

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **Купар Юлії Юріївни «Ідентифікація генетичного походження селекційного матеріалу при гетерозисній селекції»**, що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 — селекція і насінництво

Актуальність теми і отриманих результатів. Генотипова різноманітність вихідного матеріалу є основою для досягнення успіху в усіх селекційних програмах по кукурудзі, що засновані на виявленні і використанні зародкових плазм та їх моделей. Орієнтування на певні гетерозисні моделі, дозволяє більш ефективно використовувати лінії із робочої колекції. Хоча ці моделі є умовними, проте навіть неповна інформація про переваги вихідного лінійного матеріалу з різних зародкових плазм в певних ареалах вирощування полегшує роботу при доборі вихідного матеріалу та створенні інноваційних гібридів.

В світовій селекції для ідентифікації зародкової плазми широко використовуються молекулярно-генетичні методи досліджень – методи RFLP, PCR та SNP, які дозволяють виявити внутрішньовидову мінливість на рівні ДНК, що робить можливим паспортизацію, класифікацію і розподіл вихідного матеріалу на групи залежно від їх генетичних взаємовідносин.

Одними з найбільш доступних та дешевих, порівняно з іншими типами маркерів, є SNP-маркери, що використовуються при широкогеномній селекції, що дозволяє замість ідентифікації окремих значущих маркерів використовувати для прогнозування прояву необхідної ознаки вплив усіх маркерів. За допомогою цих маркерів можна прискорити добір та оцінку кращих рекомбінантів і відкрити нові гетерозисні комбінації та групи. Проте результати подібних досліджень потребують перевірки селекційного матеріалу в конкретних польових та екологічних умовах.

Для селекційної практики важливим є розвиток порівняльної геноміки, в т. ч. методів характеристики геномного (генетичного) поліморфізму, визначення закономірностей його реалізації серед генофонду та зв'язку з фенотиповим різноманіттям.

SNP-метод аналізу ДНК-поліморфізму (single nucleotide polymorphism) – це сучасний молекулярно-генетичний метод, який дозволяє диференціювати інбредні лінії та класифікувати їх за гетерозисними групами, ідентифікувати пропуски в генетичних колекціях, проводити моніторинг генетичного дрейфу, який має місце при збереженні зародкової плазми, виявляти нові алелі для покращення агрономічних якостей, конструювати репрезентабельні добори генотипів для колекцій та селекційного процесу.

Саме тому порівняльна характеристика різних методів ідентифікації вихідного селекційного матеріалу таких як система діалельних та топкросних схрещувань, класифікація за родоводом pedigree та біометричними показниками, використання SNP-маркерів є актуальним питанням сучасної селекції кукурудзи, що і представлено в даній роботі.

Метою роботи було встановлення генетичних дистанцій та селекційно-господарської цінності інбредних ліній кукурудзи селекції Інституту зернових

культур НААН за допомогою різних методів визначення генетичного походження селекційного матеріалу кукурудзи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є складовою частиною досліджень відділу селекції і насінництва зернових культур ДУ Інститут зернових культур НААН, які здобувачка виконала у 2013–2020 рр. за завданням 2011–2015 рр. (номер Державної реєстрації 0116U001239) «Розробити науково-методологічні основи селекції середньостиглих і середньопізніх гібридів кукурудзи (ФАО 300–500) адаптованих до умов Лісостепу і Степу України» згідно ПНД «Зернові культури»; у 2016–2020 рр. «Розробити агроекологічний комплекс підвищення продуктивності зернових культур на основі новітніх досягнень у селекції та ресурсо-адаптованих моделей технологій для різних сільськогосподарських зон» згідно ПНД «Технологія вирощування зернових культур. Селекція кукурудзи і сорго». Дослідження проведені за державними програмами, що підтверджує їх актуальність та важливість для науки та виробництва.

Наукова новизна. В представленій роботі вперше в Україні порівнюються різні методи ідентифікації генетичного походження самозапилених ліній генетичних плазм BSSS, Iodent, Lancaster, Змішана на основі “pedigree” на перших етапах селекції, запропоновані найбільш ефективні способи ідентифікації самозапилених ліній в процесі їх створення і вивчення. Визначено залежність їхніх параметрів від умов років дослідження ВОС-показників, показників гіпотетичного гетерозису, генетичних дистанцій.

