

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу ЛАНКАСТЕР Юлії Миколаївни на тему: «Вихідний матеріал для селекції кабачка (*Cucurbita pepo* L.) з високим адаптивним потенціалом та з генами стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV)» представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 20 Аграрні науки та продовольство за спеціальністю 201 Агрономія

Актуальність теми. Кабачок (*Cucurbita pepo* L.) – одна із популярних і дуже цінних культур, відноситься до роду *Cucurbita* родини Гарбузові (*Cucurbitaceae*). Вітчизняні сорти і гібриди F₁ кабачка відзначаються добрими смаковими якостями плодів, але більшість з них не достатньо задовольняють потреби населення і консервної промисловості через низьку продуктивність та короткий період технічної стиглості. Значний внесок у створенні вітчизняного сортименту даної овочевої культури належить Лісіцину В. М., Сергієнко О. В., Катаєвій Т. Є., Лимару А. О., Паламарчуку І. І. та іншим українським селекціонерам. Усі сорти і гібриди F₁ мають певні господарсько-цінні властивості, але, на жаль, не мають адаптивного потенціалу за комплексом важливих кількісних ознак та стійкістю до біотичних факторів. Основними лімітуючими чинниками є ураження фітовірусними інфекціями, які призводять до значних втрат урожайності від 45 до 80 %. Останніми роками серед існуючих фітовірусів в Україні найбільшого розповсюдження на гарбузових овочевих видах рослин набув вірус жовтої мозаїки кабачка (ZYMV).

Виходячи з наведеного вважаю, що тема дисертаційної роботи Ланкастер Ю.М. є надзвичайно актуальною, тому що до теперішнього часу в Україні дослідження в області фітопатогенної стійкості кабачка на генному рівні взагалі ще не проводилися. За їх допомогою стане можливим значно оптимізувати селекційні програми у бік прискореного створення нового вірусостійкого вихідного матеріалу кабачка та інших овочевих культур родини Гарбузові (*Cucurbitaceae*).

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дослідження за темою дисертаційної роботи виконано в Інституті овочівництва і баштанництва НААН впродовж 2017–2020 рр. згідно з тематичним планом науково-дослідних робіт у 2016–2020 рр. за завданням 18.00.01.01.Ф “Розробити методіку прискореного

створення сортів і гібридів пасльонових і гарбузових культур” (номер державної реєстрації 0116U000285) та завданням 18.00.01.38 ПШ “Розроблення моделі прогнозу оптимальних пар батьківських компонентів для схрещування у синтетичній селекції кабачка (*Cucurbita pepo* L.) на основі молекулярного маркування” (номер державної реєстрації 0118U003226) згідно ПНД 18 “Овочівництво і баштанництво”.

Мета дослідження. Метою досліджень була розробка елементів маркерно-асоціативної селекційної технології створення вихідного матеріалу кабачка з наявністю гена стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV) та високим адаптивним потенціалом до стресових факторів навколишнього середовища.

Основні наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані в дисертації, їх новизна, рівень обґрунтованості та достовірності.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у вирішенні важливої наукової проблеми щодо оптимізації селекційного процесу створення ліній кабачка з поєднанням високого адаптивного потенціалу за кількісними ознаками, які визначають продуктивність і якість плодів та генетичний контроль рівня експресії гена стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка.

Вперше в Україні досліджено поліморфізм еукаріотичного транскрипційного фактору *eIF4E* у різних представників родини *Cucurbitaceae*, та розроблено діагностичні праймери. Вивчено внутрішньовидовий молекулярно-генетичний поліморфізм кабачка за допомогою ISSR аналізу та виявлено унікальні фрагменти ДНК, які можуть бути використані для паспортизації відповідних зразків. Створено стресотолерантний лінійний матеріал кабачка різного географічного походження для проведення адаптивної селекції в умовах агрокліматичної зони вирощування Східного Лісостепу України. Набули подальшого розвитку теоретичні і практичні аспекти формування генної стійкості кабачка до вірусних хвороб в аспекті розробки маркерно-асоціативної сортової і гібридної селекції даної овочевої рослини.

