

РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента – кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника
відділу генетичної інженерії Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН

України Симоненка Юрія Вікторовича

на дисертаційну роботу **Юлії Юріївни Римар**

«Особливості біогенезу продихового апарату у пшениці»

подану до захисту у разову спеціалізовану вчену раду в Інституті клітинної біології та
генетичної інженерії НАН України

на здобуття наукового ступеня доктора філософії

в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність роботи. Дисертаційна робота Римар Юлії Юріївни присвячена вивченню продихового апарату та генів його біогенезу у пшениці й інших представників роду *Triticum*.

Основні функції рослин - фотосинтез, транспірація, транспорт води й розчинених в ній органічних і мінеральних речовин - регулюються продихами. Продихи також є один із основних шляхів проникнення патогенів в рослини. До 99 % поглинутої води втрачається рослиною в процесі транспірації через продихи. Окрім випаровування води продихи регулюють надходження в клітини листка вуглекислого газу та виділення кисню. Дефіцит води знижує швидкість фотосинтезу, продихи закриваються, припиняється надходження CO₂ до мезофілу листка, відповідно, знижується продуктивність рослин. У відповідь на підвищення концентрації вуглекислого газу в атмосфері зменшується кількість продихів на одиницю площі листка та розміри замикаючих клітин продихів. Ці зміни істотно впливають на водний режим рослин та інтенсивність газообміну листків. Тому важливим є розуміння механізмів адаптації продихового апарату пшениці до стресів, зокрема до посухи.

Ряд генів, зокрема *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*, контролюють розвиток продихів. Зміни в нуклеотидних послідовностях генів біогенезу продихів впливають на морфологію та кількість продихів й особливості їх функціонування. Тому при несприятливих умовах навколишнього середовища (зростання концентрації вуглекислого газу в атмосфері на фоні посухи) дослідження продихового апарату та його генетичних детермінантів стає дедалі актуальнішим.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота Юлії РИМАР виконана у рамках науково-дослідних тем відділу молекулярної генетики Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України: III-9-17 «Дослідження цінних генетичних детермінант і нових алельних ефектів генів для поліпшення хлібних злаків в умовах негативного впливу глобальних кліматичних змін

(державний реєстраційний номер 0117U000385), III-7-22 «Системи молекулярних маркерів для добору сприятливих генотипів культурних рослин» (державний реєстраційний номер 0122U001512) та III-7-25 «Молекулярно-генетичний супровід селекційного поліпшення рослин» (державний реєстраційний номер 0125U002197), а також за підтримки грантами НАН України для молодих вчених «Дослідження молекулярно-генетичних чинників біогенезу проростків в контексті підвищення посухостійкості пшениці» (державний реєстраційний номер 0122U002213) і «Роль механізмів регуляції редокс протеому у поліпшенні посухостійкості пшениці» (державний реєстраційний номер 0125U001842).

Оцінка обґрунтованості наукових результатів і висновків, сформульованих у дисертаційній роботі.

Переважна частина експериментальних даних представленої роботи отримана та оброблена автором самостійно. Наукова співпраця з керівником роботи та іншими спеціалістами-співавторами докладно представлена у підрозділі «Особистий внесок здобувача».

Експериментальна частина роботи виконана із залученням сучасних та класичних методів цитології, молекулярної біології, біоінформатики, морфології та фізіології рослин, підбір яких повністю відповідає досягненню поставлених задач і дозволив зробити цілком обґрунтовані висновки з отриманих результатів.

Отримані результати в достатній мірі представлені якісними мікрофотографіями, електрофореграмами, гістограмами й таблицями. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програмного забезпечення MS Excel («Microsoft») та R версія 4.4.2 (R Core Team (2024)). Для порівняння середніх значень використано дисперсійний аналіз (ANOVA) з подальшим тестом Тьюкі.

Висновки роботи відображають отримані результати.

Наукова новизна представлених результатів, повнота викладення в опублікованих працях.

Наукова новизна дисертаційної роботи Римар Ю.Ю. очевидна. Нею досліджено особливості морфології і фізіології продихового апарату не тільки у пшениці м'якої, але і в інших пшениць. Римар Ю.Ю. вперше виміряла морфологічні параметри продихового апарату рослин *Triticum sinskajae*, *T. dicoccum* та *T. sphaerococcum*, а також виявила кореляцію між морфологією, кількістю проростків та їх функціонуванням (газообмін, фотосинтез, продихова провідність, ефективність використання води) у *T. dicoccum* та *T. spelta*.

