

## **ВІДГУК**

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Бакуми Алли Олексіївни

**«Генетичний поліморфізм по локусах *Ppd* та фотоперіодична чутливість сучасних українських сортів м'якої пшениці»,**

подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика

**Актуальність теми дисертації.** Складний процес розвитку пшениці у значній мірі визначається алельною різноманітністю генів, які регулюють чутливість до фотоперіоду (*Ppd*) і потребу в яровизації (*Vrn*). Молекулярні основи генетичного контролю колосіння і цвітіння у пшениці широко вивчались, але все ще існує значна невизначеність щодо фенотипової реакції рослин пшениці через інтерактивний вплив залучених генів. Оптимальне поєднання алелів цих генів грає основну роль у формуванні фенологічних типів рослин, найбільш придатних і адаптованих до конкретних агрокліматичних регіонів. Дисертаційну роботу Бакуми А.О. присвячено вивченню генів *Ppd-1*, які визначають фотоперіодичну чутливість рослин пшениці, які впливають на тривалість періоду «сходи-колосіння» та пов'язані зі скоростиглістю, стійкістю до посухи та врожайністю. Цілеспрямоване використання у селекційних програмах домінантних та рецесивних алелів генів *Ppd* стримується складністю визначення генотипів за фенотиповим проявом зазначених ознак. У зв'язку з цим виникає необхідність використовувати методи молекулярно-генетичного аналізу. На теперішній час не проведено визначення алелів генів *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1* в генотипах багатьох сучасних сортів пшениці м'якої озимої, створених у провідних селекційних центрах, які розташовані на території Лісостепу, Степу та Полісся. Проте, інформація про алельний стан генів *Ppd-1* в генотипах

місцевих сортів пшениці, про вплив алелів генів *Ppd-1* на тривалість розвитку і агрономічні ознаки пшениці м'якої озимої можуть стати для селекціонера інструментом точного налаштування фенотипу для конкретних агроекологічних умов. Відповідно, метою дослідження було проаналізувати генетичний поліморфізм та визначити алелі за генами *Ppd-1* у сучасних сортів та ліній м'якої пшениці, оцінити ефекти алелів *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* на темпи розвитку та агрономічні ознаки м'якої пшениці.

Дисертаційну роботу виконано на кафедрі генетики та молекулярної біології біологічного факультету Одеського національного університету імені І. І. Мечникова в рамках науково-дослідної теми «Поліморфізм локусів фотоперіодичної чутливості сортів пшениці і сої та залежність їх продуктивності від алельного складу локусів за даними ПЛР-аналізу» (№ ДР 0117U001114, 2017-2019 рр.).

**Структура роботи.** Текст дисертації викладено на 185 сторінках, включаючи 18 таблиць, 19 рисунків та 10 додатків. Дисертація побудована за традиційною схемою та складається з наступних розділів: вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, експериментальна частина, узагальнення результатів, висновки та список використаних літературних джерел, який представлений 198 джерелами.

**Новизна дослідження та одержаних результатів.** За допомогою ПЛР аналізу з алель-специфічними праймерами було визначено алелі генів системи *Ppd-1* та гаплотипний склад за геном *Ppd-D1* у 94 сучасних сортів пшениці м'якої озимої з різних селекційних установ розташованих на території Полісся, Лісостепу, Південного та Північного Степу України. Досліджено географічний розподіл сортів – носіїв певних алелів та гаплотипів гену *Ppd-D1* по агрокліматичним зонам України та створено базу даних досліджених сортів пшениці за алелями генів *Ppd-1*.

Вперше на спеціально створеному генетичному матеріалі – майже-ізогенних лініях пшениці ВС<sub>7</sub> Кооператорка та Кооператорка рання та лініях-

аналогах ВС<sub>7</sub> Степняк 1 та Степняк 1 ранній оцінено вплив алелів *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* на агрономічні ознаки та темпи розвитку пшениці, статистично доведено ефекти алелів на 11 агрономічно важливих ознак пшениці в умовах Південного степу України та на фотоперіодичну чутливість в умовах Лісостепу.

**Практичне значення одержаних результатів.** За результатами дисертаційної роботи створено базу даних сучасних сортів пшениці різних селекційних установ України за алелями генів фотоперіодичної чутливості *Ppd-1*. Ця інформація може бути використана селекціонерами у схрещуваннях для отримання нових сортів з прогнозованими темпами розвитку.

