

ВІДГУК

офіційного опонента

**кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника
Шевченка Олексія Володимировича**

на дисертацію

**Потрохова Андрія Олександровича «Визначення вірусостійкості
трансгенних рослин родини *Solanaceae*, трансформованих
гетерологічними генами»,**

подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

1. Актуальність теми дисертації

Оскільки вірусні хвороби рослин здатні призводити до значних економічних збитків та впливати на продовольчу безпеку, використання рослин з підвищеною стійкістю до вірусів для вирішення проблем їх поширення в рослинних агробіоценозах є надзвичайно актуальним завданням як для України так і світу. Проте досі не існує єдиного високо ефективного уніфікованого способу боротьби з поширенням вірусних інфекцій.

Одним з таких способів є використання методів генетичної інженерії для підвищення вірусостійкості рослин шляхом їх генетичної трансформації.

Актуальність рецензованої роботи полягає у встановленні ефективності використання генів різного походження для створення вірусостійких рослин родини *Solanaceae*. В роботі використано конструкції з генами позаклітинних РНКаз бика (*bov*) та цинії (*ZRNase II*), та інтерферону людини (*inf-α2b*) для створення трансгенних рослин. Показано та проаналізовано відмінності перебігу інфекційного процесу в трансгенних рослинах, які експресують перенесені гени. Проаналізовано ефективність використання різних підходів до створення стійких до вірусів рослин. Також встановлені відмінності у метаболізмі між трансгенними рослинами розуміння взаємодії між патогеном та його хазяєм, та створювати нові перспективні підходи для боротьби з вірусами.

2. Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, поданих у дисертації та їх достовірність

Ознайомлення з текстом дисертації дозволяє зробити висновок, що дисертаційна робота є самостійною і завершеною науковою працею, яка є підсумком власних досліджень пошукача. Її зміст відповідає спеціальності 03.00.20 – біотехнологія. Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, поданих у дисертації, є високим.

Методологічний інструментарій сучасний і використаний належним чином. Правильний вибір методик досліджень, інтерпретація отриманих результатів вказує на те, що дисертант володіє методологічним апаратом і здатний самостійно планувати, реалізувати дослідження та тлумачити отримані результати. Мета і поставлена у роботі завдання, повністю досягнуті. Здобувачем проаналізовано та всебічно обговорено результати своїх досліджень в контексті світових результатів щодо предмету дослідження. Експериментальна робота виконана методологічно правильно, на достатній кількості матеріалу, висновки обґрунтовані та підтверджені проведеними дослідженнями.

3. Загальна характеристика дисертаційної роботи

Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів власних досліджень та їх обговорення, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаної літератури. Основна частина дисертаційної роботи викладена на 172 сторінках друкованого тексту, містить 39 рисунків, 10 таблиць. Список використаної літератури налічує 165 джерел, переважна більшість з них – це сучасні англійські наукові статті у іноземних наукових журналах та книгах.

Зміст та структура роботи у повній мірі відповідають завданням, а викладення основних результатів в процесі вирішення поставленої наукової проблеми – сформульованим окремим задачам дослідження, які відповідають паспорту спеціальності 03.00.20 – біотехнологія. Текст дисертації викладений в логічній послідовності, чітко, усі структурні частини роботи є пов'язаними між собою. Рівень наукового дослідження є високим. Всі розділи містять логічні, обґрунтовані та аргументовані висновки.

4. Наукова новизна результатів, отриманих в дисертаційній роботі

Вперше застосовано комплексний аналітично-порівняльний підхід визначення ефективності використання різних генів для створення вірусостійких рослин родини *Solanaceae* до вірусів рослин з РНК-геномом. Досліджено використання двох різних підходів на основі генів інтерферону, рибонуклеаз (тваринного та рослинного походження) для підвищення вірусостійкості рослин родини *Solanaceae*. Проаналізовано ефективність використання різних генів для підвищення стійкості рослин родини *Solanaceae* до РНК-вмісних вірусів рослин та показано відмінності у запропонованих підходах. Показано, що використання гена рибонуклеази рослинного походження дозволяє отримувати трансгенні рослини родини *Solanaceae* з вираженою вірусостійкістю до РНК-вмісних вірусів рослин. Розроблено нові біотехнологічні підходи для створення рослин родини *Solanaceae*, стійких до вірусних інфекцій.

Дисертант вперше запропонував нові біотехнологічні рішення задля отримання рослин з підвищеною вірусостійкістю на основі гетерологічних генів різного походження.

5. Практичне значення результатів, отриманих в дисертаційній роботі

Запропонований методичний підхід може бути застосований для розроблення нових сортів вірусостійких рослин родини *Solanaceae* у спеціалізованих селекційних лабораторіях. На основі представлених даних можуть бути розроблені науково-дослідні та науково-практичні програми для дослідження стійкості рослин до РНК-вмісних вірусів. Отримані дані щодо взаємодії між вірусами і трансформованими рослинами можуть бути використані при викладанні спецкурсів з біотехнології, клітинної біології, вірусології, цитології.

6. Повнота викладу наукових результатів в наукових публікаціях за темою кандидатської дисертації

Основні положення та результати дисертаційного дослідження знайшли своє відображення у 19-ти наукових працях, у тому числі статті у фахових українських виданнях (2 статті в журналах категорії А, які включені до наукометричної бази Scopus та 2 статті категорії Б), а також 3 статті видані в іноземних журналах, 2 з яких включені до наукометричної бази Scopus та 12 тез доповідей із з'їздів та

конференцій, на яких робота пройшла успішну апробацію.

