

## ВІДЗІВ

офіційного опонента про дисертаційну роботу **Жарікової Дар'ї Олександрівни «Поліморфізм за локусами асоційованими з генами *E*, в українських сортах та лініях сої (*Glycine max* (L.) Merr.)»**, подану до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика

**Актуальність теми.** Робота Жарікової Д.О. присвячена вирішенню актуального питання – дослідженню генетичного поліморфізму за локусами, асоційованими з генами фотоперіодичної чутливості сої в сортах і перспективних лініях сої української селекції. Добір ефективніших *E*-генотипів у тих або інших агроекологічних умовах, цілеспрямоване використання у селекційних програмах домінантних та рецесивних алелів генів *E* стримується складністю визначення генотипів за фенотиповим проявом зазначеної ознаки. У зв'язку з цим виникає необхідність використання нових методів визначення алелів генів *E* за допомогою ПЛР-аналізу, зокрема аналіз генетичного поліморфізму рослин сої із застосуванням мікросателітних та алель-специфічних маркерів до *E*-генів. Це дозволяє, визначати алельний стан генів чутливості до фотоперіоду в генотипах сортів сої, дослідити вплив алелів цих генів на агрономічні ознаки сої в певних умовах вирощування та рекомендувати сорти для використання в селекційних програмах. На фоні глобальних змін клімату з підвищенням середньорічних температур на території нашої країни, що створює нові умови для розвитку рослин сої, в основних регіонах її вирощування, представлена робота поза усілякими сумнівами є актуальною.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі генетики та молекулярної біології біологічного факультету Одеського національного університету імені І.І. Мечникова в межах НДР «Поліморфізм локусів фотоперіодичної чутливості сортів пшениці і сої та залежність їх продуктивності від алельного складу локусів за даними ПЛР-аналізу» (№ ДР 0117U001114, 2017-2019 рр.).

**Достовірність і обґрунтованість результатів наукових положень і висновків.** Наукові положення та висновки логічно впливають з фактичного матеріалу і носять об'єктивний характер, оскільки обґрунтовані

результатами експериментальних досліджень. У дисертаційній роботі Жарікової Д.О. використано сучасні методи молекулярно-генетичного аналізу – алель-специфічну ПЛР та мікросателітний аналіз, біохімічні методи алозимного аналізу ферментів антиоксидантної системи, методи електрофоретичного розподілу продуктів ампліфікації та ферментів, а також методи математичної статистики.

**Новизна отриманих результатів.** За матеріалами наукових досліджень автором *вперше*:

охарактеризовано генотипи українських сортів та ліній сої за допомогою MS-маркерів, зчеплених з генами *E1, E2, E3, E4, E7*, створено інформаційну базу даних – алелів мікросателітних локусів;

визначено алелі генів *E3* та *E4* в генотипах українських сортів та перспективних ліній сої за допомогою алель-специфічних маркерів;

запропоновано панель маркерів, яка дозволяє диференціювати сорти сої та паспортизувати їх генотипи; за допомогою статистичного аналізу визначено вплив алелів генів *E1, E2, E3, E4, E7* на агрономічні ознаки сортів і ліній сої при вирощуванні в умовах Правобережного Лісостепу; показано, що сорти сої з генотипами з рецесивними алелями локусів *e1 e2 e3 e4 e7* характеризуються коротшим вегетаційним періодом;

продемонстровано, що вплив певних мутагенів похідних тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-діаміну та тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-піридину індукує мінливість у мікросателітних локусах та змінює алельний стан гена *E3* в генотипах мутантних ліній сої

**Практичне значення отриманих результатів.** Запропонована автором маркерна селекція для відбору ліній сої з алелями *Satt365<sub>270</sub>, Sat\_038<sub>247</sub>, Satt229<sub>230</sub>, Satt354<sub>178</sub>, Satt100<sub>131</sub>, Satt319<sub>178</sub>*, може бути використана селекціонерами для визначення генотипів, що мають прискорені темпи розвитку, зокрема раннє цвітіння та дозрівання. Автор рекомендує застосовувати генотип мутантної лінії ‘Золотиста М16’ (як ранньостиглий) як донор генів для створення ранньостиглих форм сої. Для селекції направленої на стабільність врожаю в умовах Вінницької області (або наближених до них) автором запропоновано генотипи гібридних ліній ‘ПСВ-I №4001’, ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘КР-II №3045’, ‘КР-II №3014’. Заслуговує на увагу

