

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора сільськогосподарських наук
старшого наукового співробітника Васько Наталії Іванівни
на дисертаційну роботу **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)», подану на здобуття ступеня доктора філософії
за спеціальністю 201 – Агрономія (Аграрні науки та продовольства).

Обґрунтування вибору теми дослідження. Тему дослідження було обрано виходячи з того, що кабачок є цінною овочевою культурою з високими харчовими, дієтичними і лікарськими властивостями. Вітчизняні сорти і гібриди F₁ кабачка відзначаються добрими смаковими якостями плодів, але більшість з них не достатньо задовольняють потреби населення і консервної промисловості, тому дослідження спрямовано на створення ранньостиглих, з неперезріваючими плодами сортів і гібридів F₁ кабачка з компактним габітусом куща, високим урожаєм на рівні 40–45 т/га, вегетаційним періодом до настання технічної стиглості 40–42 доби, тривалим періодом плодоношення, вмістом сухої речовини до 8 %, вмістом вітаміну С на рівні 15 мг/100 г. Це є вимоги виробників та ринку до кабачків. До того ж, доцільно враховувати, що якість плодів кабачка залежить і від ураження хворобами, тому необхідними є створення стійких до розповсюджених хвороб сортів та гібридів. До таких хвороб відноситься і вірус жовтої мозаїки.

Для ефективного запобігання розповсюдження даного вірусу потрібно проводити інтенсифікацію селекційних програм по кабачку шляхом запровадження методів маркер-асоційованої селекції, в основу яких покладено наявність зчеплення або асоціації між ДНК-маркером та цільовим геном стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV).

Виходячи з наведеного вважаю, що тема дисертаційної роботи Ланкастер Ю.М. є надзвичайно актуальною, якість та конкурентоспроможність вітчизняних сортів та гібридів кабачка, в першу чергу, визначається умовами та

результатами пребридингу. Вдало підібраний та створений вихідний матеріал насамкінець визначає успіх селекційного процесу, призводить до створення стійких до ураження хворобами сортів та гібридів з комплексом цінних господарських ознак, що відповідає умовам здорового харчування, відповідає принципам продовольчої безпеки та насамкінець може підняти престиж вітчизняної аграрної науки в світі.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дослідження за темою дисертаційної роботи виконано в Інституті овочівництва 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 методику 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 та завдання дослідження. Метою досліджень є розробка елементів маркер-асоційованої селекційної технології створення вихідного матеріалу кабачка з наявністю гена стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV) та високим адаптивним потенціалом до стресових факторів.

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні основні **завдання** досліджень:

- створити робочу колекцію ліній і гібридів F_1 кабачка різного географічного походження з метою залучення у селекційний процес нової зародкової плазми;
- створити цінний вихідний матеріал кабачка з високим адаптивним потенціалом за комплексом ознак, що визначають продуктивність і якість овочевої продукції;
- дослідити молекулярно-генетичний поліморфізм ліній і гібридів F_1 кабачка різного географічного походження за міжмікросателітними локусами

ДНК (ISSR) та з'ясувати філогенез залучених генотипів з метою кращого добору потенційних пар для схрещування;

- провести диференціацію лінійного і гібридного матеріалу кабачка заступенем ураження вірусом жовтої мозаїки кабачка (ZYMV) у лабораторних умовах;

- розробити дизайн праймера для ідентифікації гена стійкості кабачка до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV) та на його основі провести детектування наявності даного гена у досліджуваних генотипів кабачка різного географічного походження;

- провести відбір носіїв гена стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV) та визначити їх основні цінні господарські властивості як вихідного матеріалу для селекції кабачка.

Об'єкт дослідження – маркер-асоційована селекція сортів та гібридів кабачка (*C. pepo* L.).

Предмет дослідження – визначення адаптивного потенціалу за комплексом цінних селекційних ознак ліній і гібридних зразків кабачка (*C. pepo* L.), молекулярно-генетичний поліморфізм кабачка, експресія гена стійкості кабачка до вірусу жовтої мозаїки кабачка (ZYMV).