Доведено ізогенність ліній Кооператорка та Кооператорка рання, які запропоновано використовувати в дослідженнях для оцінки впливу алелів гену *Ppd-D1* на стійкість пшениці до абіотичних стресів.

Одержані у дисертаційній роботі дані впроваджені у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції і насінництва пшениці озимої Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла та Інституту зрошуваного землеробства НААН України.

**Вступ** до роботи відповідає існуючим вимогам ДАК та містить необхідну інформацію про актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами, мету, завдання та методи дослідження. У розділі висвітлено наукову новизну одержаних результатів та їхнє практичне значення, особистий внесок здобувачки та наведено дані про апробацію результатів дисертації.

Розділ «**Огляд літератури**» складається з чотирьох підрозділів, які присвячені аналізу літературних джерел. Зміст цього розділу за розкритими питаннями відповідає темі дисертації. Описано молекулярну структуру генів *Ppd-D1*, *Ppd-A1*, *Ppd-B1* та поліморфізми їх нуклеотидної послідовності, які пов'язані з проявом різного рівня чутливості до фотоперіоду, охарактеризовано генетичні механізми, що детермінують тривалість періоду «сходи-колосіння» у рослин пшениці м'якої озимої. Висвітлено поширення

алелів генів *Ppd-1* в сортах пшениці м'якої озимої в різних географічних областях та проаналізовано вплив системи генів *Ppd-1* на адаптивний потенціал сортів пшениці для певних умов вирощування. Представлений аналіз наукових літературних джерел доводить актуальність обраної теми та дозволяє обґрунтувати поставлені у роботі дослідницькі завдання.

У другому розділі «**Матеріали і методи досліджень**» наведено перелік рослинного матеріалу, детально описані лабораторні та статистичні методи, використані при виконанні роботи. Експериментальна частина роботи виконана із залученням низки сучасних молекулярно-генетичні методів досліджень, підбір яких відповідає досягненню поставлених задач. Серед них - виділення геномної ДНК, алель-специфічна та вкладена ПЛР, мікросателітний аналіз, IPBS- та RAPD-аналіз, електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному та поліакриламідному гелях. Для статистичної обробки отриманих даних застосовано дисперсійний і дискримінантний аналіз. Аналіз цього розділу свідчить про достатню методичну підготовку дисертантки.

У третьому та четвертому розділах дисертантом наведено результати власних досліджень та їх аналіз.

Розділ 3 «**Поліморфізм за генами фотоперіодичної чутливості сучасних українських сортів та ліній пшениці м'якої озимої**» складається з чотирьох підрозділів і містить дані стосовно алельної різноманітності за генами фотоперіодичної чутливості *Ppd-1* і гаплотипного складу за геном *Ppd-D1* в наборі генотипів пшениці м'якої озимої, створених для вирощування у Поліссі, Лісостепу та Степу України. Показано, що всі досліджені сорти є носіями рецесивних алелів *Ppd-A1b* і *Ppd-B1b*, які визначаються відсутністю маркерної делеції 1085 нп і інсерції 308 нп в промоторних регіонах, відповідно. Лише у генотипі сорту пшениці м'якої озимої Антонівка було виявлено три копії *Ppd-B1* по типу Sonora64. Локус *Ppd-D1* виявився поліморфним: співвідношення генотипів з домінантним, рецесивним алелями

і гетерогенних за локусом *Ppd-D1* становило 90%, 8% і 2%, відповідно. Найбільш поліморфними за гаплотипним складом гену *Ppd-D1* виявились генотипи сортів Лісостепової зони: детектовано VII (91 %), III (5 %), IV (3 %) та II (1 %) гаплотипи. Співставлення даних молекулярно-генетичного аналізу з результатами дослідження по вивченню фотоперіодичної чутливості сортів пшениці м'якої озимої показало, що сорти з домінантним алелем *Ppd-D1a* в генотипі виявляли слабку та середню чутливість до фотоперіоду, а сорти з рецесивним генотипом мали сильну реакцію на скорочення довжини дня.