те, що рекомендації, надані за результатами проведеної ПЛР для визначення алельного стану генів фотоперіодичної чутливості (*E1, E2, E3, E4, E7*), у селекційному матеріалі, створеному за допомогою методу хімічного мутагенезу та шляхом гібридизації сортів різних груп стиглості сучасних сортів української селекції, впроваджено у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції сої і зернобобових культур Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН.

Отримані автором результати були використані у навчальному процесі для студентів біологічних спеціальностей закладів вищої освіти для поглиблення курсу «Молекулярна генетика», а також у відповідних спецкурсах. На жаль, про це автором не сказано як у дисертації, так і в авторефераті.

**Рекомендації щодо подальшого використання результатів роботи та доцільність продовження і розвитку відповідних досліджень.**

Надані автором рекомендації щодо використання маркерної панелі із шести мікросателітних маркерів *Satt100, Satt229, Satt319, Satt354, Satt365, Sat\_038*, у подальшому дозволять диференціювати сучасні сорти і лінії сої та проводити їх паспортизацію, можуть бути залучені до захисту авторських прав на сорти сої. В подальшому слід розширити дослідження вітчизняних генотипів сої за допомогою алель-специфічної ПЛР та доповнити інформацією створену базу даних сортів сої за алельним станом генів *E*, а також розширити спектр сортів, що вивчаються. Отримані результати з використанням даної панелі мікросателітних та алель-специфічних маркерів дозволили зробити перші кроки у вивченні українського генофонду сої та продемонструвати доцільність проведення та поглиблення досліджень у цьому напрямку.

**Повнота використання в роботі наукової літератури у даній галузі.** Список використаних літературних джерел включає 282 посилання, із них більшість – в іноземних виданнях, в тому числі 124 за останні 5–10 років, що дозволяє повністю охарактеризувати сучасний стан розробки маркерного аналізу генів фотоперіодичної чутливості сої в світі.

**Оцінка наукової та літературної якості складу матеріалу і стилю дисертації та автореферату.** Дисертація і автореферат *Жарікової Дар'ї*

*Олександрівни* написані у традиційній формі, оформлені відповідно до вимог ДАК МОН України. Дисертація викладена на 230 сторінках комп'ютерного друку і складається із переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів та їх обговорення, які включають п'ять підрозділів, висновки, список використаних джерел. Робота добре ілюстрована – містить 47 рисунків і 36 таблиць, які допомагають кращому сприйняттю отриманих автором результатів.

У **вступі** дисертант вказує на актуальність дослідження генетичного поліморфізму із застосуванням ДНК-маркерів до локусів, асоційованих з генами чутливості до фотоперіоду у сучасних сортах і лініях сої. Дисертантка аналізує вплив цих генів на агрономічно-важливі ознаки сої в різних агро-кліматичних зонах її вирощування. Автор підкреслює, що застосування маркер-опосередкованої селекції дозволяє скорочувати селекціонерам час, потрібний для створення сортів, та обирати краще пристосовані до певного регіону вирощування сорти, враховуючи можливості адаптації рослин до абіотичних стресів на генетичному рівні.

Автор акцентує увагу на складність селекційного процесу навіть із застосуванням молекулярних маркерів та вказує на необхідність врахування змін клімату, нерівномірного розподілу вологи та різкі температурні перепади, пов'язані, у тому числі, з інтенсифікацією антропогенної діяльності.