Наукова новизна дисертаційних досліджень 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, пов'язаного із формуванням стійкості до патогенів родини Potyvirus. Розроблено діагностичні праймери до послідовностей мРНК, які кодують транскрипційний фактор *eIF4E* та проведено їх валідацію на досліджуваних генотипах кабачка.

Вивчено внутрішньовидовий молекулярно-генетичний поліморфізм кабачка за допомогою ISSR аналізу. Виявлено унікальні фрагменти ДНК, які можуть бути використані для паспортизації відповідних зразків, а також для розробки більш специфічних молекулярних маркерів.

Створено толерантний до стресів лінійний матеріал кабачка різного географічного походження для проведення адаптивної селекції в умовах агрокліматичної зони східного Лісостепу України. Виділено цінні джерела для адаптивної селекції кабачка за наступними показниками: загальна врожайність; загальна продуктивність однієї рослини; вміст у плодах вітаміну С та загального цукру сухої речовини; з комплексною стійкістю до хвороб і шкідників на рівні 7–9 балів за шкалою РЕВ.

Удосконалено методичні підходи щодо створення вихідного матеріалу кабачка з високим адаптивним потенціалом до абіотичних і біотичних факторів навколишнього середовища за комплексом важливих господарських ознак, які визначають продуктивність, ранньостиглість, період плодоношення, комплексну стійкість до борошнистої роси, бактеріозу, шкідника попелиці та до вірусних хвороб.

Набули подальшого розвитку теоретичні і практичні особливості формування генної стійкості кабачка до вірусних хвороб в аспекті розробки маркерно-асоціативної селекції сортів і гібридів кабачка.

Практичне значення одержаних результатів. На основі біоінформаційного методу визначено рівень генетичної дивергенції у різних видів та родів рослин, споріднених до кабачка, доведено генетичну близькість видів *C. moschata* і *C. maxima*, а також *Momordica charantia*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis sativus*, *C. zeyherii* і *C. melo* до виду *C. pepo*. Визначено ступінь гомології гена еукаріотичного транскрипційного фактору *eIF4E*, який відіграє ключову роль у формуванні стійкості кабачка до шкочинних вірусів родини Potyvirus. На основі референсної послідовності XM_023685756.1 розроблено дизайн праймерів до повного екзону та внутрішньоекзонної послідовності гена *eIF4E* для оцінки його експресії. Тестування праймерів дозволило ідентифікувати цільові амплікони розміром 143 та 830 п.н.

За результатами молекулярно-генетичного аналізу досліджуваної робочої колекції кабачків, яка складалася з 29 сортів і гібридів F₁ різного географічного походження, ідентифіковано 129 ISSR-локусів, серед яких 109 виявилися поліморфними. Ідентифіковано унікальні ділянки ДНК, які можуть бути використані для розробки більш специфічних маркерів, а також як маркери відповідних генотипів. Для дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму кабачка відібрано 13 високоінформативних ISSR-праймерів, які детектували рівень поліморфізму на рівні 62,5–100%.

Створено і передано до генетичного банку рослин шість ліній кабачка, на три з яких одержано Свідоцтва реєстрації зразка в НЦГРРУ. У співавторстві здобувачем розроблено методичні рекомендації “Кабачок (*Cucurbita pepo* L.). Молекулярно-генетичний метод диференціації селекційно-цінних генотипів за допомогою аналізу міжмікросателітних локусів”, також результати дисертаційних досліджень висвітлено у колективній монографії “Досягнення України і ЄС векології, біології, хімії, географії та сільськогосподарських наук”. Методичні рекомендації та монографію впроваджено у навчальний процес в Інституті овочівництва і баштанництва НААН для підготовки аспірантів та для використання у експериментальній роботі наукових співробітників.