Крім того Юлією Римар виявлено молекулярне підґрунтя особливостей продихового апарату – співставлено особливості морфології і фізіології проростків з відмінностями у нуклеотидних послідовностях генів біогенезу проростків *EPF1*, *EPF2* та транскрипційного фактору *MUTE*. Зокрема нею вперше:

- вивченню нуклеотидні послідовності й анотовано поліморфні та консервативні локуси у промоторних ділянках генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE* пшениці м'якої;

- розроблено й апробовано 5 ДНК-маркерів та оптимізовано параметри полімеразної ланцюгової реакції для визначення поліморфізму в промоторних ділянках генів *EPF1* та *EPF2*;

- показана кореляція між відмінностями досліджених нуклеотидних послідовностей генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* і морфологією продихів у пшениці м'якої.

Результати, викладені в дисертації, представлені в 15 друкованих працях, серед них 4 статті у фахових наукових виданнях (3 – у фахових наукових виданнях України та 1 – у зарубіжному науковому періодичному виданні, включеному до міжнародних наукометричних баз Web of Science і Scopus) та 11 тез у матеріалах наукових форумів, як українських, так і зарубіжних.

Теоретичне та практичне значення результатів дисертаційного дослідження.

Встановлена Юлією Римар кореляція між генетичними змінами та морфологією продихового апарату стає підґрунтям для подальших досліджень особливостей біогенезу продихового апарату з використанням сучасних, інноваційних біотехнологічних підходів; отримані закономірності можуть бути застосовані для направленої редагування геному пшениці м'якої.

Отримані результати впроваджуються у наукових установах, а саме: Інститут фізіології рослин і генетики НАН України використовує молекулярно-генетичні характеристики найбільш поширених та нових сортів пшениці м'якої власної селекції, складені Римар Ю.Ю., для вивчення фізіологічного стану рослин і відбору бажаних генотипів для проведення селекційних програм. Зокрема, розроблені й апробовані ДНК-маркери використовуються для детекції цінних алелів генів біогенезу продихів при відборі селекційного матеріалу; розроблені технології молекулярної оцінки пшениці та її співродичів за генами адаптивності до посухи дозволили значно скоротити час і підвищити ефективність генетичного поліпшення рослин. Інститут захисту рослин НААН України використовує складені здобувачкою молекулярно-генетичні характеристики рослин роду *Triticum* різної плідності на наявність поліморфізму нуклеотидних послідовностей генів транскрипційного фактору *MUTE* та генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* для аналізу селекційних ліній, відбору бажаних генотипів, стійких до збудників септоріозу листя пшениці й борошнистої роси; розроблені технології молекулярної оцінки пшениці м'якої за генами стійкості дозволили значно скоротити час та підвищити ефективність генетичного поліпшення стійкості рослин до грибних захворювань, ініціація інфікування у котрих відбувається через

продихи. Виявлені зразки злакових рослин, що мають стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя пшениці, будуть використані у селекційних програмах.

Практична реалізація отриманих результатів у провідних науково-дослідних установах України підкреслює цінність даного дослідження.

Зібраний та узагальнений новітній інформаційний матеріал стосовно будови, морфології і функціонування продихового апарату рослин може бути представлений у навчальних дисциплінах біологічного профілю для викладання студентам закладів вищої освіти.

Оцінка змісту дисертаційної роботи, мови, стилю, дотримання норм академічної доброчесності. Дисертація Римар Юлії Юріївни оформлена відповідно до вимог наказу МОН України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

Дисертацію викладено українською мовою. Дисертаційна робота складається з анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів та їх обговорення, висновків, списку використаних джерел і додатків. Основна частина роботи викладена на 140 сторінках комп'ютерного тексту, проілюстрована 24 рисунками та 24 таблицями. Список використаних джерел складається з 132 найменувань, з яких 115 – латиницею. Загальний обсяг рукопису становить 210 сторінок.