**Огляд літератури** включає **вісім підрозділів**, у яких Жаріковою Д.О. надається характеристика роду *Glycine* та розповсюдженню *Glycine max* (L.) Merr. у світі, описується геном *Glycine max* (L.) Merr., наводяться основні напрями селекційної роботи з соєю в Україні та в світі. Визначення понять фотоперіодичної чутливості та опису генетичного контролю фотоперіодичної чутливості у рослин сої, із зазначенням структури генів *E1-E11*, їх локалізації та продуктів експресії, а також їх впливу на кількісні ознаки сої (цвітіння, дозрівання, тривалість вегетаційного періоду, масу 1000 насіння та врожайність), автор наводить в огляді літератури поряд із характеристикою молекулярно-генетичного поліморфізму генів *E* у світовому генофонді сої.

Огляд літератури написаний ґрунтовно із залученням значної кількості сучасних вітчизняних та іноземних наукових джерел з досліджуваної

тематики. Слід відзначити, що наприкінці «Огляду літератури» автор викладає короткий підсумок і обґрунтування необхідності проведення досліджень, яким присвячена дисертаційна робота, що дає можливість кращого розуміння представленого у роботі експериментального матеріалу та підкреслює новизну виконаних досліджень.

У **розділі 2** «Матеріали та методи досліджень», здобувач наводить відомості щодо вихідного рослинного матеріалу та методів, які були застосовані під час виконання експериментальної частини роботи, а саме, описує: екстракцію геномної ДНК, ПЛР-аналіз ДНК сої із використанням мікросателітних і алель-специфічних маркерів, електрофорез продуктів ампліфікації в агарозних і поліакриламідних гелях та на генетичному аналізаторі ABI PRISM Genetic Analyzer 3500 (США), біохімічні методи алозимного аналізу про-, і антиоксидантних ферментів: НАДФ•Н-оксидази, пероксидази і супероксиддисмутази, аналіз результатів із застосуванням програми GelAnalyzer 2010a та GeneMapper® Software Version 4.1. Вплив визначених алелів на агрономічно-важливі ознаки здобувач аналізувала за допомогою статистичних методів у програмі Statistica 12. Слід зазначити, що адекватний підбір методичних підходів забезпечив успішну реалізацію основних завдань дисертаційної роботи.

Наведені у дисертаційній роботі «Результати дослідження та їх обговорення» включають п'ять підрозділів (**підозділи 3.1–3.5**).

У межах **підрозділу 3.1** «Використання мікросателітних локусів, асоційованих з генами *E* для ідентифікації та паспортизації сортів сої» автором наведено результати дослідження вибірки з 12 сортів сої за мікросателітними маркерами *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365*, *Sat\_038*. Використані в роботі МС-локуси визначаються автором як достатньо поліморфні; індекс поліморфності (PIC) коливався від 0,68 для локусів *Satt365*, *Sat\_038* до 0,76 для локусу *Satt229*. Авторкою наводиться дендрограма, побудована за результатами кластерного аналізу вибірки за методом UPGMA, демонструє можливість використання зазначених мікросателітних маркерів для диференціації, паспортизації та реєстрації сортів сої, при перевірці насінневого матеріалу різного походження та для захисту авторських прав.

У підрозділі 3.2 «Алельний стан локусів *E* за мікросателітними і алель-специфічними маркерами у сортах сої, створених в різних селекційних центрах України», автором подано результати дослідження ПЛР аналізу за мікросателітними та алель-специфічними маркерами. За результатами мікросателітного аналізу автор повідомляє, що мікросателітні локуси *Satt229* і *Satt354*, не є ефективними діагностичними маркерами для визначення відповідних алелів *E* генів у сортовому матеріалі сої, як то вказували Molnar et al. (2003) для визначення алелів за генами *E3*, *E4* в майже-ізогенних лініях сої. Тому алельний стан цих генів уточнювався здобувачем за допомогою алель-специфічної ПЛР. За результатами алель-специфічної ПЛР наявні контрольні зразки сортів ‘Maple Arrow’ та ‘Рось’, що за даними літератури описані як носії домінантного алеля *E3*, характеризувалися фрагментом ампліфікації розміром 275 п.н., який відповідає рецесивному алелю *e3-tr*, згідно даних Xu et al 2013. Сорти ‘Подяка’, ‘Галина’ мали фрагмент ампліфікації розміром 558 п.н., який згідно даних Kurasch et al 2017, відповідає домінантному алелю *E3-Ha*.