Практичне значення одержаних результатів. Полягає у визначенні рівня генетичної дивергенції у різних видів та родів рослин, споріднених до кабачка, на

основі біоінформаційного методу, доведено генетичну близькість видів *Cucurbita moschata* і *Cucurbita maxima*, а також *Momordica charantia*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis sativus*, *Cucumis zeyherii* і *Cucumis melo* до виду *Cucurbita pepo*. Виділені цінні джерела для адаптивної селекції кабачка та удосконалено методичні підходи щодо створення вихідного матеріалу кабачка за комплексом важливих господарських ознак. Визначено ступінь гомології гена еукаріотичного транскрипційного фактору *eIF4E*, який відіграє ключову роль у формуванні стійкості кабачка до шкочочинних вірусів родини *Potyvirus*. Розроблено дизайн праймерів до повного екзону та внутришньоекзонної послідовності гена *eIF4E* для оцінки його експресії. Тестування праймерів дозволило ідентифікувати цільові амплікони розміром 143 та 830 п.н.

Створено і передано до генетичного банку рослин 6 ліній кабачка, на 3 з яких одержані Свідоцтва реєстрації зразка в НЦГРРУ за №№ 2210, 2211, 2212 від 18.12.2020 р. У співавторстві здобувачем розроблено методичні рекомендації “Кабачок (*Cucurbita pepo* L.). Молекулярно-генетичний метод диференціації селекційно-цінних генотипів за допомогою аналізу міжмікросателітних локусів”. Результати дисертаційних досліджень висвітлено у колективній монографії “Досягнення України і ЄС в екології, біології, хімії, географії та сільськогосподарських науках”. Основні положення дисертаційної роботи, розроблені методичні рекомендації та колективну монографію використано в навчальному процесі в Інституті овочівництва і баштанництва НААН для підготовки аспірантів. Створений вихідний матеріал (20 ліній) впроваджено у селекційні програми ІОБ НААН.

Достовірність одержаних результатів визначається високим науково-методичним рівнем польових і лабораторних досліджень. Одержані результати обґрунтовані та статистично оброблені із використанням варіаційного, дисперсійного, кореляційного аналізів та визначення показників комбінаційної і адаптивної здатності.

Автором дисертаційної роботи розроблено програму і схему досліджень, проаналізовано експериментальні дані, сформульовано достовірні наукові

положення, висновки та пропозиції для селекційної практики та аграрного виробництва.

Повнота викладення наукових положень, висновків та рекомендацій в опублікованих працях. За темою дисертації опубліковано 24 наукові праці, з яких 1 розділ у колективній монографії, 6 статей у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у іноземному науковому фаховому виданні, 1 науково-методична рекомендація, 12 тез наукових конференцій, 3 свідоцтва на зразок генофонду рослин України. В опублікованих працях достатньо повно висвітлено результати досліджень за основними положеннями дисертаційної роботи. Обсяг друкованих праць та їх кількість відповідають вимогам МОН України щодо висвітлення основних положень дисертаційної роботи в наукових виданнях.

Оцінка змісту дисертаційної роботи, її завершеність. Дисертаційну роботу викладено на 286 сторінках комп'ютерного тексту, в тому числі основного тексту 186 сторінок, вона ілюстрована 47 таблицями та 27 рисунками. Робота містить анотацію, вступ, 7 розділів, висновки, рекомендації для селекційної практики, 8 додатків. Список використаних джерел налічує 265 найменувань, у т. ч. 82 латиницею. Структура дисертаційної роботи є логічною і цілісною, поставлена мета та послідовне вирішення завдань досліджень дозволили отримати експериментальні дані, сформулювати конкретні висновки та рекомендації для селекційної практики.