Слід відмітити наявність однієї статі, що належать до квартилю Q2 та двох статей квартилю Q3 відповідно до класифікації SCImago Journal. Хотілося б відзначити, що така якість і кількість наукових публікацій є вагомим науковим доробком для молодого вченого. Також, можна з упевненістю констатувати, що зазначені публікації повною мірою висвітлюють основні наукові положення дисертації як на вітчизняному, так і на міжнародному рівні.

У дисертації та інших публікаціях Потрохова А.О. не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації та інших порушень академічної доброчесності.

7. Зауваження до дисертаційної роботи

В роботі наявні граматичні та орфографічні помилки, стилістично невдалі вирази. Деякі терміни є неправильними з точки зору вірусології, зустрічається використання різних виразів для позначення однакових об'єктів (РНК віруси, РНК-вмісні віруси, стрес-реакції, назви вірусів та ін.). Також привертають увагу окремі недоліки у форматуванні тексту, назвах розділів та ін.

Зміст виглядає завеликим із значною кількістю подібних підрозділів, його було б варто скоротити, наприклад, прибравши підпідрозділи (З.а.б.). Назви окремих (під)розділів є невдалими/неінформативними/дублюючими.

У переліку скорочень, окрім власне розшифровки англійських акронімів англійською мовою, варто було б надати їх переклад українською. Те саме стосується акронімів вірусів. Назви вірусів англійською мовою, за новими вимогами, надаються малими літерами та без курсиву (якщо не йдеться про таксономію). Скорочення варто було б надати в якомусь зрозумілому порядку або ж за алфавітом. Оскільки є розділ з переліком скорочень, то автору слід було звернути увагу на правила використання скорочень по тексту роботи замість повних назв. Те саме стосується використання латини. Повну біноміальну назву дають вперше, а надалі – скорочену (*N. tabacum*, а не *Nicotiana tabacum*, і т.д.), окрім підписів до рисунків, де дають повну видову назву.

Підрозділ 1.2 (Об'єкти дослідження) варто було б перенести до методичної частини роботи або ж, враховуючи його суто літературний характер, перейменувати.

Розділ 1 є за своєю суттю літературним оглядом і тому не повинен

супроводжуватися висновками. Те саме стосується фрази «Результати розділу 1...». Це не результати пошукача. Висновки мають бути підсумком виключно власних експериментальних досліджень. У даному разі це могли б бути підсумки або узагальнення.

У розділі «Матеріали та методи» в своїй більшості відсутні посилання на авторів методик чи об'єктів дослідження. Рисунки 2.4, 2.5 не є інформативними і непотрібні.

Підписи рисунків у розділі 3 мають бути самодостатніми. Наприклад, з підпису рис.3.2 неясно, що були за рослини, які були маркери. З підпису рис.3.3. незрозуміло, чим були інфіковані рослини, на який день після інфікування аналізувалися симптоми. На рис 3.4 неправильно підписані маркери.

Висновки цілком відповідають суті роботи і отриманим результатам, однак, на думку опонента, могли б краще передати всю її актуальність у разі відповідної коректури.

Окрім зауважень, до пошукача також виник ряд питань, зокрема:

1. Чи може автор пояснити, звідки виникла гіпотеза щодо можливої зміни ультраструктури клітин трансгенних рослин, яку досліджували методом трансмісійної електронної мікроскопії?

2. Автор стверджує про підвищену РНКазну активність у трансгенних рослинах загалом в 1,34-6 рази порівняно з рослинами дикого типу. Наскільки дані результати є статистично достовірними і скільки рослин було обрано для таких експериментів?

3. Чим опосередковувався вибір генів (зокрема, інтерферону) для створення трансгенних конструктів та рослин? Чому в більшості були обрані саме РНКазы, причому позаклітинні, і чому у випадку рослинних РНКаз був обраний ген з цинії?

4. Яким чином проведення ПЛР та підтвердження наявності гена *ZRNase II* може свідчити про відсутність явища мовчання генів (п.3.3.1, с. 116), адже наявність гена не є гарантією його експресії?

Опонент зазначає, що не зважаючи на окремі недоліки представленої роботи, вона вирізняється високим методологічним рівнем її виконання, актуальністю та відповідністю стратегічним національним інтересам, в тому числі в галузі продовольчої безпеки, а пошукач продемонстрував здатність до самостійного планування, виконання науково-дослідної роботи та тлумачення і апробації отриманих результатів.

8. Відповідність кандидатської дисертації встановленим вимогам і загальні висновки

На підставі детального аналізу можна стверджувати, що рецензована робота має обґрунтоване науково-практичне значення, містить актуальні, обґрунтовані дослідження, які раніше не виносилися на захист, є особистим напрацюванням автора. Представлені результати повною мірою представлені в наукових публікаціях та мають наукову та практичну цінність. Плагіат та фальсифікації відсутні.

Таким чином, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Потрохова Андрія Олександровича «Визначення вірусостійкості трансгенних рослин родини *Solanaceae*, трансформованих гетерологічними генами» відповідає вимогам паспорту спеціальності 03.00.20 – біотехнологія, та вимогам, які ставляться до робіт на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук пп. 9, 11 «Порядку присудження наукових ступенів» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. №567 щодо кандидатських дисертацій, а її автор Потрохов Андрій Олександрович заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент

Кандидат біологічних наук,
Старший науковий співробітник,
Доцент кафедри вірусології
ННЦ «Інститут біології і медицини»
Київського Національного університету
імені Тараса Шевченка

Олексій ШЕВЧЕНКО