Створений вихідний матеріал (20 ліній) впроваджено у селекційні програми ІОБ НААН.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем безпосередньо проаналізовано сучасний стан проблеми, розроблено робочі гіпотези, визначено напрями досліджень, методологію проведення експериментів, виконано лабораторні та польові дослідження, розроблено їх програму, статистично обчислено і узагальнено одержані дані, підготовлено матеріали до друку, сформульовано основні положення та висновки, розроблено рекомендації щодо їхнього практичного використання. Друковані праці за темою дисертації підготовлено самостійно або у співавторстві. Частка авторства у створених лініях становить 30 %, у спільних публікаціях – 40–70 %. Права співавторів не порушено. Внесок здобувача у публікаціях, виконаних у співавторстві, полягає у

постановці задачі, отриманні експериментальних даних та їх узагальненні, оформленні матеріалу.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 24 наукові праці, з яких один розділ у колективній монографії, шість статей у наукових фахових виданнях України, одна стаття в іноземному науковому виданні, одні науково-методичні рекомендації, 12 тез наукових конференцій, три свідоцтва на зразок генофонду рослин України.

Структура та обсяг дисертації. Дисертацію викладено на 286 сторінках тексту комп'ютерного набору, з них основного – 186 сторінок. Робота складається із анотації, вступу, семи розділів, висновків, рекомендацій для селекційної практики, списку використаних джерел, восьми додатків, містить 47 таблиць та 27 рисунків. Список використаних джерел налічує 265 найменувань, з них 82 латиницею.

Розділі 1 (огляд літератури) висвітлено походження, ботанічна класифікація, морфологічні особливості та споживчі властивості кабачка. Також розглянуто теоретичні і прикладні аспекти адаптивної селекції сільськогосподарських видів рослин, у тому числі кабачка. Наведено результати досліджень різних авторів з випробування генотипів за різних умов середовища, визначення їх загальної та специфічної адаптивної здатності, стабільності, селекційної цінності.

На основі проведеного аналізу наукових джерел встановлено значущість та своєчасних проведення даних досліджень.

У **Розділі 2** наведено умови, матеріали і методику проведення дослідження. Детально описані ґрунтово-кліматичні умови зони, характеристику водного і температурного режимів кожного року, враховано ГТК за вегетаційним періодом. Детально описано вихідний матеріал, схеми проведення дослідів та статистичної обробки результатів.

У **Розділі 3** проведено генетичний аналіз зразків кабачка різного географічного походження на присутність гена стійкості до вірусу жовтої мозаїки. За лабораторною оцінкою ступеню стійкості до вірусу жовтої мозаїки кабачка та інтенсивність розвитку хвороби у лінійних і гібридних зразків найвищий рівень

стійкості мали три лінії (ЛК 17-7, ВЛ-90 та ВЛ-91) та три гібриди (Mikinos F₁, Cronos F₁, Afrodite F₁).

Біоінформаційний пошук еукаріотичного транскрипційного фактору *eIF4E* у кабачка визначив ступінь гомології гена еукаріотичного транскрипційного фактору *eIF4E* та рівень генетичної дивергенції у різних видів та родів рослин, споріднених до кабачка. Доведено генетичну близькість видів *C. moschata* і *C. maxima*, а також *Momordica charantia*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis sativus*, *C. zeyherii* і *C. melo* до виду *C. Pepo*.

Проведено дослідження поліморфізму еукаріотичного транскрипційного фактору *eIF4E* у різних представників родини Cucurbitaceae. На основі проведеної полімеразної ланцюгової реакції *in silico* підтверджено експресію гена *eIF4E* кабачка у гібридів Defender F₁, Best of British F₁ і Eight Ball F₁ з праймерами CDS і EXP до послідовності XM_023663719.1.

