

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Юхно Юлії Юріївни «Ріст, розвиток та фітогормональний статус ізогенних за *E*-генами ліній сої за різного фотоперіоду», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.12 – фізіологія рослин

Актуальність теми дисертаційної роботи. Соя є провідною бобовою культурою, яка має велике продовольче та кормове значення. Крім того, завдяки здатності до симбіотичної азотфіксації вона є добрим попередником для інших культур, оскільки не виснажує ґрунти, а навпаки – підвищує їх родючість. Тому вивчення генетичного контролю росту, розвитку та перебігу фізіолого-біохімічних процесів у рослинах сої важливе для селекції високопродуктивних сортів, адаптованих до різних географічних регіонів. Останнє, зокрема, має на увазі оптимізацію фотоперіодичної регуляції її росту і розвитку. Соя за походженням короткоденна рослина, однак деякі сорти мають нейтральну реакцію на тривалість дня. Вважається, що такі відмінності у фотоперіодичній чутливості різних сортів сої зумовлені алельним станом окремих генів *E*.

На даний час виявлені основні фенотипічні прояви впливу цих генів на тривалість проходження фаз онтогенезу сої, а також деякі молекулярно-генетичні механізми експресії цих генів за різної тривалості фотоперіоду. Однак переважна більшість досліджень була спрямована на вивчення процесів, які відбуваються впродовж цвітіння і пов'язані з формуванням врожаю, тоді як фізіологічні аспекти ефектів генів *E* на ростові процеси та формування структурної біомаси рослин сої впродовж вегетативної фази за різного фотоперіоду досліджені недостатньо.

Так, у літературі описана роль фітогормонів у процесах росту рослин, а також вплив окремих груп фітогормонів, в основному гіберелінів, на перехід до цвітіння. Однак більшість досліджень виконана на модельних об'єктах. В окремих роботах показана участь ІОК та АБК в процесах регуляції розвитку короткоденної сої, зокрема їх вплив на експресію певних генів, у тому числі тих, що детермінують флоральний морфогенез рослин, однак ці дані отримані у дослідях з сортами сої, у яких не ідентифіковані гени *E*. Тому залишається нез'ясованим питання щодо зв'язку вмісту і активності фітогормонів з процесами росту і розвитку сої залежно від алельного стану генів *E* за умов різної тривалості фотоперіоду, а також характер ростових процесів при цьому. Крім практичного значення дослідження у цьому напрямі важливі для поглиблення існуючих уявлень про біологічну природу фотоперіодизму і, зокрема закономірності генетичного контролю та фітогормональної регуляції фотоперіодичної реакції рослин.

Все це свідчить про безсумнівну актуальність даної роботи як у фундаментальному, так і прикладному аспектах.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами темами. Дисертація виконувалась у рамках держбюджетних тем НДР кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів: «Дослідження фізіолого-біохімічних механізмів адаптації рослин та мікроорганізмів до чинників довкілля», № Держреєстрації 0106U008157; «Дослідження генетичної детермінації фітогормональних і фітохромних механізмів регуляції розвитку рослин, їх взаємодії з мікроорганізмами за впливу окремих чинників довкілля», № Держреєстрації 0109U001340; та «Дослідження фізіолого-біохімічних та молекулярно-біологічних механізмів генетичного контролю розвитку та продукційного процесу сільськогосподарських культур» № Держреєстрації 0112U000101.

Наукова новизна представлених у дисертації результатів. Вперше показана залежність від тривалості фотоперіоду інтенсивності ростових процесів, формування біомаси, динаміки асиміляційних показників, а також вмісту ІОК, ГК і АБК та їх балансу в листках і апікальних меристемах стебла досліджуваних ізогенних ліній сої сорту Clark від різних комбінацій домінантних чи рецесивних станів генів *E*.

Встановлено, що динаміка формування вегетативної маси, лінійного росту, формування листкового апарату ізогенних за генами *E* ліній сої залежить від їх генотипу за цими генами і тривалості фотоперіоду. У короткоденних ліній ці показники під впливом короткого дня знижувались інтенсивніше, ніж у фотоперіодично нейтральних ліній.

Вперше виявлено відмінності характеру впливу довгого і короткого фотоперіоду на вміст, активність і співвідношення ІОК, ГК і АБК у листках і АМС ізогенних за генами *E* ліній сої протягом вегетативної фази. Ефекти як довгого, так і короткого фотоперіодів залежали від алельного стану генів *E* у генотипі, що свідчить про взаємозв'язок генетичного та фітогормонального контролю розвитку сої. Встановлена модифікувальна дія короткого фотоперіоду на прояв ефектів генів *E* щодо вмісту ІОК, ГК і АБК, а також їх балансу в листках та АМС досліджуваних ізогенних ліній.

