ВІДГУК

офіційного рецензента на дисертаційну роботу
Блюма Ростислава Ярославовича
«Вплив алополіплоїдизації на дивергенцію генів тубуліну у Хрестоцвітих»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за
спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність теми. Дисертаційна робота Блюма Р.Я. присвячена встановленню закономірностей впливу алополіплоїдизації на дивергенцію родини генів тубуліну у представників Хрестоцвітих (Brassicaceae). Тубуліни є структурною основою мікротрубочок і беруть безпосередню участь у поділі, рості та диференціації рослинної клітини, проте еволюційне походження, шляхи збереження та функціональна спеціалізація окремих ізотипів цих генів досі залишаються вивченими фрагментарно.

Актуальність обраної проблематики значно посилюється стрімким розвитком повногеномного секвенування, порівняльної геноміки та біоінформатики, які відкрили нові можливості для реконструкції еволюційної історії генних родин і аналізу наслідків поліплоїдизації – одного з провідних рушіїв еволюції квіткових рослин. Показово, що, попри статус *Arabidopsis, Brassica* та *Camelina* як добре охарактеризованих модельних об’єктів рослинної геноміки, комплексні дослідження еволюції саме родини генів тубуліну після подій алополіплоїдизації, їхньої екзон-інтронної структури, копійності та синтенії до цього часу практично не проводилися. Це помітно обмежує розуміння механізмів субфункціоналізації дуплікованих генів і можливостей використання цих знань у прикладних дослідженнях.

Отримані результати мають і виражене практичне спрямування, зокрема для розвитку молекулярних маркерних систем, ДНК-баркодингу та генотипування рослин, оцінювання плоїдності – передусім для представників роду *Camelina*, що розглядається як перспективна олійна та біопаливна культура, а також роду *Brassica*, який має важливе агрономічне значення. Отже, дисертаційна робота є своєчасною й науково обґрунтованою, оскільки спрямована на розв’язання актуальної проблеми еволюційної геноміки рослин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконано в Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» (м. Київ) у межах держбюджетних тем: «Ідентифікація родини генів тубулінів *Brassica rapa* та характеристика їх геномної організації у різних підвидів» (№ ДР 0122U002425, 2022–2023 рр.), «Генетичне різноманіття та популяційно-генетична структура рижію дрібноплідного в українській частині його центру походження» (№ ДР 0122U002196, 2022–2023 рр.), «Вивчення екзон-інтронної структури генів рослин та грибів як джерела генетичних маркерів для молекулярно-генетичних досліджень та маркер-опосередкованої селекції» (№ ДР 0124U002604, 2024–2028 рр.) та «Геномна еволюція родини генів тубуліну у різних підвидів *Brassica rapa*» (№ ДР 0125U002944, 2025–2026 рр.). Частину роботи виконано в межах міжнародного проєкту «Unraveling the diversity of polyploid wild *Camelina* germplasm for biofuel crop improvement» програми EURIZON (Horizon 2020, грантова угода № 871072, 2024–2025 рр.), що додатково засвідчує визнання обраного напряму на міжнародному рівні.

Ступінь обґрунтованості та достовірності результатів дослідження. Робота вирізняється високим рівнем методологічної коректності. Для повногеномного пошуку та порівняльно-геномного аналізу автором опрацьовано геномні збірки одинадцяти видів чотирьох родів Хрестоцвітих – диплоїдизованих мезогексаплоїдів *B. oleracea* та *B. nigra*, алотетраплоїдів *B. napus, B. carinata* і *B. juncea,* алогексаплоїда *C. sativa,* диплоїдних *C. laxa, C. neglecta, C. hispida* (var. hispida і var. grandiflora), а також модельних *A. thaliana ma A. lyrata*; додатково досліджено внутрішньовидову варіабельність довжини інтронів на прикладі різних підвидів *B. rapa.*

