ВІДГУК

офіційного опонента,

доктора біологічних наук, завідувача кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» Антонюка Максима Зиновійовича на дисертаційну роботу БЛЮМА РОСТИСЛАВА ЯРОСЛАВОВИЧА «**ВПЛИВ АЛОПОЛІПЛОЇДИЗАЦІЇ НА ДИВЕРГЕНЦІЮ ГЕНІВ ТУБУЛІНУ У ХРЕСТОЦВІТИХ», висунутої на здобуття наукового ступня доктора філософії зі спеціальності** – 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія»

Актуальність обраної теми та зв'язок з науковими програмами.

Рослини родини Капустяних (Brassicaceae) відноситься до важливих для харчування людини. Серед представників родини практично нема отруйних для людини рослин, багато видів культивуються у промислових масштабах, інші ж можуть бути потенційним джерелом калорій для харчування чи інших потреб людини. Окремі види родини, передовсім з родів *Brassica* та *Arabidopsis* вже майже 100 років є модельними для генетики рослин, на них у різний час вивчались процеси аллоплоїдизації при видоутворенні, генетика індивідуального розвитку, генетику регуляції цвітіння. Для цих модельних рослин створено набори мутантних ліній, геноми більшості капустяних відносно невеликі, їх великою мірою сиквеновано. Досліджено велику кількість геномних поліморфізмів, геномні збірки анотовано. Вся ця інформація створює передумови для вивчення тих наукових проблем, що ними зайнявся дисертант: вивчення структури тубулінових генів у Капустяних, беручи до аналізу різних передставників родини з родів *Arabidopsis, Brassica, Camelina*. Гени тубулінів є консервативною генетичною системою, різноманітність генів тубулінів залишаються маловивченими, як і функції окремих ізоформ продуктів цих генів.

Дослідження є цікавим тим, що поєднує переваги використання таксону рослин, що є серед лідерів у генетичній вивченості і модельної генетичної системи – тубуліну.

Дисертаційне дослідження виконувалось згідно плану науково-дослідних робіт в рамках держбюджетних тематик та грантів ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» (м. Київ): «Ідентифікація родини генів тубулінів *Brassica rapa* та характеристика їх

геномної організації у різних підвидів» (№ ДР 0122U002425, 2022-23 рр.); «Генетичне різноманіття та популяційно генетична структура рижію дрібноплідного в українській частині його центру походження» (№ ДР 0122U002196, 2022-23 рр.); «Вивчення екзон-інтронної структури генів рослин та грибів як джерела генетичних маркерів для молекулярно-генетичних досліджень та маркер-опосередкованої селекції»(№ ДР 0124U002604, 2024-28 рр.); «Геномна еволюція родини генів тубуліну у різних підвидів *Brassica rapa*» (№ ДР 0125U002944, 2025-26 рр.).Частина роботи також була виконана в рамках спільного науково-дослідного проєкта «Unraveling the diversity of polyploid wild *Camelina* germplasm for biofuel crop improvement» програми EURIZON, яка фінансувалась в рамках програми «Horizon2020» за грантовою угодою № 871072 (Грантова угода УНТЦ –EU#3044) (2024–25рр.).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, та їхня достовірність

Положення і висновки, наведені у дисертаційній роботі Р.Я. Блюма обґрунтовано адекватністю використаних методів до тих питань аналізу структури геномів капустяних, що їх автор роботи аналізував. У роботі використовувались сучасні методи біоінформатики, геноміки та молекулярної генетики рослин. План експериментального дослідження, поставлені завдання забезпечують розв’язання мети роботи, виконано велику роботу з пошуку та апробації біоінформатичних алгоритмів з аналізу послідовностей тубулінових генів у різних представників родини. Достовірність отриманих результатів забезпечується належним використанням програмних продуктів до аналізу біологічних даних, відтворюваністю отриманих результатів у ході виконання дослідження. Отримані у роботі дані належним чином статистично опрацьовано. Висновки відображують основні результати дослідження та узагальнюють виявлені закономірності.

Наукова новизна положень, результатів і висновків дисертаційної роботи

У ході виконання дисертаційного дослідження вперше було детально вивчено вплив аллополіплоїдизації на перебіг еволюції родини генів α-, β-та γ-

тубуліну у десяти видів рослини Капустяних: як диплоїдних так і аллополіплоїдних. Продемонстровано відмінності у впливі аллополіплоїдизації на збереженість набору генів тубуліну у Капустяних різних груп. Показано, що різноманіття ізотипів α-та β-тубулінів у Brassicaceae виникло як результат внаслідок низки дуплікацій різного характеру та масштабу. Вперше встановлено, що наявність двох ізотипів γ-тубуліну є специфічною рисою лише видів з триби Camelineae. Важливим результатом є виявлення атипової екзон-інтронної структури гена β-тубуліну для дводольних рослин–ген β-тубуліну у А-геномі *Brassica*, ортологи якого характеризуються втратою першого інтрона. Автором показано, що γ-тубуліни А-та С-геномів *Brassica* зазнали злиття 4-го та 5-го екзонів, через що мають лише дев'ять екзонів, а не десять.