Сформульовано нове положення відносно того, що гени *E* можуть реалізовувати свої ефекти на ріст та розвиток сої через взаємодію з гормональною системою, зокрема, впливаючи на фітогормональний статус рослин.

Теоретичне значення результатів досліджень полягає у поглибленні існуючих уявлень про біологічну природу фотоперіодизму і, зокрема закономірності генетичного контролю та фітогормональної регуляції фотоперіодичної реакції рослин.

Практичне значення одержаних результатів. Отриманні дані стосовно залежності темпів розвитку рослин сої від алельного стану генів *E* мають

практичне значення для селекції її сортів, адаптованих до різних географічних регіонів.

Результати досліджень і наукові положення дисертації використовуються під час викладання навчальних курсів, а також виконання курсових та дипломних робіт, проведення літніх практик студентів кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Результати дослідження взаємозв'язку фотоперіодичної і фітогормональної регуляції ростових процесів і тривалості періоду до цвітіння можуть стати підґрунтям для розробки нових методів та агроприйомів регуляції темпів розвитку рослин сої.

Теоретичні результати можуть бути використані при проведенні лекційних і лабораторних занять, під час виконання курсових, дипломних, магістерських робіт у вищих навчальних закладах біологічного та сільськогосподарського профілю.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Рукопис дисертації побудований за рекомендованою схемою і складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, опису матеріалів, умов і методів проведення досліджень, чотирьох розділів із викладенням результатів експериментів та їх обговоренням, узагальнення, висновків і списку використаної літератури.

В анотації коротко викладено головні результати роботи та наведено список публікацій за темою дисертації.

У вступі обґрунтовано актуальність теми, мету і завдання досліджень та подано основні характеристики роботи.

В огляді літератури узагальнено сучасні відомості про фотоперіодичну, генетичну і гормональну регуляцію росту і розвитку рослин. Наведено основні генотипні і фенотипічні прояви ефектів генів *E* у сої. За результатами аналізу наукової літератури обґрунтовано мету досліджень.

У розділі «Матеріал, умови і методи проведення досліджень» схарактеризовано рослинний матеріал і умови його культивування, морфологічні, фізіологічні та біохімічні методи, застосовані при проведенні досліджень, статистичну обробку отриманих результатів.

Перший експериментальний розділ «Ріст і розвиток ізогенних за генами *E* ліній сої за різних фотоперіодичних умов» присвячений викладенню та аналізу отриманих дисертантом даних щодо генотипних особливостей реакції рослин ізогенних за генами *E* ліній сої на тривалість фотоперіоду за темпами розвитку рослин, динамікою ростових процесів, формуванням біомаси та асиміляційними показниками.

Показано, що досліджувані лінії різняться за фотоперіодичною реакцією. Серед них виявлено короткоденні, які прискорювали свій розвиток на короткому дні, і фотоперіодично нейтральні. Тип реакції на фотоперіод визначався алельним станом генів *E* та їх взаємодією.

Виявлено, що асиміляційні показники функціонування листкового апарату досліджуваних ізоліній визначалися генотипом та зміною тривалості фотоперіоду. При цьому, у досліджуваних ізоліній сої, залежно від їх фотоперіодичної реакції, припускається наявність різної стратегії формування і функціонування асиміляційного апарату в умовах короткого фотоперіоду. У короткоденних ліній ця стратегія проявляється в утворенні тоншої листкової пластинки, та/або у зниженні щільності тканин мезофілу, що відображається у збільшенні показника питомої площі листка. У фотоперіодично нейтральних ліній значення показників питомої площі листка і відносної маси листків на довгому та короткому дні були майже однакові.

Другий експериментальний розділ «Вміст і активність фітогормонів у листках ізогенних за генами *E* ліній сої» охоплює великий об'єм експериментального матеріалу з досліджень вмісту ІОК, ГК, АБК та активності цих фітогормонів у листках рослин ізоліній сої.

Виявлено, що скорочення фотоперіоду призводить до накопичення ГК і зниження вмісту ІОК та АБК у листках ліній, що мають у генотипі гени *E1* і/або *E3* у домінантному стані. У двох фотоперіодично нейтральних ліній, що мають у генотипі гени *e1* і *e3* у рецесивному стані відбувалося накопичення ГК і АБК, а вміст ІОК, навпаки, знижувався в листках приблизно однаково, як на довгому, так і на короткому дні.