Достовірність результатів забезпечена поєднанням методів філогенетичної реконструкції, аналізу синтенії й ортології, структурної анотації генів та молекулярно-генетичного генотипування з використанням маркерних систем TBP, cTBP і γTBP, що дало змогу здійснити взаємну перевірку одержаних даних. Використання значного масиву сучасних геномних збірок забезпечило репрезентативність вибірки, а застосування визнаних біоінформатичних

алгоритмів реконструкції філогенії, аналізу геномного оточення та синтенії – об’єктивність сформульованих висновків. Одержані результати логічно узгоджуються з поставленими завданнями, належним чином проілюстровані та підтверджені публікаціями у виданнях, що індексуються провідними наукометричними базами даних.

Наукова новизна. Дисертаційна робота містить низку результатів, отриманих уперше. Автором вперше комплексно охарактеризовано вплив алополіплоїдизації на збереженість родини генів α-, β- та γ-тубуліну у десяти видів Хрестоцвітих і показано, що елімінація гомеологічних копій у алогексаплоїдного *C. sativa* виражена значно менше, ніж у алотетраплоїдних видів Brassica, у яких у надлишково дуплікованому стані зберігаються лише гени окремих ізотипів β-тубуліну (2, 4 та 9).

Заслуговує на увагу виявлення раніше не описаної атипової екзон-інтронної структури гена β-тубуліну А-геному *Brassica* (BraA.TUB2.b, BnaA01.TUB2, BjunA01.TUB2), ортологи якого втратили перший інтрон, а також встановлення факту злиття 4-го і 5-го екзонів у γ-тубулінів А- та С-геномів *Brassica,* унаслідок чого ці гени містять дев'ять екзонів замість типових десяти. Новим є й висновок про те, що наявність двох ізотипів γ-тубуліну є специфічною рисою лише окремих представників триби Camelineae (роди *Arabidopsis* і *Camelina)*, тоді як диплоїдизовані мезогексаплоїдні *Brassica* зберегли лише один такий ізотип, попри перенесене потроєння геному.

Практично значущим є вперше продемонстроване застосування комбінації маркерних систем ТВР, сТВР та γТВР для ДНК-баркодингу видів роду *Camelina,* а також поєднання порівняльно-геномних даних із результатами ТВР-аналізу для генотипування підвидів і гібридних ліній B. rapa – підхід, що відкриває реальні перспективи використання в селекційних програмах олійних культур.

Практичне значення результатів дослідження. Одержані дані щодо еволюції, копійності та структурної організації родини генів тубуліну створюють наукову основу для аналізу походження геномів, оцінювання плоїдності та генетичного різноманіття інших представників Хрестоцвітих. Продемонстрована ефективність маркерної системи ТВР (разом із сТВР та

γТВР) для ДНК-баркодингу, генотипування та контролю селекційного матеріалу є економічно доступним інструментом, який не потребує спеціалізованого обладнання і може бути використаний у селекційних програмах C*amelina* та *Brassica* – культур, що мають вагоме аграрне й біопаливне значення. Матеріали дисертації також становлять інтерес для викладання дисциплін молекулярно-генетичного та геноміко-біоінформатичного циклів у закладах вищої освіти.

Повнота викладу основних результатів дисертації у наукових публікаціях та їх апробація. За темою дисертації опубліковано 16 робіт, зокрема 5 статтей в періодичних виданнях вітчизнянних та індексованих у міжнародній наукометричній базі даних Scopus (Q1 – 2, Q3 – 1, Q4 – 1), 11 тез доповідей на наукових конференціях. Основні положення роботи оприлюднено на дев'яти наукових зібраннях, серед яких III Int. Biol. & Life Sci. Congress BIOLIC 2025 (Анталія, Туреччина), XX Міжнародна наукова конференція «Чаргаффські читання» (Чернівці, 2025), 17th Student Days of Plant Biology (Прага, Чехія, 2023) та Online ASCB|EMBO Meeting CELL BIO 2021 (США), а також вітчизняні конференції молодих учених і науково-практичні форуми. Публікації послідовно розкривають основні етапи дослідження – від повногеномної ідентифікації генів тубуліну до розробки й апробації маркерних систем ДНК-баркодингу – і повністю відображають зміст одержаних наукових результатів.