Практичне значення отриманих результатів.

Експериментальні дані щодо еволюції родини генів тубулінів у Капустяних доповнюють розуміння процесів дивергенції гомологічних генів після подій поліплоїдизації у рослин. Зокрема, представлені результати роблять можливим використання родин генів тубуліну як модельної при вивченні еволюції родин генів.

Запропоновано підхід, що поєднує використання молекулярних маркерів для оцінки поліморфізму довжини інтронів генів як β-, так і γ-тубуліну для ДНК-баркодингу різних видів *Camelina*, може бути використаний разом із іншими молекулярними маркерами під час роботи з відбору генотипів у селекційних програмах, екологічному моніторингу, таксономічній ідентифікації, у інших сферах, де існує необхідність швидкого та надійного визначення видової належності рослин. Поєднання даних геномних досліджень з результатами генотипування на основі аналізу поліморфізму довжини інтронів генів β-тубуліну, продемонстрований на прикладі різних підвидів та гібридних форм *B. rapa*, здатен забезпечити ефективне генотипування, котре може бути потенційно використане не лише у MAS для селекції олійних культур, а й для підтвердження генотипу, ідентифікації сортів тощо. Запропоновані підходи не потребують спеціалізованого обладнання, є економічно доступними.

Повнота викладу результатів дисертаційної роботи та наукових положень в наукових публікаціях за темою дисертації, апробація роботи

За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових праць, з них 1 стаття у фаховому науковому виданні України та 4 статті у наукових періодичних виданнях, включених до міжнародної наукометричної бази Scopus (**Q1**–2, **Q3**–1, **Q4**–1), опубліковано 11 тез доповідей на наукових конференціях.

Основні положення та результати дисертаційної роботи було оприлюднено на: на круглому столі «Актуальні питання сучасної молекулярної біології» в рамках Днів науки НаУКМА (Київ, Україна, 2026); IIIInt.Biol.& LifeSci.CongressBIOLIC2025 (Antalya, Turkey, 2025); II Міжнародній науково-практичнійконференції «Молекулярна генетика, селекція та біотехнологія агрокультур: досягнення та виклики» (Одеса, Україна, 2025); XX Міжнародній науковій конференції «Чаргаффські читання» (Чернівці, Україна, 2025); Міжнародній науковій конференції «Біотехнологія, генетика та біохімія сільськогосподарських рослин» (Одеса, Україна, 2025); IV-й (2024)та VI-й (2026) конференціяхмолодих учених «Біологія рослин та біотехнологія» (Київ, Україна);17thStudentDaysofPlantBiologyCS2023 (Prague, CzechRepublic, 2023); XX Міжнародній науковій конференціїстудентів та молодих вчених «Шевченківська весна: Досягнення в науках про життя» (Київ, Україна, 2023); OnlineASCB|EMBOMeeting: CELLBIO2021 (онлайн-захід, США, 2021).

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація побудована за такою схемою: має вступ, 5 розділів, розділ узагальнення результатів дослідження, висновки, список використаних джерел та 15 додатків.

Роботу викладено на 272 сторінках машинопису. Обсяг основного тексту дисертації складає 173 сторінок друкованого тексту. Робота містить 8 таблиць та 47 рисунків.

Список використаних джерел налічує 276 найменувань, з яких латиницею 274.

Відсутність чи наявність порушення академічної доброчесності

У роботі ми не виявили ознак академічного плагіату, фабрикування, фальсифікації. Для роботи в цілому та всіх публікацій у співавторстві зазначено особистий внесок дисертанта. Анотація відображає основний зміст дисертаційної роботи.

Загальна характеристика роботи

Розділ 1 роботи - літературний огляд, який має загальну назву «Особливості еволюції родини Хрестоцвітих та її вплив на родину генів тубулінів» має два підрозділи. Перший, «Різноманіття тубулінів у рослин», тут описано структуру і різноманітність цих білків та їхніх генів у евкаріотів та рослин зокрема. Другий підрозділ «Особливості дивергенції генів тубуліну в процесі еволюції Хрестоцвітих». Цей розділ містить необхідну інформацію з досліджуваного питання, проаналізовано літературні джерела як сучасні, так і класичні джерела, які є базовими для розуміння геномної структури у Капустяних.

У розділі 2 з описом матеріалів і методів дослідження описано рослинний матеріал, який використовувався у дослідженні, засоби статистичної обробки результатів, які застосовувались у роботі. Основний вміст цього розділу містить опис підходів *in silico*, які автор застосовував у ході дослідження. Це повногеномний пошук та ідентифікація генів тубулінів, філогенетичні побудови, засоби генотипування, які застосовувалися у роботі. Методи описані лаконічно, але з необхідною повнотою.

