

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Карастан Ольги Михайлівни «Мікросателітні маркери в дослідженні генетичних ресурсів та селекції винограду *Vitis vinifera* L.», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук із спеціальності 03.00.22 – молекулярна генетика

**Актуальність теми.** Від рівня досліджень організації і мінливості геномів залежить прогрес в селекції рослин. Невід’ємною складовою сучасного селекційного процесу є використання молекулярних маркерів, зокрема, мікросателітних. Отже, актуальність теми наукових досліджень не викликає сумніву, так як дисертаційна робота присвячена оцінці молекулярно-генетичного поліморфізму мікросателітних локусів генотипів винограду. Для досягнення мети автором були сформульовані такі завдання: - дослідження поліморфізму мікросателітних локусів та оцінка їх придатності для диференціювання сортів та форм винограду; - аналіз походження зразків досліджуваної вибірки від заявлених батьківських форм; - визначення батьківського сорту у зразків винограду, отриманих в результаті запилення материнської форми сумішшю пилку; - оцінка основних показників генетичного різноманіття вибірки зразків колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова»; - оцінка поліморфізму мікросателітного маркера r3\_VvAGL11, зчепленого із ознакою безнасінності у винограду. 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 завдання 21.00.01.01.Ф «Дослідити характер генетичного різноманіття ознак та властивостей генотипів винограду різного походження та визначити напрямки адаптаційної мінливості» ПНД НААН «Виноградарство» (№ 0111U003735) та двостороннього українсько-болгарського проекту «Оцінка генетичного різноманіття винограду України та Болгарії за допомогою молекулярних маркерів».

**Оцінка обґрунтованості наукових положень, висновків, рекомендацій.** Дисертація Карастан О.М. 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 207 джерел. Матеріал викладений логічно на 207 сторінках, містить 31 таблицю та 25 рисунків.

У розділі «Огляд літератури» виконаний аналітичний огляд сучасної наукової літератури, що дозволило автору обґрунтувати актуальність, мету та завдання дисертаційної роботи. Автором охарактеризовано організацію ядерного геному винограду євразійського *Vitis vinifera* L., внутрішньо- та міжвидовий поліморфізм, особливості застосування різних типів молекулярних маркерів для вирішення певних завдань генетики та селекції цієї культури.

У розділі «Матеріали та методи досліджень» охарактеризовано рослинний матеріал – сорти, форми, гібридні сіянці винограду. Представлено достатньо широкий спектр сучасних молекулярно-генетичних методичних підходів.

У розділах 3-5 власних досліджень дисертантом наведено результати експериментальних робіт та їх первинний аналіз. Кожен з етапів роботи автор завершує обговоренням отриманих результатів та проміжними висновками. Визначено повний алельний склад дев'яти мікросателітних локусів сортів та перспективних форм селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова». Для аналізу походження показана придатність методу реконструкції алельного складу генотипів сортів шляхом використання мікросателітних профілів їх нащадків. Верифіковано родоводи 54 сортів та перспективних форм селекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» та деяких сортів закордонної селекції. Показана можливість використання мікросателітних маркерів для визначення батьківського компонента в геномі сортів та форм винограду, отриманих в результаті запилення материнської форми сумішшю пилку кількох сортів винограду. Оцінено поліморфізм та визначено нові межі варіювання алельних розмірів мікросателітного маркера r3\_VvAGL11, алель 198 п. н. якого пов'язаний із проявом ознаки безнасіненності у винограду. Виявлено існування, проаналізовано походження та успадкування фальш-позитивного алельного варіанту 198 п. н., не пов'язаного із проявом ознаки безнасіненності. Показана придатність маркера r3\_VvAGL11 для раннього добору безнасіненних рослин у гібридних популяціях за умов попереднього тестування батьківських сортів.

У розділі «Висновки» надано сім 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 Карастан О.М. є самостійним оригінальним дослідженням. Робота апробована на конференціях міжнародного та національного рівнів. Результати за темою дисертації опубліковано у 12 статтях (дві з яких входять до Thomson Scientific Master Journal List, одна – до бази даних Scopus); в розділі монографії; в ампелографічному атласі сортів винограду селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», у тезах чотирьох доповідей.

**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 вперше визначено повний алельний склад мікросателітних локусів VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62, ZAG79, VVMD32, VVMD36, VVMD25 сортів та перспективних форм винограду селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова. Вперше молекулярно-генетичними методами верифіковано родоводи 54 сортів та перспективних форм селекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». Вперше проведений аналіз генетичного різноманіття вибірки зразків колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» та визначені джерела рідкісних алелів мікросателітних локусів винограду. Вперше на вибірці сортів та форм колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» оцінений поліморфізм та визначено нові межі варіювання алельних розмірів мікросателітного маркера p3\_VvAGL11, алель 198 п. н. якого пов'язаний із проявом ознаки безнасінності у винограду. Виявлено існування, проаналізовано походження та успадкування фальш-позитивного алельного варіанту 198 п. н., не пов'язаного із проявом ознаки безнасінності.