Виділено лінії з високою комбінаційною здатністю відносно врожайності зерна та низької збиральної вологості.

Досліджено варіювання основних господарсько-цінних ознак залежно від погодних умов років та генетичного походження ліній та гібридів. Визначені кращі гетерозисні моделі для кожної генетичної групи при створенні конкурентоздатних середньостиглих гібридів ДК315(Змішана)× BSSS, ДК633/325(Змішана)×Iodent, (ДК275M×ДК301(Iodent))×Lancaster та (ДК633/325(Змішана))×Змішана. Виділено кращі тесткриси ліній групи BSSS, Iodent, Lancaster, Змішана.

Практичне значення отриманих наукових результатів. Визначено найбільш ефективні методи ідентифікації генетичного походження селекційного матеріалу: ВОС-тест, SNP-аналіз для визначення генетичних дистанцій і рівень гіпотетичного гетерозису. Запропоновані найбільш перспективні лінії для використання в практичній селекції: ДК311 і ДК3151 – геноплазма BSSS; ДК364 і ДК277 – Iodent; ДК267MB і ДК6356 – Lancaster; ДК3155 і ДК2368 – Змішана.

До Державного реєстру сортів рослин України внесені нові високоврожайні гібриди кукурудзи степового еко типу – ДН Фіеста, ДН Астра та ДН Відрада, ДН Булат, що за врожайністю зерна перевищують національні стандарти на 5–10 %.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, їх достовірність. Представлена дисертація має чітку спрямованість і продуманість поставлених на вивчення питань. Всі заплановані дослідження виконано в повному обсязі на високому науково-методичному рівні. Одержані результати обґрунтовані, систематизовані, статистично

оброблені. Описання, аналіз та узагальнення експериментального матеріалу виконані з урахуванням наявної наукової інформації. Дисертація виконана за продуманим планом з використанням сучасних біотехнологічних методів досліджень. Усі розділи дисертації є повними, закінченими, з обґрунтованими висновками, які витікають з результатів досліджень. Загальні висновки відображають експериментальні дані дисертації і свідчать про глибокий аналіз отриманих результатів.

Достовірність основних наукових положень підтверджується глибоким аналізом табличного матеріалу та проведеним статистичним обробітком експериментальних даних із застосуванням дисперсійного і кореляційного аналізів.

Авторка володіє методикою проведення дослідів, безпосередньо розробляла програму і схему досліджень, проаналізувала експериментальні дані, провела велику експериментальну роботу з використанням SNP-аналізу генотипів кукурудзи.

Ступінь впровадження результатів роботи на момент її захисту достатній. Запропоновано найбільш ефективні гетерозисні моделі для використання в практичній селекції при створенні гібридів, адаптованих до умов степової зони. Виробництву запропоновані занесені до Державного реєстру сортів рослин гібриди кукурудзи середньоранні: ДН Астра, ДН Відрада, ДН Фієста та середньостиглий – ДН Булат, які за врожайністю зерна перевищують стандарти на 5–10 %, та насінництво яких вже налагоджене.

Рекомендації щодо використання результатів досліджень. Наукові результати роботи, рекомендується використовувати в селекційному процесі при створенні гібридів кукурудзи з використанням молекулярно-генетичних методів, а нові гібриди використовувати на виробництві.

Обсяг і повнота опублікованих матеріалів досліджень. За результатами досліджень опубліковано 5 статей, у фахових наукових виданнях України – 4, 1 – у міжнародному фаховому виданні, 2 – тези наукових конференцій, отримано 4 авторських свідоцтва на гібриди.

Оцінка мови і стилю дисертації. Дисертацію написано українською мовою, аргументовано, логічно, доступно для читання.

Автореферат дисертації відображає в стислому вигляді зміст дисертації, результати дослідів, висновки і практичні рекомендації.

Дискусійні питання щодо розділів дисертації.

У **вступі** аргументовано подано аналіз стану сучасних досліджень, актуальність та новизну. В практичному значенні показано, що завдяки використанню запропонованих методик створено (ідентифіковано) новий вихідний матеріал і нові гібриди.