У вступі аргументована актуальність наукових досліджень, сформульовані мета і задачі досліджень, висвітлені наукова новизна та практичне значення одержаних результатів, об'єкт і предмет наукових досліджень та особистий внесок здобувача у вирішенні цих питань.

У розділі 1 “Проблемні питання сучасної селекції (*Cucurbita pepo* L.) та шляхи їх розв'язання (огляд літератури)” здобувачем проаналізовано наукові роботи зарубіжних та вітчизняних вчених з питань походження, ботанічної класифікації, морфологічних особливостей кабачка та визначено досягнення та проблемні питання сучасної селекції культури. Розглянуто питання молекулярно-біологічної характеристики вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV) та бази даних з геноміки рослин з біоінформаційним оглядом роду *Cucurbita* в них щодо наявності генів стійкості та обґрунтовано напрямки проведення досліджень.

У розділі 2 “Умови, матеріал та методи досліджень” наведено характеристику ґрунтово-кліматичних умов проведення польових досліджень, визначено їх сприятливість для росту і розвитку рослин кабачка. Наведено матеріал досліджень та надано характеристику низки вихідних зразків. Розділ містить інформацію щодо використаних для аналізу експериментальних даних розрахунків та методів. Зокрема, проведення досліджень та оцінку достовірності отриманих результатів здійснювали з використанням польових, лабораторних, генетичних та математико-статистичних методів, що у кінцевому підсумку надало можливість зробити аргументовані висновки. Отже, наведені у Розділі 2 матеріали у повній мірі висвітлюють методичні аспекти проведення експериментальних досліджень, що свідчить про достовірність отриманих результатів.

У розділі 3 “ Генетичний аналіз зразків кабачка різного географічного походження на присутність гена стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка” надано результати лабораторної оцінки ступеню стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка та інтенсивності розвитку хвороби у лінійних і гібридних зразків, що дозволило їх більш детально розподілити за ступенем стабільності протікання симптомів хвороби. Біоінформаційні методи дозволили визначити ступінь гомології гена еукаріотичного транскрипційного фактору eIF4E та рівень генетичної дивергенції у різних видів та родів рослин, споріднених до кабачка. На основі референсної послідовності XM_023685756.1 розроблено дизайн праймерів до повного екзону та внутрішньоекзонної послідовності гена eIF4E для оцінки його експресії.

У розділі 4 “ Дослідження генетичного поліморфізму зразків кабачка (*Cucurbita pepo* L.) методом ISSR аналізу” наведено експериментальні дані з аналізу інформативних можливостей відібраних ISSR праймерів. За результатами молекулярно-генетичного аналізу колекції кабачка ідентифіковано 129 ISSR-локусів, серед яких 109 були поліморфні. Ідентифіковано унікальні ділянки ДНК, які можуть бути використані для розробки більш специфічних маркерів, а також як маркери відповідних генотипів. Встановлено, що внутрішньопопуляційний поліморфізм ДНК досліджуваної колекції кабачків залежав від генотипу і в середньому становив 58,9 %. За результатами розрахунку генетичних відстаней Нея, Лі встановлено незначну генетичну дивергенцію між

колекційними зразками *Cucurbita pepo* L. За результатами проведеного кластерного аналізу на основі методу Neighbor joining встановлено, що уся вибірка генотипів кабачка кластеризувалися на дві групи, що дозволило провести прогноз оптимальних пар батьківських компонентів для схрещування.

У розділі 5 “Дослідження лінійних зразків кабачка на стабільність прояву кількісних ознак та фенофаз розвитку рослин в агрокліматичних умовах східного лісостепу України” надано експериментальні результати щодо вивчення адаптивних властивостей ліній кабачка за проявом кількісних ознак, які є структурними компонентами урожайності; прояву біохімічних ознак, що визначають споживчу цінність плодів у фазі технічної стиглості та рівня польової стійкості до збудників хвороб; тривалості фенологічних фаз розвитку рослин та кореляційних зв'язків між гідротермічним коефіцієнтом (ГТК) та цінними господарськими ознаками. Підтверджено можливість відбору для селекційного процесу потенційно стійких генотипів кабачка до вірусу жовтої мозаїки за кореляційними зв'язками по відношенню до прояву інших хвороб, які мали місце у польових умовах. Найвищий рівень кореляційного зв'язку ($-0,59 < r < 1,0$) простежується у випадку порівняння ступеня розвитку борошнистої роси та симптомів ураження вірусом жовтої мозаїки