У **Розділі 4** досліджено генетичний поліморфізм зразків кабачка методом ISSR аналізу. Аналізовано інформативні можливості відібраних ISSR праймерів, детектовано 20 мономорфних локусів, які відмічено у всіх досліджуваних генотипів. Ідентифіковано унікальні ділянки ДНК, які можуть бути використані для розробки більш специфічних маркерів, а також як маркери відповідних генотипів. Установлено філогенетичні зв'язки між генотипами кабачка за результатами електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації ISSR-праймерів. Визначено, що внутрішньопопуляційний поліморфізм ДНК кабачків залежав від генотипу і в середньому становив 58,9 %. Найбільше його значення (63,6 %) відмічено у гібрида Eight Ball F₁, у якого виявлено 82 із 129 можливих локусів, мінімальне – у гібрида Rimini F₁ (55,8 %, виявлено 72 локуси із 129 можливих).

Установлено, що для отримання максимального ефекту гетерозису у гібридів першого покоління кабачка рекомендується залучати у процес схрещування філогенетично віддалені зразки кабачка.

У **Розділі 5** висвітлено результати дослідження лінійних зразків кабачка за стабільністю прояву кількісних ознак та тривалості фенофаз в агрокліматичних умовах східного Лісостепу України. Встановлено адаптивні

властивості ліній кабачка за проявом кількісних ознак загальна та товарна врожайність, загальна продуктивність. Визначено прояв біохімічних ознак, що визначають споживчу цінність плодів у фазі технічної стиглості (вміст сухої речовини, цукру, вітаміну С, нітратів) та рівень польової стійкості до збудників хвороб лінійних зразків кабачка. Виділено чотири лінійні зразки – ЛК 17-11, РВЛ-19, ЛК 17-45 і ЛК 17-49, у яких спостерігався рівень стійкості на рівні балів 7 і 9 за шкалою РЕВ.

Установлення тривалості фенологічних фаз у лінійних зразків кабачка за двома компонентами “Період плодоношення” та “Період від появи масових сходів до першого збору” виявило найбільш стабільні генотипи за типом розподілу компонент.

Кореляція між гідротермічним коефіцієнтом (ГТК) та цінними господарськими ознаками ліній кабачка за аналізом впливу погодних умов на період плодоношення засвідчив більшу їх диференціацію за рівнем сили кореляційного зв’язку між ГТК та тривалістю даної фенологічної фази розвитку.

У **Розділі 6** характеризувано адаптивний потенціал гібридних зразків кабачка різного географічного походження за комплексом кількісних ознак, цінних для селекції. Досліджено адаптивні властивості гібридів F_1 кабачка різного географічного походження за проявом кількісних ознак, які є структурними компонентами урожайності та виділено зразки, які перевищують показники стандартів за ознаками загальна та товарна врожайність, загальна продуктивність, середня маса товарного плода. Також подібні дослідження проведено за проявом біохімічних ознак, що визначають якість плодів у фазі технічної стиглості та виділено зразки з найкращою якістю.

За оцінкою комплексної стійкості до хвороб гібридних зразків кабачка до усіх збудників хвороб (вірусів, бактеріозу і фузаріозу) та шкідника попелиці виділено один гібридний зразок – Celeste F_1 , у якого спостерігався рівень стійкості 7 і 9 балів та чотири гібридні зразки – Rimini F_1 , Tuscany F_1 , Afrodite F_1 і Parador F_1 , які мали рівні стійкості 5, 7 і 9 балів за шкалою РЕВ.

За тривалістю фенологічних фаз та кореляцією між ГТК і цінними господарськими ознаками у гібридів F₁ кабачка виділено групи гібридів за силою кореляції.

У **Розділі 7** охарактеризовано науково-практичну значущість досліджень зі створення лінійного матеріалу для адаптивної селекції кабачка. Наведено господарські характеристики перспективних ліній, переданих до Національного центру генетичних ресурсів рослин України та економічну ефективність їх вирощування. Визначено практичну значимість розробленого способу генетичної диференціації вихідного матеріалу для селекції кабачка, яку висвітлено у методичних рекомендаціях “Кабачок (*Cucurbita pepo* L.). Молекулярно-генетичний метод диференціації селекційно-цінних генотипів за допомогою аналізу міжмікросателітних локусів”.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації. Значні суттєві зауваження по суті досліджень і отриманих результатів відсутні. Проте в дисертації виявлено деякі недоліки:

1. За Наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 зі змінами від 31.05.2019 розділ **Актуальність теми** змінено на **Обґрунтування вибору теми дослідження**.

