься

і до сортів льону. Кластерний аналіз дозволив би краще оцінити розподіл сортів льону – чи є угруповання сортів за походженням (українська/зарубіжна селекція), або за призначенням сорту?

Вказано два однакових схрещування ліній ріпаку MS1 x RF1 (ACS-BN004-7 x ACS-BN001-4) та MS1 x RF1 (ACS-BN004-7 x ACS-BN002-5) (стор. 55, 136). Але за кодом OECD у другому схрещуванні бере участь RF2. Чому вказано тільки два елементи трансгенної конструкції – *T-nos* і *bar*?

Як приклад успішного використання SSR-маркерів в селекції рослин наведено «сорт кукурудзи з підвищеним вмістом лізину та амілопектину в ендоспермі [148]...» (стор. 46). Але в селекції кукурудзи оперують лініями та гібридами, і в роботі з посилання – теж лінії (батьківські та пірамідовані).

Сформовані зауваження не зменшують наукової та практичної цінності роботи.

Загальний висновок. Таким чином, дисертаційна робота Постовойтової Анастасії Сергіївни «Поліморфізм довжини інтронів генів актину як ефективний інструмент внутрішньо- та міжвидової диференціації рослин», являє собою закінчену науково-дослідну роботу, яка містить рішення актуального завдання щодо визначення особливостей екзонно-інтронної структури генів актину та розробці на основі вивчення поліморфізму довжини інтронів даних генів підходу для диференціації та генотипування різних таксономічних груп рослин. Результати можуть мати застосування в генетиці та селекції сільськогосподарських рослин.

На підставі проведеного аналізу вважаю, що за своєю актуальністю, обсягом проведених досліджень, новизною, достовірністю отриманих результатів, обґрунтованістю висновків дисертаційна робота «Поліморфізм довжини інтронів генів актину як ефективний інструмент внутрішньо- та міжвидової диференціації рослин» відповідає вимогам до кандидатських дисертацій згідно з «Порядком присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів

від 24.07.2013 року № 657, а її автор Поставойтова Анастасія Сергіївна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

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



Н.Е. Волкова

09.01.2020 р.

Підпис Волкової Н.Е. засвідчую.

Інспектор



 І.А. Жубаленко