У розділі 4 «**Вплив алеля *Ppd-D1a* на темпи розвитку та агрономічні ознаки пшениці, визначений із застосуванням майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів**», який складається з п'яти підрозділів, дисертанткою на спеціально створеному генетичному матеріалі – майже-ізогенних лініях Кооператорка та Кооператорка рання і лініях-аналогах Степняк 1 та Степняк 1 ранній – з'ясовано вплив алелів *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* на тривалість періоду «сходи – колосіння» та на агрономічні ознаки рослин пшениці. У ліній було перевірено рівень ізогенності, визначено алельний стан генів системи *Ppd-1*. За допомогою молекулярно-генетичного аналізу (RAPD, IPBS, SSR, алель-специфічної ПЛР) та з урахуванням схем схрещування та доборів доведено, що лінії Кооператорка – Кооператорка рання є майже-ізогенними і відрізняються алелями *Ppd-D1b* та *Ppd-D1a*, а лінії Степняк 1 – Степняк 1 ранній є лініями-аналогами і відрізняються алелями *Ppd-D1b* / *Ppd-D1a* й *Rht8a* / *Rht8c*. На близько-ізогенних лініях Кооператорка - Кооператорка рання та лініях-аналогах Степняк 1 та Степняк 1 ранній показано, що в умовах Півдня України алель *Ppd-D1a*, незалежно від генофону, достовірно прискорює тривалість періоду до колосіння на 5,8 діб, скорочує висоту рослин на 17,6 см, зменшує довжину колоса на 1 см, збільшує кількість зерен у колосі на 3,7 шт., масу зерен з рослини на 2,5 г. На генетичних фонах сортів Кооператорка та Степняк виявлено, що серед одинадцяти агрономічних ознак, які увійшли в дискримінантну модель варіювання, ознаки тривалість періоду до колосіння та висота рослин краще за все розмежують *Ppd-D1* генотипи між собою.

**Обґрунтованість і достовірність наукових результатів і висновків.**

Застосовані у роботі теоретичні підходи та лабораторні методи адекватні поставленим задачам. Отримані результати мають достатню експериментальну відтворюваність, а зроблені у дисертації висновки логічно витікають із отриманих автором даних.

**Повнота викладення основних результатів досліджень у наукових фахових виданнях.** За матеріалами дисертації оприлюднено 21 наукову працю, з яких 7 статей у фахових виданнях та 14 тез доповідей на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях.

**Автореферат** достатньо повно відображає одержані експериментальні результати і основний зміст роботи та повністю відповідає основним положенням дисертації.

Проте, незважаючи на високий науковий рівень проведених досліджень, робота містить і деякі **недоліки та упущення**:

1. В роботі (навіть у огляді літератури) авторка не аналізує інші гени *Ppd*, які виявлені в геномі пшениці, не наводить їх хромосомної локалізації, не обговорює їх вплив на варіювання темпів розвитку пшениці.

2. Авторка розглядає систему генів *Ppd* відокремлено від системи генів *Vrn*, хоча в огляді літератури вона вказує, що обидві системи взаємодіють і впливають на темпи розвитку пшениці.

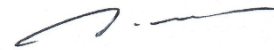
3. Постає питання, чому за локусом *Ppd-A1* детектували наявність тільки одного доміантного алеля, для якого характерна делеція 1085 нп в промоторному регіоні, хоча в огляді літератури авторка вказує, що у геномі *A* пшениці на даний час виявлено чотири доміантні алеля, асоційовані з нейтральною реакцією на фотоперіод?

4. Чому результати ПЛР-аналізу не було, хоча б частково, підтверджено секвенуванням?

В цілому вказані недоліки не знижують загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

**Загальний висновок.** Дисертаційна робота Бакуми А. О. є закінченою, цілісною та самостійною науковою працею. За своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів дисертація відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів» (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р., № 567 від 27.07.2016 р., № 943 від 20.11.2019 р., № 607 від 15.07.2020 р.), паспорту спеціальності 03.00.22 — молекулярна генетика, а її автор, Бакума Алла Олексіївна, заслуговує на присудження їй наукового ступеню кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.22 — молекулярна генетика.

Зав. кафедри молекулярної генетики та біотехнології  
Інституту біології, хімії та біоресурсів  
Чернівецького національного університету  
ім. Юрія Федьковича  
доктор біологічних наук, професор,  
заслужений діяч науки і техніки України



Р. А. Волков