У розділі 6 “Адаптивний потенціал гібридних зразків кабачка різного географічного походження за комплексом цінних кількісних ознак для селекції” висвітлені результати оцінки адаптивних властивостей гібридів F_1 кабачка різного географічного походження за проявом кількісних ознак, які є структурними компонентами урожайності. Зокрема, за показниками: загальної і товарної урожайності виділено по три гібриди, за адаптивністю – п'ять гібридів, за середньою масою плоду - два гібрида, за вмістом загального цукру – шість гібридів, за вмістом вітаміну С – три гібриди, за вмістом сухої речовини ні один гібрид не перевищував стандарт та виділено один гібрид – Celeste F_1 за загальною стійкістю до хвороб. Підтверджено можливість відбору для селекційного процесу потенційно стійких гібридів F_1 кабачка до вірусу жовтої мозаїки за кореляційними зв'язками по відношенню до прояву інших хвороб, які мали місце у польових умовах. Виділено групу з п'яти гібридів F_1 , які мали високу залежність прояву кількісних ознак від погодних умов (сильний або дуже сильний кореляційний

зв'язок з ГТК за їх більшою кількістю, і у меншій мірі, середній кореляційний зв'язок за одною або за двома ознаками). Виділено групу з шести гібридів F₁, у яких з'являються одна чи дві кількісні ознаки, які з ГТК утворювали слабкі кореляційні зв'язки або такий зв'язок був повністю відсутнім. Тоді як зв'язки ГТК з іншими ознаками були від середніх до дуже сильних.

У розділі 7 “Науково-практичний вихід досліджень зі створення лінійного матеріалу для адаптивної селекції кабачка висвітлені результати оцінки новоствореного селекційного матеріалу кабачка. Наведено детальну характеристику створених ліній, які передано до національного генетичного банку рослин України. У розділі також представлено розроблені методичні рекомендації у яких викладено принципи молекулярно-генетичної диференціації кабачка на основі використання техніки ISSR-ПЛР – “Кабачок (*Cucurbita pepo* L.). Молекулярно-генетичний метод диференціації селекційно-цінних генотипів за допомогою аналізу міжмікросателітних локусів”.

Поряд з позитивною характеристикою дисертаційної роботи Ланкастер Юлії Миколаївни, вона як і будь-яка творча наукова праця не позбавлена недоліків, які можуть слугувати підґрунтям для наукової дискусії та вдосконалення:

Дискусійні положення та зауваження щодо дисертаційної роботи. Позитивно оцінюючи дисертаційну роботу Ланкастер Юлії Миколаївни, рівень актуальності, новизни і практичного значення, а також повноту викладення матеріалу, можна відмітити окремі недоліки, які потребують пояснення автора у порядку дискусії та побажань:

1. По тексті дисертації зустрічаються друкарські помилки (на стор. 18, 23, 24, 25 та багато інш.).
2. Перелік умовних скорочень бажано було б доповнити такими аббревіатурами як матрична РНК, вірус жовтої мозаїки (ZYMV), маркер-асоційована селекція як на українській так і на англійській мовах та інш.
3. В Анотації на 4-5 сторінках у вислові «за рівнем сили кореляційного зв'язку між гідротермічним коефіцієнтом (ГТК) та тривалістю даної фенологічної фази» бажано або конкретизувати фазу, або, що доречніше, замінити вислів.