Академічна доброчесність. Дисертаційна робота виконана з дотриманням принципів академічної доброчесності: використання ідей, результатів і текстів інших авторів належним чином супроводжується посиланнями на першоджерела. Особистий внесок здобувача чітко визначено – автору належить проведення основних експериментальних та біоінформатичних досліджень, а його частка в підготовці спільних публікацій становить 80 %, що засвідчує самостійність і завершеність виконаної роботи.

Оцінка структури, змісту та форми дисертації. Дисертаційна робота викладена на 272 сторінках і складається зі вступу, п'яти розділів, узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та 15 додатків;

обсяг основного тексту становить 173 сторінки. Робота містить 8 таблиць і 45 рисунків, а список використаних джерел налічує 276 найменувань (2 кирилицею та 274 латиницею), що свідчить про глибоке опрацювання автором сучасної наукової літератури. Матеріал викладено послідовно й аргументовано, ілюстративний матеріал (філогенетичні дерева, схеми синтенії, дендрограми) підібраний вдало і полегшує сприйняття результатів. Оформлення роботи відповідає чинним вимогам, суттєвих зауважень до структури та форми дисертації не виникає.

Запитання та побажання щодо змісту дисертаційної роботи. Загалом високо оцінюючи дисертаційну роботу Блюма Р.Я., хотілося б висловити декілька зауважень і запитань рекомендаційного характеру, які не знижують наукової цінності роботи:

1) Перспективним видається розширення порівняльно-геномного аналізу за рахунок залучення більшої кількості повністю секвенованих геномів Brassicaceae та застосування пангеномних підходів для глибшої оцінки внутрішньовидової варіабельності.
2) Чи планує автор доповнити одержані біоінформатичні результати експериментальною перевіркою – зокрема аналізом рівня експресії окремих ізотипів тубуліну на різних етапах розвитку рослин або за дії стресових факторів?
3) Чи можна очікувати подібних закономірностей дивергенції після алополіплоїдизації для інших консервативних родин генів цитоскелета, чи виявлені особливості специфічні саме для тубулінів?
4) Наскільки, на думку автора, маркерні системи TBP, cTBP та γTBP можуть залишатися конкурентоспроможними порівняно із сучасними технологіями SNP-генотипування та секвенування нового покоління, чи їх варто розглядати передусім як взаємодоповнювальні інструменти?
5) Чи можуть встановлені закономірності бути використані для прогнозування стабільності геному та напрямів еволюції новостворених синтетичних поліплоїдів, які дедалі активніше застосовуються в сучасній селекції рослин?

Висловлені запитання та побажання мають дискусійний характер, не впливають на загальну позитивну оцінку роботи та окреслюють перспективні напрями подальших досліджень.

Загальний висновок рецензента. Дисертаційна робота Блюма Ростислава Ярославовича «Вплив алополіплоїдизації на дивергенцію генів тубуліну у Хрестоцвітих» є завершеним, самостійно виконаним науковим дослідженням, у якому отримано нові, науково обґрунтовані результати, що мають істотне значення для молекулярної генетики, порівняльної геноміки, еволюційної біології та біотехнології рослин. Поставлені мета і завдання дослідження повністю досягнуті, а одержані результати належним чином апробовані та висвітлені у фахових публікаціях, зокрема у виданнях, що індексуються Scopus.

За змістом, науковою новизною, практичним значенням та рівнем оформлення дисертаційна робота відповідає вимогам «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 № 44 від 12 січня 2022 року зі змінами, а також Вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 № 40.

На підставі викладеного вважаю, що Блюм Ростислав Ярославович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент дисертації,
старший науковий співробітник
відділу геноміки та молекулярної біотехнології
ДУ «ІХБГ НАН України», доктор біологічних
наук, доцент Сергій ХАБЛАК