Автор посилається на повідомлення Xu et al., (2013), згідно з яким, більшість генотипів, попередньо визначених як носії домінантного алелю *E3*, після секвенування нуклеотидної послідовності локусу *E3*, виявилися носіями дисфункціонального алелю *e3-tr* (truncated), з делецією 3'-регіону, включаючи четвертий екзон (Watanabe et al., 2009) і, таким чином, продукували усічені білки, як результат експресії гена GmPNUA3 (*E3*). За локусом *E4* домінантний алель, визначали за розміром фрагмента ампліфікації 1229 п.н. в алель-специфічній ПЛР і детектували його в генотипах сортів ‘Подяка’, ‘Полтава’, ‘Галина’, а сорти ‘Золотиста’, ‘Мавка’ характеризувалися фрагментом ампліфікації розміром 837 п.н., який є специфічним до рецесивного алеля *e4-SORE-1*, з інсерцією (схожою на ретротранспозон (*Ty1/copia*) в послідовності кодуючої ДНК в 6238 п.н.). Підсумовуючи отримані результати, автор відзначає, що переважна більшість досліджених сортів сої 83% та 72% є носіями домінантних алелів *E3* та *E4*, відповідно. Носіями генотипів з рецесивними алелями *e3-tr*, *e4-SORE-1* виявилися сорти ‘Мавка’ і ‘Золотиста’, а у сорту ‘Кобза’ детектовано домінантний алель *E3-Ha* і рецесивний алель *e4-SORE-1*.

У підрозділі 3.3 «Поліморфізм за локусами асоційованими з генами *E* у перспективних для селекції мутантних ліній сої» автором представлено результати аналізу генетичного поліморфізму за мікросателітними та алель-специфічними маркерами 4 вихідних сортів та 10 похідних мутантних ліній. Кількість алелів, детектованих в цьому матеріалі за мікросателітними локусами, варіювала від 2 до 5 із середнім значенням 3,3; всього детектовано 20 алелів. Визначено нові алелі за МС-маркерами, яких не було у вихідних сортах, таким чином, виявлено зміни розміру алелів у 10 мутантних ліній, порівняно з вихідними сортами.

Авторка відзначає значні відмінності між досліджуваними лініями, які виявлені за три роки польових випробувань у Вінницькій області (49° півн.ш.) для фаз розвитку рослин сої, таких як цвітіння-дозрівання та вегетаційний період. За результатами однофакторного дисперсійного аналізу за три роки польових спостережень показано, що фактор «МС-локус» достовірно впливав на час цвітіння, і наявність домінантного алелю *E1* у мутантній лінії ‘Золотиста М16’, що приводило до більш раннього цвітіння (приблизно на 10 днів). Також здобувачем відзначається, що застосовані мутагени призводили до змін в нуклеотидній послідовності гену *E3*. Так, вихідні сорти ‘Оксана’ і ‘Подільська 416’ мали домінантний алель *E3-На*, визначений фрагментом ампліфікації 558п.н. з алель-специфічними праймерами, а після проведення обробки мутагеном похідні від зазначених сортів мутантні лінії, характеризувалися наявністю фрагментів ампліфікації – 275 п.н., отриманими із праймерами до алелю *e3-tr*. Для ліній ‘Золотиста М16’, ‘Золотиста М20’ спостерігали також зміни за розміром фрагментів ампліфікації, але в іншому напрямку, алель *e3-tr* відновився до дикого типу і став домінантним *E3*. Автором роботи висунуто припущення про наявність зворотньої або супресорної мутації, яка призвела до реверсії алелю *E3-На*.

**Підрозділ 3.4** «Генетико-біохімічні особливості сортів і ліній сої та їх кореляції з генами чутливості до фотоперіоду», автором повідомляється, що в першій частині роботи на вибірці з 36 зразків сої, досліджено кореляції алозимного аналізу електрофоретичних спектрів ензимів –пероксидази (РОХ) і супероксиддисмутази (SOD) (їх ізоформ з різною електрофоретичною рухливістю) – з алельним станом за локусами генів *E* і показниками врожайності попередньо досліджених певних сортів і ліній сої. В другій

частині проведено індивідуальний аналіз окремих рослин кожного із 4 зразків сої, окрім зазначених вище ферментів, аналізували за електрофоретичним спектром ензиму НАДФ·Н-оксидазою (NOX). Досліджені сорти та лінії відрізнялися між собою за загальною пероксидажною активністю та за розташуванням окремих форм ензиму у спектрі.