**Практичне значення одержаних результатів.** Визначено алельний склад стандартного ряду мікросателітних локусів сортів та форм ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» з метою подальшого включення до міжнародних баз даних світових генетичних ресурсів винограду та захисту прав інтелектуальної власності на сорти винограду. Підтверджено діагностичну придатність мікросателітного маркера p3\_VvAGL11 для оцінки наявності або відсутності ознаки безнасінності у рослин гібридної комбінації F<sub>1</sub> ('Кобзар' ×

‘Русалка 3’) і рекомендовано його використання для раннього добору безнасінневих рослин у гібридних популяціях.

**Зауваження та побажання.** Принципових зауважень до дисертаційної роботи немає. Але робота не позбавлена деяких недоліків. Під час аналізу виникли певні запитання та зауваження до здобувача.

Невдалі вирази: «...зразків винограду міжвидового походження з *V. amurensis* Rupr. у складі геному» (стор. 5), «...праймерні пари до мікросателітних локусів залишаються незмінними...» (стор. 30), «...мікросателітних маркерів, зчеплених із окремими агробіологічно важливими показниками...» (стор. 30). По всій дисертації – вираз «маркер, зчеплений з ознакою», але ж маркер може бути зчеплений з цільовим геном або локусом хромосоми...

#### *Розділ «Матеріали і методи»*

Не вказано кількість повторів екстрагування ДНК.

З якою метою вказані кольори для флуоресцентних барвників «...(FAM – синій, ROX – червоний, HEX – зелений, TAMRA – чорний)...» (стор. 58)? Що вони означають - область спектру, де характерна емісія для даного флуорофора?

Правильна аббревіатура флуорофора тетраметилродаміну - TAMRA або TMR. Вказано TAMRA (стор. 58).

Не вказано ліцензії на комп’ютерні програми.

Для характеристики алелів коректніше використовувати слово «розмір», а не «довжина». Довжина — відстань від точки до точки вздовж деякої лінії...

#### *Розділи власних досліджень*

Не вказано одиниці вимірювання «концентрації продукту ампліфікації у пробі» на рис. 3.1. (Це - умовні одиниці?).

Доцільно було б провести кластерний аналіз за даними ампліфікації алелів мікросателітних локусів для розподілу генотипів та оцінки їх походження.

Чи існувало явище «зсуву відносного розміру алеля» при оцінці алелів безнасінневості r3\_VvAGL11? Якщо так, чи враховували його?

Чи є інформація про сиквенування 198 п.н.-алелів r3\_VvAGL11? Можливо співпадіння за розміром, але різниця за послідовністю цих алелів.

Вважаю некоректними посилання [4], [36] (стор. 116). Необхідно посилатися на основоположні роботи в галузі генетики популяцій, зокрема, рослин, а не на вузькоспеціалізовані роботи з генетики людини та коней.

На мій погляд, порівняння профілів сортів з можливими батьками з розділу «Молекулярно-генетичний поліморфізм мікросателітних локусів сортів та форм



винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВІВ імені В. Є. Таїрова» та порівняння генотипів і можливих батьків з розділу «Мікросателітний аналіз родоводів сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВІВ імені В. Є. Таїрова» по суті - одне й те саме. Можливо доцільніше було б об'єднати їх в одному розділі.

Назви сортів вказано у невідповідності до Міжнародного кодексу номенклатури для культурних рослин, а саме: назви сортів мають бути відокремлені у тексті одинарними лапками.

Немає розшифровок аббревіатур OIV (стор. 24), ТБЕ, APS, TEMED (стор. 60).

Сформовані зауваження не зменшують наукової та практичної цінності роботи.

**Загальний висновок.** Таким чином, дисертаційна робота Карастан Ольги Михайлівни «Мікросателітні маркери в дослідженні генетичних ресурсів та селекції винограду *Vitis vinifera* L.» являє собою закінчену науково-дослідну роботу, яка містить рішення актуального завдання щодо визначення алельних характеристик мікросателітних локусів винограду. 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 «Мікросателітні маркери в дослідженні генетичних ресурсів та селекції винограду *Vitis vinifera* L.» відповідає вимогам до кандидатських дисертацій згідно з «Порядком присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів від 24.07.2013 року № 657, а її автор Карастан Ольга Михайлівна 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

18.05.2020 р.

Підпис Волкової Н.Е. засвідчую.



Землю з картів  
"Котекна Україна Лімітед"  
Г.А. Ігбаши 18.05.2020