У третьому експериментальному розділі «Вміст і активність фітогормонів у апікальних меристемах стебла ізогенних ліній сої» викладено результати досліджень вмісту та активності ІОК, ГК, АБК у апікальних меристемах (АМС) рослин.

Встановлено, що під впливом короткого фотоперіоду вміст ІОК в АМС спочатку підвищувався у всіх ліній, але наприкінці досліду цей показник знижувався у короткоденних ліній, а у фотоперіодично нейтральних істотно зростав порівняно до вмісту на довгому фотоперіоді. Скорочення фотоперіоду призводило до підвищення вмісту ГК у АМС всіх ліній порівняно із цим показником на довгому дні. Вміст АБК зростав в умовах короткого фотоперіоду незалежно від генотипу. Разом з тим, спостерігались певні відмінності за активністю досліджених фітогормонів між генотипами з різною фотоперіодичною реакцією.

У четвертому експериментальному розділі «Фітогормональний баланс в листках та апікальних меристемах стебла ізогенних ліній сої» наведено розрахунки співвідношень вмісту фітогормонів між листками та АМС, а також динаміку співвідношень вмісту ІОК/АБК та ГК/АБК у листках і АМС.

Показано, що динаміка співвідношення вмісту фітогормонів у листках та АМС залежить від фотоперіодичних умов та алельного стану генів *E* у генотипі ліній. У листках всіх ліній під впливом короткого дня знижувалось співвідношення ІОК/АБК та підвищувалось ГК/АБК. За тих самих умов у ліній з генами *E1* або *E3* у домінантному стані вміст ІОК і АБК в АМС практично вирівнюється при значному підвищенні ГК. Обговорюється зв'язок цих змін фітогормонального балансу з генетичним контролем фітогормонами росту і розвитку сої.

Таким чином, результати дисертації отримано на підставі аналізу великого фактичного матеріалу з використанням сучасних і адекватних поставленим завданням методів досліджень. Достовірність результатів підтверджується відповідною статистичною обробкою. Вважаю, що основні положення дисертації, її висновки є обґрунтованими і відповідають поставленим меті та завданням.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. Матеріали дисертації опубліковані у 21 праці, у тому числі 4 статті у фахових періодичних виданнях і 1 стаття у зарубіжному журналі, 1 стаття у зарубіжній монографії. Результати апробовано на 12 міжнародних конференціях.

Матеріал у дисертації викладений чітко і логічно, проілюстрований достатньою кількістю таблиць і рисунків. Автореферат адекватно відображає зміст дисертації, єдина відміна полягає в тому, що у дисертації результати розрахунків співвідношень вмісту фітогормонів винесено в окремий розділ, а в авторефераті ці дані наведені у підрозділах, що стосуються досліджень їх вмісту і активності в окремих частинах рослини.

Недоліки дисертації та автореферату щодо змісту і оформлення.

1. У тексті дисертації зустрічаються помилки друку, неузгодженість відмінків, пропуски слів, зокрема – на сс.: 3, 5, 7, 25, 33, 36, 42, 48, 55, 59, 67, 74, 93, 104, 112, 117, 121, 132, 137, 147; в авторефераті – на сс.: 1, 4, 5, 11, 13.

2. Є випадки неточного вживання наукової термінології. Наприклад, замість «фенотиповий» слід писати «фенотипічний», «складає» (певна величина) – «становить», «чисельні» – «численні», «оточуюче» (середовище) – «навколишнє», «доля» (масова) – «частка» тощо.

3. На с. 109 наведене помилкове посилання на таблицю – замість 4.3 треба 4.5.

4. Соя – бобова культура здатна до симбіотичної азотфіксації, інтенсивність якої теж значною мірою визначає швидкість її росту і розвитку. Але при описі умов проведення експериментів про її інокуляцію нічого не сказано. Симбіотичний апарат (кількість та маса бульбочок на коренях) також, очевидно не досліджувався, як і власне коренева система. Тому у



підписах до рисунків і таблиць, де написано «маса рослини», слід було б уточнити, що це маса надземної частини рослин.

5. Стосовно фітометричних показників, то у дисертації представлені лише висота і маса надземної частини рослин, а вихідні дані щодо маси і площі листків, які використовувались у розрахунках параметрів асиміляційного апарату, не наведені.