У розділах 3-5 описуються результати, отримані у ході дослідження та наводиться їхнє обговорення. Текст написано лаконічно, з необхідним рівнем деталізації. Важливу інформацію зведено у таблиці. Громіздка інформація винесена у додатки. Ця частина належним чином ілюстрована. У розділі 3 Описується дивергенція генів тубуліну на прикладі аналізу геному модельного організму *Arabidopsis thaliana*. У розділі 4 описано дивергенцію генів тубуліну

у видів рижію з роду *Camelina*, а у розділі 5 - дивергенція цих же генів у видів з роду *Brassica*. Розділ 6 є узагальнення результатів, у ньому детально підсумовуються основні результати, їх автор порівнює з даними з літератури.

Р.Я.Блюмом виконувалося повногеномне біоінформатичне порівняння структури генів тубуліну у видів з низки родів Капустяних. Було вивчено внутрішньовидовий поліморфізм довжини інтронів у суріпиці за продуктами ампліфікації. У роботі показано, що аллоплоїдизація має різні наслідки на формування структури генів тубуліну у різних родів Капустяних. Із головного, автор виявив, що повногеномні дуплікації та події аллополіплоїдизації мають різний вплив на кількість генів тубуліну і відрізняються у різних підродин цих білків. Виявлено і проаналізовано різні еволюційні шляхи, що їх пройшли гени тубулінів у різних представників родини Капустяних.

Робота є оригінальним дослідженням, яке базується на реальних експериментальних даних і демонструє самостійність автора у аналізі отриманих результатів.

У опонента нема істотних зауважень до змісту роботи.

Є дрібні недоліки у літературному огляді і тексті, наприклад, на с. 50 мох названо нижчою рослиною, у тексті пишеться «бавовна», а не «бавовник» (с. 201). Автор часом використовує слово «призводить» там, коли за сенсом має бути «приводить». Думаю, що не варто перекладати на українську мову термін «субгеном» і писати «підгеном». Загалом текст є добре вичитаним.

У опонента виникла низка запитань до дисертанта.

Я хотів би почути думку Ростислава Ярославовича стосовно кількох проблем, які так чи інакше дотичні до його роботи.

1. Які найпростіші алгоритми аналізу послідовностей можна використати, аби відрізнити дуплікований ген від гомеологічного? Скільки має бути відмінностей у нуклеотидній послідовності?
2. Як можна оцінити час, протягом якого гомологічний ген під час дивергенції може набути ознаки частково гомологічного (гомеологічного)? Чи варто тут скористатися оцінкою темпів молекулярних змін, яких зазнає аналізована послідовність?

3. Чи варто підбирати різні алгоритми для аналізу сиквенсів у залежності від того, чи аналізований матеріал є гібридним (гібридизація двох видів відбулася щойно), чи ми маємо справу з аналізом рослин, які пройшли етапи стабілізації, що супроводжують утворення аллополіплоїду (відбулося подвоєння набору хромосом у амфідиплоїді)?
4. Чи є у автора можливість порівняти роздільну спроможність баркодингу, що базується на аналізові поліморфізму інтронів тубулінових генів і традиційних генетичних систем, які використовуються для цієї потреби?

Вказані запитання і зауваження не применшують значення роботи як дослідження з аналізу структури генів тубуліну у видів з родини Капустяних, аналізу перебігу їхньої молекулярної еволюції. Опонент вважає, що дослідження Ростислава Ярославовича є важливим етапом у аналізі структури геномів Капустяних з використанням тубуліну як продуктивної генної моделі. Певен, що відпрацьовані алгоритми аналізу і здобуті навички дали авторові роботи необхідний досвід для того, аби швидко і ефективно, застосувавши відповідний рослинний матеріал, можна було б проводити не лише ретроспективний аналіз геномних змін у рослин. Але й мати можливість фіксувати виникнення змін, які відбуваються у геномах одразу після акту гібридизації та початку формування аллополіплоїдних геномів.

Загальний висновок.

Дисертаційна робота *Блюма Р.Я.* «ВПЛИВ АЛОПОЛІПЛОЇДИЗАЦІЇ НА ДИВЕРГЕНЦІЮ ГЕНІВ ТУБУЛІНУ У ХРЕСТОЦВІТИХ» є завершеним науковим дослідженням з актуального напряму молекулярної генетики та геноміки рослин. Робота містить оригінальні результати, що мають вагоме теоретичне та є важливими для розуміння шляхів еволюції консервативних генетичних систем у рослин. Дисертацію присвячено різносторонньому біоінформатичному та філогенетичному аналізові послідовностей генів тубуліну у рослин з родини Капустяних з різними рівнями плоїдності, серед яких є і види з неабиякою господарською значущістю.

Робота відповідає «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 із змінами, та Вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом МОН України від 12.01.2017 року № 40, які висуваються до дисертаційних робіт на здобуття ступеня доктора філософії. За своєю актуальністю, новизною отриманих результатів, обсягом виконаних досліджень, за повнотою оприлюднення результатів дослідження у науковій періодиці робота Блюма Р.Я. відповідає вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія», а її автор, Блюм Ростислав Ярославович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія».

Офіційний опонент :

Завідувач кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія», доктор біологічних наук, с.н.с. Антонюк М.З.