4. Висновки до розділу 1 бажано скоротити пункти 2, 3 та 4, а п.3 бажано скорегувати, використовуючи селекційну термінологію.
5. У методиці не зрозуміло яка площа облікових ділянок.
6. У Розділі 3 є завдання дослідити особливості ураження ліній і гібридів F_1 іноземного походження вірусом жовтої мозаїки кабачка у лабораторних умовах, але у висновках не зрозуміло, які саме особливості ураження досліджувалися окрім ступеня ураження зразків, можливо, не зовсім коректно поставлене завдання
7. Перший або третій розділ бажано доповнити фотографіями рослин, уражених вірусом і вказати, за якими особливостями прояву можливо зробити у польових умовах припущення, що рослини вражені саме вірусом жовтої мозаїки кабачка
8. В 4 Розділі в таблицях цифровий матеріал бажано подавати з однаковою розрядністю. Як і в наступних розділах, спочатку обговорення, а потім табл. або рис. А бажано навпаки. В п.5 висновків до розділу, не зрозуміло, спочатку сказано, що бажано до схрещувань залучати філогенетично віддалені зразки, а потім перераховуються філогенетично наближені пари . Можливо, необхідно змінити формулювання висновку.
9. 5 і 6 розділи. Дуже багато висновків (18 та 17). У висновках перераховуються зразки, які виділено за різними ознаками. Не несуть аналітики. Бажано доопрацювати, скоротити. Не зрозумілі кореляційні зв'язки, як і в Анотації (п. 3 цих зауважень)
10. В 7 розділі отримані лінії порівнюють зі стандартом сортом Чаклун, але за зовнішніми ознаками вони належать до форм кабачки-цукіні, згідно з матеріалами першого розділу цієї роботи, до якої не належить сорт Чаклун.

Слід зауважити, що відмічені вище недоліки не є принциповими та не знижують високу наукову та практичну цінність дисертаційної роботи.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності. Рукопис дисертаційної роботи Ланкастер Юлії Миколаївни перевірено безкоштовним сервісом перевірки на плагіат онлайн "Unicheck". Рівень оригінальності тексту є 85,9 %. За перевіркою посилань комп'ютерною програмою визначено наявність окремих співпадінь з власними публікаціями, термінологією, посиланнями на

бібліографічні джерела інформації, загальноживаними словосполученнями. Під час вивчення матеріалів дисертації, аналізу наукових публікацій автора не було виявлено ознак порушення академічної доброчесності, а саме академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації та фальсифікації результатів дослідження. Таким чином, дисертаційна робота Ланкастер Юлії Миколаївни визначається самостійною оригінальною працею та не містить порушень академічної доброчесності.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Ланкастер Юлії Миколаївни “Вихідний матеріал для селекції кабачка (*Cucurbita pepo* L.) з високим адаптивним потенціалом та з генами стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV)” є завершеною науковою працею, яка виконана на високому науково-методичному рівні, вирішує наукове питання теоретичного обґрунтування та практичного вирішення завдання по оптимізації селекційного процесу кабачка з поєднанням високої адаптації за кількісними ознаками зі стійкістю до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV). Враховуючи актуальність, наукову новизну і практичну цінність дисертаційної роботи, ступінь впровадження у науковий процес і виробництво, дисертаційна робота відповідає Постанові Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року №44 щодо здобуття ступеня доктора філософії та вимогам до оформлення дисертаційних робіт, затвердженим наказом МОН України №40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», і може бути представлена до захисту в разовій спеціалізованій вченій раді, а її автор Ланкастер Юлія Миколаївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії зі спеціальності 201 – Агронія галузі знань 20 – Аграрні науки та продовольство.

Рецензент

старший науковий співробітник

лабораторії генетики, генетичних ресурсів та біотехнології

Інституту овочівництва і баштанництва НААН

кандидат с.-г. наук, с. н. с.



Наталя БАШТАН

Підпис Н. О. Баштан засвідчую:

завідувач відділу кадрів ІОБ НААН

03.11.2022 р.




Ірина ВОЛОШИНА