6. Судячи з усього, для розрахунків параметрів асиміляційного апарату дисертантка використовувала комп'ютерну модель (Hunt et al., 2002) з ростового аналізу, яка полегшує розрахунки, але іноді може ввести в оману. Так, у підрозділі 3.3 відносна площа листків (leaf area ratio, LAR) трактується як продуктивність роботи листкового апарату і розраховується за формулою  $LAR = (dLA/dt)/(dW/dt)$ , де  $LA$  – площа асиміляційної поверхні,  $W$  – маса надземної частини рослини,  $t$  – певний проміжок часу. Насправді, продуктивність роботи листкового апарату характеризує чиста продуктивність фотосинтезу (ЧПФ) або у дисертації NAR (net assimilation rate). LAR – це просто відношення площі усіх листків до маси рослини у певний момент часу (за аналогією з LWR, де замість площі використовують масу листків). Тобто LAR характеризує забезпеченість рослини асиміляційною поверхнею і у класичному ростовому аналізі розраховується як  $LAR = (L_{A2}/W_2 + L_{A1}/W_1)/2$  (Hunt, 1978).

Розрахунок, який використовує дисертантка є, швидше, похідною від часової функції цього показника, яка може використовуватись у моделі продукційного процесу для аналізу його динаміки, але не характеризує продуктивність роботи листків. Наприклад, у однорічних рослин з детермінованим типом росту площа листків збільшується до певної фази розвитку (LAR зростає з поступовим уповільненням) потім ріст листків припиняється, але вони продовжують фотосинтезувати і маса рослини збільшується (в першу чергу – за рахунок росту репродуктивних органів). В цей період  $dLA/dt = 0$ , тобто за формулою, використаною у дисертації буде  $LAR = 0$ , але ж листки працюють. Отже, цей показник не характеризує продуктивність їх роботи. Просто дисертант у своїх дослідях не дісталася до такої фази. В період дозрівання насіння сої листки починають відмирати, тобто площа асиміляційної поверхні скорочується, але накопичення маси у надземній частині продовжується, хоча й уповільненими темпами, оскільки в лисках, що залишилися, ще йдуть асиміляційні процеси. В цей період величина  $dLA/dt$  взагалі буде від'ємною з усіма наслідками, що витікають при розрахунку LAR за наведеною у дисертації формулою.

Дійсно, LAR, розрахована за класичною формулою, непрямо може характеризувати асиміляційну активність одиниці площі листової поверхні, наприклад – якщо у двох рослин за однакових умов вирощування LAR буде однаковою у певний момент вегетації, але у першій рослини маса буде більшою, ніж у другій, можна припустити, що у першій листки працюють активніше, проте кількісно це краще характеризує розрахунок NAR.

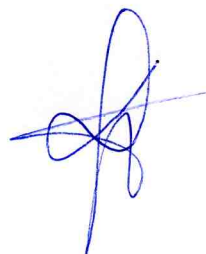
До розрахунків інших асиміляційних показників претензій немає, і в цілому зазначена помилка в інтерпретації показника LAR не вплинула на висновки.

Отже, вказані зауваження не носять принципового характеру і не знижують наукової цінності дисертації, яка є самостійним завершеним науковим дослідженням.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня кандидата біологічних наук. Аналіз дисертаційної роботи Юхно Ю.Ю. показує, що в цілому вона є завершеним науковим дослідженням, яке містить вирішення наукового завдання – з'ясування зв'язку вмісту і активності фітогормонів у листках і апікальних меристемах стебла рослин сої з процесами їх росту і розвитку за умов різної тривалості фотоперіоду залежно від алельного стану генів *E*. Для досягнення мети і вирішення задач дослідження автором використано комплекс сучасних адекватних методів.

Вважаю, що робота «Ріст, розвиток та фітогормональний статус ізогенних за *E*-генами ліній сої за різного фотоперіоду» за актуальністю, обсягом виконаних досліджень, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням відповідає вимогам пунктів 9, 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (зі змінами внесеними згідно з постановами КМ № 656 від 19.08.2015; № 1159 від 30.12.2015; № 567 від 27.07.2016; № 943 від 20.11.2019; № 607 від 15.07.2020), а її автор Юхно Юлія Юріївна заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.12 – фізіологія рослин.

Офіційний опонент,  
провідний науковий співробітник  
відділу фізіології та екології фотосинтезу  
Інституту фізіології рослин  
і генетики НАН України,  
доктор біологічних наук, професор



Д.А. Кірізій