Розділ «Огляд літератури» побудований на аналізі літературних джерел, переважна більшість із яких сучасні. Літературні дані викладені чітко та логічно. Розділ «Огляд літератури» дає чітке уявлення про стан проблеми і важливість продовження наукових досліджень особливостей біогенезу і морфології продихового апарату. Експериментальна частина роботи виконана із залученням численних сучасних та класичних методів біологічних досліджень. Для проведення дисертаційного дослідження Юлією Римар була зібрана велика колекція пшениці, споріднених видів та міжвидових гібридів, зразки якої були охарактеризовані за морфологічними, агрономічними характеристиками та стійкістю до збудників грибних хвороб і використані для аналізу продихового апарату та молекулярно-генетичного скринінгу алельних варіантів генів біогенезу продихів. У роботі проведена ретельна статистична обробка отриманих результатів. Отже, методична частина представленої роботи є дуже вдалим і адекватно підібраним поєднанням сучасних методів цитології, молекулярної біології, біоінформатики, морфології та фізіології рослин та більш традиційних методів досліджень стійкості рослин до збудників грибних уражень. Результати досліджень викладені у розділі «Результатів та їх обговорення» з належною повнотою і наведенням відповідних мікрофотографій, електрофореграм, таблиць та гістограм. В дисертаційній роботі були отримані результати, що дозволяють розширити уявлення про морфологію, фізіологію і функціонування продихового апарату у рослин роду *Triticum* та

вплив генетичних детермінант на біогенез продихів. В цілому, викладення і аналіз результатів свідчить про володіння автором знаннями з широкого кола проблем, що стосуються галузі досліджень. Робота викладена грамотною науковою мовою.

Дискусійні положення, зауваження та запитання до дисертації

Дисертаційна робота Юлії Римар виконана на достатньо високому рівні, має наукову новизну та практичне застосування. В рецензованій роботі є певні недоліки та дискусійні питання. Більшість зауважень стосуються переважно редакційного оформлення тексту роботи. Принципових зауважень до неї немає, а серед окремих зауважень і запитань можна навести наступні:

В 1 завданні - Створити колекцію з пшениці - можливо було б краще написати Створити колекцію зразків різних видів пшениць, споріднених видів та їх міжвидових гібридів; Те саме в 4 завданні - Провести скринінг колекції зразків пшениці. Бажано при першому згадуванні назв рослин використовувати українську назву (якщо вона є) та повну латину з автором (наприклад, пшениця двозерна, полба, двозернянка (*Triticum dicocum* (Schuebl.) Schrank), однозернянка культурна плівкова, або напівполба (*Triticum monococum* L.), пшениця тверда (*Triticum durum* Dest.). оркіш, або спельта (*Triticum spelta* L.). Латинська назва роду рослин пишеться курсивом, так само як і латинська назва виду. Це стосується всіх наукових назв родів та видів, які використовуються в біологічній номенклатурі для класифікації живих організмів (стр. 6, 7). При першому згадуванні скорочень їх необхідно розшифровувати (наприклад, CIMMYT - *Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo* (ісп., Міжнародний центр покращення кукурудзи та пшениці). Можливо, в ключове слово пшениця *Triticum aestivum* L. треба було додати – м'яка. Я би ввів плоідність в таблиці з видами пшениць, наприклад, в Таблицю 3.1.

В списку публікацій здобувача за темою дисертації журнал *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 13(6) за 2024 рік не Q4, а Q3 квартиль.

В тексті дисертації зустрічаються граматичні помилки, описки тощо. Є ряд орфографічних помилок (наприклад, с. 64), пропущених букв (с. 3, 103), пропущених ком (с. 6, 34, 38, 44, 47, 49, 50, 63, 70, 74, 87, 97, 105, 125, 135), лишніх ком (с. 44, 78), лишні дужки (с. 27), лишні букви (с. 43, 82, 125), пропущені букви (с. 125), пропущені слова (по формулі, с. 58; міжвидових гібридів, с. 73), не ті слова (с. 58, 86), написання окремих слів (поглибленні знання - залученні в ініціації - уперше вивченно - пишеться з однією літерою н (с. 2, 4). Зустрічаються дублювання слів (два слова займає, с. 33, маркеру, с. 105), невдалі вирази (організмівому рівні, с. 135). Мелодичніше для мене звучить слово вперше, а не уперше (хоча це синоніми). Багато неузгоджених відмінків слів (споріднених видах, треба споріднених видів, с. 3; доказів еволюцію, треба доказів еволюції, с. 38; допоміжних клітини, треба допоміжних клітин, с. 47, наданий Національного центру генетичних ресурсів, треба

наданий Національним центром генетичних ресурсів, с. 51, наступної послідовністю, треба наступної послідовності, с. 62, різко відрізняється, треба різко відрізняються, с. 73, маю частоту, треба має частоту, с. 107, пшеницею м'якої, треба пшеницею м'якою, с. 135). Трапляється неузгодження дієслів (с. 58) і зустрічаються неузгодженість простих речень та оборотів у складних реченнях (с. 34). В Таблиці 2.1. останній зразок іншим розміром шрифту (с. 54). Зустрічаються ряд невдалих фраз та виразів.