У спектрі SOD чітко виявлялася мажорна зона ( $R_f$  0,50-0,57), в якій у середньому зосереджувалось майже 80% всій активності ензиму. За результатами кореляційного аналізу, виявили зв'язок між співвідношенням загальної активності SOD з загальною активністю POX, з особливостями комбінації домінантних алелів  $E3$  і  $E4$ . Домінантний алель гена  $E3$  демонстрував асоційованість з окремими формами як POX, так і SOD. Встановлено помірну позитивну кореляцію домінантного алеля гена  $E7$  з мало рухливими формами ( $R_f$  0,06-0,21) та помірну негативну з середньо рухливими ( $R_f$  0,021-0,34) формами пероксидази. Швидкі форми ферменту з електрофоретичною рухливістю ( $R_f$  0,34-0,37) не демонстрували зв'язку з домінантним алелем  $E7$ . За показниками активності ферментів антиоксидантної системи та їх кореляції з ознакою врожайності сої, встановлено слабкий зворотній зв'язок за загальною активністю ферменту супероксиддисмутази. Дисертантом наводиться слабкий зворотній зв'язок ( $r=-0,17$ ) за загальною активністю фермента супероксиддисмутази з показниками врожайності сої. Інших зв'язків за отриманими результатами показників активності ферментів антиоксидантної системи з врожайністю не виявлено.

За результатами алозимного аналізу сортів 'Korada' і 'Феміда' і двох похідних ліній 'Феміда M29', 'Феміда M32' виявлено сім локусів POX і по шість локусів NOX і SOD. Всього з 19 локусів досліджених ензимів 15 були поліморфними з двома виявленими алелями.

У **підрозділі 3.5** «Характеристика за мікросателітними та алель-специфічними маркерами локусів  $E$  ліній сої, отриманих шляхом гібридизації» подано результати проведеного молекулярно-генетичного аналізу на вибірці із 6 батьківських сортів і 19 ліній, отриманих шляхом гібридизації. Дисертанткою відзначається, що в умовах Правобережного Лісостепу (Вінницька область) сорти 'Korada' і 'Labrador', носії алелів  $E1$  і



*E3-На e7* переходили до фази цвітіння майже на 10 днів раніше ( $p_{UHSD} < 0,05$ ), ніж лінії ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘КР-I №3014’, ‘КР-II №3045’, носії напів-функціонального *e1-as* і рецесивних алелів *e1* і *e3-tr e7* за цими локусами.

Для визначення впливу факторів «генотип» і «рік», за результатами МС-аналізу в поєднанні з результатами алель-специфічної ПЛР, у дослідженій вибірці передбачено 10 генотипів або алельних комбінацій за генами *E*. Для ліній отриманих шляхом гібридизації з рецесивними алелями за локусом *E7* з генотипами *e1-as E4 e7* (генотип 1), *E1 E4 e7* (генотип 4), *e1-as e4 e7* (генотип 7), *e1 e4 e7* (генотип 9), *e1-as E4 e7* (генотип 10), характерна скорочена тривалість вегетаційного періоду порівняно з іншими генотипами дослідженої вибірки, а лінії-носії генотипів з алелями *e1-as E4 E7* (генотип 3) *e1 E4* (генотип 8), навпаки відзначилися подовженим вегетаційним періодом в умовах вирощування у Вінницькій області. Таким чином, можна відзначити, що для створення сортів сої із скороченим строком дозрівання та періодом вегетації, до вихідного матеріалу потрібно вносити рецесивні алелі *e1, e2, e3, e4, e7*.

За результатами двофакторного аналізу впливу фактору (рік, генотип) на ознаку врожайності, необхідно відзначити рослини-носії генотипів 6, 9, 10, які демонстрували відносну стабільність врожаю за три роки польових досліджень у 2015-2017 р.р..