Дискусійні положення:

- *Бажано було б додати до задач досліджень пункт – створити нові гібриди кукурудзи з комплексом господарських ознак.*

У **першому розділі** досить детально подано огляд літератури з питань теоретичних основ гетерозису, розподілу вихідного матеріалу за генетичними плазмами, інноваційних методів селекції на основі геномного аналізу, методів вивчення генетичного поліморфізму та маркер-асоційованої селекції. Всього опрацьовано 289 джерел, з яких – 63 латиницею в сучасних провідних наукових виданнях, що підкреслює високий рівень досліджень авторки дисертації. Показано, що в Україні дослідження такого напрямку є новими і перспективними. На основі аналізу джерел розроблено програму досліджень.

Дискусійні положення та зауваження щодо розділу 1:

- При посиланні на монографії бажано вказувати сторінки з певною інформацією, що використовувалась.

У **другому розділі** в повному обсязі представлені умови досліджень, матеріали та методика.

Дискусійні положення та зауваження щодо розділу 2:

- Історію створення генетичних плазм BSSS, Iodent, Lancaster краще було б навести в розділі 1.

За результатами досліджень **третього розділу «Характеристика ліній різних генетичних плазм за господарсько-цінними ознаками»** встановлені лінії з різних генетичних плазм з високим рівнем урожайності. Визначені лінії низькою збиральною вологістю зерна. Найвищий середній рівень урожайності забезпечили лінії ДК3705 – 3,4 т/га, ДК2323МВ – 3,3 т/га (BSSS); ДК2575 – 3,7 т/га (Iodent); ДК6353 – 4,4 т/га (Lancaster); ДК402 – 4,2 т/га (Змішана). Найнижчу середню збиральну вологість зерна мали лінії групи BSSS (14,4 %) та Змішана (14,5 %). Виявлено незначний вплив умов року на детермінацію ознак “висота рослин” та “висота прикріплення продуктивного качана”. Найбільші середні значення висоти рослин мали лінії генетичних груп Lancaster (194,0 см) та Змішана (193,3 см), а найбільшою висотою прикріплення продуктивного качана характеризувались групи BSSS (73,9 см) та Iodent (72,3 см). Серед ліній усіх генетичних груп більший вплив погодних умов спостерігався на прояв ознаки “висота прикріплення качана”. Найбільшою стабільністю висоти рослин за роками відзначились лінії генетичної групи Lancaster ($V = 6,8-7,4 \%$), а стабільністю висоти прикріплення качана – групи Змішана ($V = 17,1-21,7 \%$);

Проведено аналіз комбінаційної здатності за ознакою “урожайність зерна” у ліній різних зародкових плазм. Найвищим рівнем позитивних оцінок ЗКЗ та стабільністю їх прояву за всі роки досліджень характеризувались лінії групи Змішана. Достовірно високими і стабільними оцінками ефектів ЗКЗ за врожайністю зерна відзначились лінії ДК310 (BSSS); ДК365, ДК2311, ДК7408, ДК2575 (Iodent); ДК6356 (Lancaster); ДК3155, ДК3151 (Змішана).

Дискусійні положення та зауваження щодо розділу 3:

- Висновки до *третього розділу* можна було б подати в скороченому виді.
- В розділі наводиться урожайність зерна ліній, що коливалась від 1,7 т/га групи BSSS Lancaster (табл.3.3) до 4,4 т/га у групи Lancaster (табл.3.5). Проте, для ліній більш важливий показник «урожайність насіння». Виникає питання – чи залежав вихід насіння від рівня урожайності зерна?

- Щодо «вологості зерна при збиранні» та «Індексу урожайності», на мою думку, важливість цього показника для ліній децю перебільшена, адже процес підготування насіння ліній обов'язково вимагає режиму штучного досушування. Ці показники більш доцільно використовувати при характеристиці гібридів, або ж комбінаційної здатності ліній.

У розділі 4 «Оцінка генетичної спорідненості вихідного матеріалу та рівня прояву основних господарсько-цінних ознак сестринських гібридів» наведена врожайність та збиральна вологість зерна споріднених гібридів. Встановлено, що максимальна середня урожайність зерна споріднених гібридів всіх плазм відзначена в 2015 р. (6,3 т/га). Найвищою вона була у генетичної групи Змішана (6,97 т/га). Споріднені гібриди, отримані на базі ліній групи Змішана, мали досить високі середні значення урожайності, що свідчить про їх генетичну віддаленість. Проведена оцінка рівня гіпотетичного гетерозису у сестринських гібридів. У основної частини гібридів цей показник незначно змінювався, що дозволило диференціювати лінії за рівнем прояву гетерозису. Так, гібриди, створені на основі лінії ДКС3151, відзначилась максимальним рівнем гетерозису, а лінії ДК2396МВ – мінімальним.