Щодо посилань в тексті, то вони не уніфіковані (наприклад, Hetherington et al., 2003; Bertolino et al. 2019; Morhun, et al. 2014; Rico, C., et al., 2013; Moore, C. E., et al., 2021). Бажано також уніфікувати doi в списку використаної літератури. У всіх таблицях я би виділив максимальні та мінімальні значення. На Рис. 3.11. Мікрофотографія відбитків продихів пшениці м'якої (праворуч збільшення об'єктива мікроскопу 10х, ліворуч – 20х) – а треба навпаки. Щодо висновків. Деякі висновки досить довгі. Другому висновку нема відповідного завдання. Наприклад, можна було б написати - Колекційні рослини проаналізувати за морфологічними, агрономічними характеристиками і стійкістю до збудників грибних інфекцій. Четвертий висновок відповідає 3 і 4 завданню. Може доцільніше було зробити два завдання? У «списку літератури» зустрічається неправильне оформлення використаних джерел. Однак ці недоліки не є суттєвими. Вони не впливають на загальний високий науковий рівень дисертації. Принципових зауважень до рецензованої роботи немає.

По роботі виникло декілька питань.

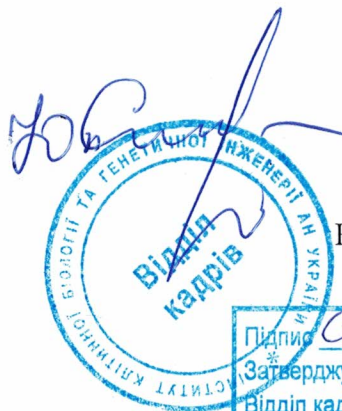
1. Три досліджувані селекційні лінії, які походять з Північної Америки – «Карликова», «Остиста, короткостеблова» та «Короткоостиста» це селекційні лінії чи сорти?
2. В науковій новизні роботи описано, що уперше вивчено, розроблено і т.д. Це вперше в Україні чи в світі?
3. Що це за LB-буфер – буфер для нанесення зразків у гель? Термін «LB» зазвичай відноситься до середовища LB (Lysogeny broth) – поживного середовища для росту бактерій, таких як *E. coli*, а не до буфера.
4. Що означає термін - гомеологічні геноми пшениці? Чи це друкарська помилка?
5. Чому вибрано саме ці 25 зразків різних видів пшениці для проведення оцінки стійкості до збудників хвороб; сорти 'Наталка' та 'Подольська' для аналізу промоторного регіону *EPF1-A1*; 70 сортів пшениці м'якої, оригіномом яких є українські установи, та 73 зразка співродичів пшениці та їх міжвидових гібридів для молекулярно-генетичного аналізу?
6. Чи є кореляція стійкості до хвороб з геномами пшениць ABDR та озимістю?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота Римар Юлії Юріївни «Особливості біогенезу продихового апарату у пшениці»,

подана на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 - «Біологія» за спеціальністю 091 - «Біологія» є самостійною завершеною науковою працею, що містить новітні наукові положення, обґрунтовані отриманими результатами та не порушує принципів академічної доброчесності. За методичним рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, науковою новизною результатів, повнотою публікацій матеріалів дослідження, їх апробації на наукових конференціях дисертаційне дослідження повністю відповідає галузі знань 09 «Біологія», спеціальності 091 «Біологія» та сучасним вимогам, які висуваються до дисертацій, затвердженим наказом МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. №40 та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 "Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії" (зі змінами, внесеними згідно із постановою Кабінету міністрів України №341 від 21.03.2022 та постановою Кабінету міністрів України 502 від 19.05.2023 р.), а її авторка Римар Юлія Юріївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 "Біологія" 091 - "Біологія".

Рецензент:

старший науковий співробітник
відділу генетичної інженерії
ІКБГІ НАН України, стар. досл., к.б.н.



Юрій СИМОНЕНКО

Підпис Симоненко Ю.В.
Затверджую Євдокімова Т.В.
Відділ кадрів [Signature]