**Висновки**, які зроблені здобувачем, у цілому відповідають меті і завданням дисертації та обґрунтовані експериментальним матеріалом.

**Автореферат** у цілому відповідає змісту дисертації.

**Повнота викладу основного змісту дисертації в опублікованих працях у наукових виданнях, затверджених ДАК МОН України.** Основні положення дисертаційної роботи відображені у 12 публікаціях, що включають 6 статей (1 стаття у Scopus, 2 статті у Web of Science, три статті у фахових виданнях категорії Б) та 6 тез – у матеріалах та тезах міжнародних конференцій.

Водночас, до дисертаційної роботи можна висловити низку *побажань і зауважень*.

1) Огляд літератури є великим за обсягом. У той же час, у ньому недостатньо уваги приділено антиоксидантній системі сої, а також

обґрунтуванню застосування алозимного аналізу при вивченні локусів фотоперіодичної чутливості сої.

2) Назва розділу 3 «Алельний стан локусів *E*, що детермінують чутливість сої до фотоперіоду в українських сортах та лініях сої», не пов'язана з результатами проведеного біохімічного аналізу рослинного матеріалу, який наведено в цьому розділі.

3) У тексті роботи при обговоренні результатів, автором роботи не розглядається можливість впливу на фотоперіодичну чутливість і агрономічні ознаки сої інших локусів *E* (*E8-E11*).

4) У розділі 3.4. роботи в другій частині дослідження за ферментами, йде мова про проведення індивідуального аналізу рослин сої з порівнянням результатів усередині вибірки, яка складається лише з 4 зразків (2 сорти і 2 лінії). Вважаємо, що представлення отриманих результатів потребує розширення кількості зразків.

5) У третьому розділі роботі присутні повтори, у підрозділах 3.2, 3.3, 3.5 – повторюється інформація про відсутність домінантних алелів за локусом *Sat\_038*, автор повторно наводить розміри фрагментів референсних сортів, незмінні для кожної вибірки з посиланням на одні й ті самі джерела. На наш погляд, доцільно було б помістити результати за референсними сортами у таблицю на початку розділу 3, та посилатися на неї під час обговорення результатів за всіма підрозділами.

6) Таблиця 3.5 підрозділу 3.2 містить характеристику сортів сої на вміст протеїну, але в тексті роботи це питання не обговорюється. У таблиці 3.12 підрозділу 3.4 відсутні показники відносної електрофоретичної рухливості форм пероксидази за локусами *POX-2* і *POX-4*.

7) На нашу думку, кількість *Додатків* до роботи є надмірною та тяж сприяє перевантаженню та збільшенню обсягу роботи. Доцільно було б залишити важливіше, а зайве прибрати.

8) На жаль, у роботі відсутні окремі посилання, які наведено в списку використаної літератури. Крім того, список використаних джерел містить неточності у оформленні.

Однак, зазначені зауваження і побажання не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

**Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня кандидата біологічних наук.**

Даючи оцінку дисертаційної роботи Жарікової Д.О. у цілому, слід зазначити, що вона є завершеним науковим дослідженням, яке містить вирішення проблеми визначення за допомогою мікросателітних та алель-специфічних маркерів алелі генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4* та *E7* у сучасних українських сортах і лініях сої, а також оцінку їхнього впливу на агрономічно-важливі ознаки сої за вирощування в умовах Правобережного Лісостепу України.

Вважаю, що робота «Поліморфізм за локусами асоційованими з генами *E*, в українських сортах та лініях сої (*Glycine max* (L.) Merr.» за своєю актуальністю, обсягом виконаних досліджень, інтерпретацією отриманих результатів, їхнім 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, Жарікова Дар'я Олександрівна, заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

Офіційний опонент,

доктор біологічних наук, професор,

декан хіміко-біологічного факультету,

завідувач лабораторії екології та біотехнології

Тернопільського національного педагогічного

університету імені Володимира Гнатюка



Н. М. Дробик

Підпис *Дробик Н.М.*  
 засвідчую:  
 Начальник відділу кадрів

*Дробик Н.М.*