Наведені результати досліджень щодо SNP-генотипування при оцінці генетичної спорідненості селекційного матеріалу різних зародкових плазм. Доведено ефективність застосування SNP-генотипування для встановлення ліній з високою комбінаційною здатністю. Підтвердженням цьому є порівняння різних методів визначення спорідненості ліній кожної групи геноплазм, та встановлені коефіцієнти кореляції між показниками “рівень гіпотетичного гетерозису” і “значенням генетичних дистанцій”, що були позитивними достовірними і склали для плазми BSSS – $r=0,487$; Iodent – $r=0,513$; Lancaster – $r=0,411$; Змішана – $r=0,421$.

Дискусійні положення та зауваження щодо розділу 4:

- Для визначення рівню гетерозису використовували “рівень гіпотетичного гетерозису”. Чому не рівень «істинного гетерозису» чи «конкурсного»?
- Встановлені значні генетичні дистанції у ліній зародкових плазм BSSS, Iodent, Lancaster. Підтверджують це і показники гіпотетичного гетерозису. Чи вказує це на те, що ці лінії виходять за генетичні параметри «класичних» зародкових плазм, чи не є це вже «змішана плазма»?

У п'ятому розділі «Господарсько-цінні ознаки тесткросів ліній різних зародкових плазм та найбільш ефективні гетерозисні моделі» встановлена варіабельність основних господарсько-цінних ознак у тесткросів константних ліній основних базових плазм: BSSS, Iodent, Lancaster та Змішана у роки з різним рівнем вологозабезпеченості. Показано, що середня врожайність за три роки випробувань найвищою була в тесткросів гетерозисних моделей Змішана×Lancaster (6,31 т/га) та Iodent×Lancaster (6,02 т/га). Мінімальною вона була у тесткросів гетерозисної моделі BSSS×Iodent (5,9 т/га). Тесткроси створені за матрицею Lancaster×Iodent відзначились найбільшою стабільністю за врожайністю. Виділено тесткроси: ДК3044×ДК3151, ДК315×ДК4454, ДК315×

ДК3155, ДК365×ДК6356 та ДК3044×ДК3155 з значно вищими показниками урожайності зерна порівняно з гібридами-стандартами.

Дискусійні положення та зауваження щодо розділу 5:

- *Створені експериментальні гібриди з високим рівнем урожайності та перевищенням стандартів. Яка їх подальша перспектива?*

У шостому розділі наведена характеристика новостворених гібридів, що занесені до Реєстру сортів України.

Дискусійні положення та зауваження щодо розділу 6:

- *Бажано було б надати і характеристику новостворених гібридів ДС Амага та ДС Сула.*

Загальний висновок. Дисертаційна робота Купар Юлії Юріївни «Ідентифікація генетичного походження селекційного матеріалу при гетерозисній селекції», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 — селекція і насінництво є закінченою науковою роботою, яка виконана на високому науково-методичному рівні і вирішує ряд проблем, що виникають при селекції гібридів кукурудзи нового покоління з застосуванням традиційних та молекулярно-генетичних методів. Враховуючи актуальність, наукову новизну і практичну цінність роботи, впровадження у науковий процес і виробництво розроблених прийомів, вважаю, що дисертаційна робота відповідає вимогам, щодо кандидатських дисертацій зі спеціальності 06.01.05 — селекція і насінництво, а авторка роботи заслуговує присудження наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук.

Офіційний опонент:

доктор сільськогосподарських наук,
професор, академік НААН, головний
науковий співробітник відділу селекції
Інституту зрошуваного землеробства НААН _____ Ю. О. Лавриненко

Підпис Ю.О. Лавриненка засвідчую:
зав. відділом кадрів Інституту зрошуваного
землеробства НААН _____ О.І. Жакун

м. Херсон, 09.09.2021 р.