2. Мета і завдання дослідження. Викликають сумнів терміни «сортова і гібридна селекція», «геноносії генів».

3. Латинські назви рослин слід писати повністю лише за першого згадування в тексті, далі назву виду скорочено, а назву родини наводять не курсивом.

4. Наукова новизна. Як міг створений Вами вихідний матеріал бути різного географічного походження? Може, йшлося про вихідний матеріал?

5. Багато друкарських помилок, часто зустрічається недоречне застосування прийменника «щодо» (методичні підходи щодо створення Краще методичні підходи до створення).

6. Деякі частини тексту потребують редагування (Набули подальшого розвитку аспекти формування ... в аспекті розробки ... І т.п.).

7. Чисельники до 10 пишуть прописом, а не цифрами. Виключенням є арифметичний перелік (1, 2, 3, ...), величина з одиницею виміру (5 га), частина назви виробу чи агрегату (БД 6).

8. У тексті дисертації зустрічаються русизми (направлені спрямовані; найкоротші строки стислі терміни; маркірували маркували; баз, відрізняючихся баз, які відрізняються; і т.п.).

9. Зустрічаються невдалі вирази (у практичному цензі у практичному сенсі).

10. Замість виразу «повторність однократна» доречним буде «без повторень».

11. Чи досліджували Ви вплив гідротермічних умов на прояв кількісних ознак під час проходження кабачками критичних фаз розвитку? Адже ГТК показує лише усереднену характеристику зовнішніх умов, що може спотворити результати кореляційного аналізу.

У цілому відмічені зауваження не знижують високої оцінки дисертаційної роботи, так як відносяться до її оформлення і не носять принципового характеру.

Одержані Ланкастер Ю.М. результати мають суттєву і практичну цінність, дисертаційна робота є завершеною науковою працею, підготовленою за матеріалами багаторічних досліджень.

Наукові положення дисертаційної роботи висвітлено в 24 наукових працях, з яких один розділ у колективній монографії, шість статей у наукових фахових виданнях України, одна стаття в іноземному науковому виданні, одні науково-методичні рекомендації, 12 тез наукових конференцій, три свідоцтва на зразок генофонду рослин України.

Анотація за своїм змістом повністю відповідає дисертації. Усі висновки витікають із проведених досліджень, добре обґрунтовані та підтверджені статистично.

Дисертація написана хорошою літературною мовою за науковим стилем, текст достатньо ілюстрований рисунками та діаграмами, що значно поліпшує його сприйняття.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. За актуальністю теми, науково-методичним рівнем проведення досліджень, науковою новизною і практичним значенням представлена до захисту 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)», подана на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 201 – Агрономія (Аграрні науки та продовольства) є завершеною, самостійно виконаною науковою працею та відповідає вимогам «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 06 березня 2019 року. Роботу оформлено за «Вимогами до оформлення дисертації», затвердженими Наказом Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 року зі змінами від 31 травня 2019 року. Тема дисертації й одержані результати відповідають спеціальності 201 – Агрономія (Аграрні науки та продовольство), а здобувачка ЛАНКАСТЕР Юлія Миколаївна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії.

Офіційний опонент, доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник, головний науковий
співробітник лабораторії селекції та генетики ячменю,
вчений секретар Інституту рослинництва
ім. В.Я. Юр'єва НААН

Н.І. Васько

Н.І. Васько

Підпис Н.І. Васько засвідчую

*Провідний фахівець
по кадровій роботі*

31.10.2022 р.



Н.І. Васько