

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу **МІЩЕНКА Андрія Миколайовича**
**«Розробка і використання ДНК-маркерів для ідентифікації сортів ліщини
української селекції»** на здобуття наукового ступеня доктора філософії в
галузі знань **09-Біологія** за спеціальністю **091 – Біологія**

Актуальність вибраної теми.

Впровадження молекулярно-генетичних методів в практику ідентифікації рослинних сортів є одним з важливих напрямів сучасної прикладної генетики, що набуло особливого значення в контексті захисту прав на сорти рослин та контролю якості садивного матеріалу. Потреба у надійній, відтворюваній і незалежній від умов вирощування системі генотипування є особливо гострою для культур з тривалим вегетативним розмноженням, до яких належить фундук. Вирішення цієї проблеми для вітчизняних сортів має очевидну практичну цінність – насамперед для захисту прав вітчизняних селекціонерів і верифікації садивного матеріалу у промисловому виробництві. Окрім практичної складової, дослідження має і фундаментальний вимір. Характеристика мікросателітних локусів на рівні нуклеотидної послідовності та аналіз генетичних взаємовідносин між сортами є цінним внеском у вивчення геному ліщини як виду, геномні ресурси якого ще значно поступаються іншим деревним культурам в межах баз даних. Поєднання двох принципово різних маркерних систем, мікросателітів та iPBS-маркерів на основі ретротранспозонів, зумовлює методичну цікавість та актуальність даної роботи не лише для практичної селекції, а й для широкого кола молекулярних генетиків.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційне дослідження Андрія Міщенка виконане відповідно до плану науково-дослідних робіт відділу генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики НАН України в рамках бюджетних тем: «Генетичні і фізіолого-біохімічні механізми адаптації рослин до екстремальних умов довкілля» (номер держреєстрації 0120U105249, 2021-2025 рр.) та

«Геномна мінливість і особливості накопичення специфічних біологічно активних сполук у культурі тканин лікарських рослин» (номер держреєстрації 0125U002734, 2026-2030 рр.), а також як співвиконавець НДР «Теоретичні основи селекції фундука з використанням молекулярно-генетичних маркерів для ідентифікації видової приналежності вихідних матеріалів і отримуваних гібридів» (номер держреєстрації 0120U103133, 2026-2030 рр.).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.

Дисертаційне дослідження Андрія Міщенка базується на результатах власних експериментів, виконаних із використанням сучасних методів молекулярної генетики. Поставлені завдання відповідають меті дослідження, методологічна база є достатньою і добре обґрунтованою. Висновки, сформульовані здобувачем, є логічними, послідовними та охоплюють основні результати, висвітлені в експериментальних розділах. Науковий рівень роботи відповідає сучасним вимогам до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії.

Наукова новизна отриманих результатів.

Результати дисертаційного дослідження містять суттєву наукову новизну. Вперше проведено оптимізацію протоколу виділення ДНК для ПЛР-аналізу зі зразків висушеного листа ліщини – це конкретний і практично цінний результат, що дозволяє відокремити в часі етап збору матеріалу від аналізу і суттєво розширює можливості роботи зі збереженими колекціями. Вперше охарактеризовано генетичне різноманіття 25 сортів фундука вітчизняної селекції за SSR-локусами, складено індивідуальні алельні профілі для кожного сорту та визначено мінімальний набір маркерів, достатній для повної диференціації генотипів у великих вибірках. Заслуговує на окрему увагу встановлення молекулярної структури мікросателітних локусів шляхом клонування та сиквенування алельних варіантів. З'ясування зв'язку між типом мотиву повтору і характером алельного поліморфізму має значення не лише для практики генотипування, а й для розуміння механізмів мікросателітної мінливості у роду *Corylus* загалом. Сиквеновані послідовності депоновані в базі

даних NCBI GenBank (PV926123-PV926126), що є обов'язковим стандартом для такого типу досліджень і забезпечує доступність результатів науковій спільноті.

Вперше для роду *Corylus* апробовано метод iPBS, що базуються на ампліфікації міжретротранспозонних ділянок. Виявлено надзвичайно високу дискримінаційну здатність цього методу: один відібраний праймер забезпечував повне розрізнення всіх 25 досліджених сортів, що є недосяжним показником для жодного з протестованих SSR-маркерів. Цей результат переконливо підтверджує доцільність застосування iPBS-маркерів у сортовій ідентифікації рослин. Вперше побудовано дендрограми генетичної подібності для українських сортів фундука на основі обох типів маркерів.

Теоретичне та практичне значення результатів дисертації.

Виявлені закономірності між молекулярною структурою мікросателітних локусів та характером їхньої алельної мінливості, а також перший досвід застосування iPBS-аналізу для роду *Corylus* розширюють методологічну базу молекулярно-генетичних досліджень даної рослини. Порівняльна оцінка переваг і обмежень SSR та iPBS методів є цінним методичним орієнтиром для дослідників, що планують аналогічні роботи для інших культур. Практичне значення є конкретним і безпосереднім. Складені алельні профілі 25 сортів за 9 SSR-локусами є готовою еталонною базою для верифікації садивного матеріалу. Умови мультиплексної ПЛР для трьох локусів одночасно скорочують витрати. Запропоновані набори маркерів придатні для впровадження в практику ідентифікації сортів у селекційних господарствах і розплідниках без необхідності значних додаткових вкладень в обладнання.

Оцінка змісту дисертаційної роботи, мови, стилю, дотримання норм академічної доброчесності

Дисертаційна робота Міщенко Андрія Миколайовича викладена українською мовою на 140 сторінках, має стандартну структуру й складається з анотації, вступу, огляду літератури (розділ 1), матеріалів і методів (розділ 2), результатів експериментальних досліджень та їх обговорення, (розділ 3) узагальнення результатів (розділ 4), висновків,

списку використаних джерел та одного додатку. Робота містить 12 рисунків, 12 таблиць та 2 додатки, у переліку використаних джерел 112 посилань. Більшість досліджень виконано дисертантом особисто.

У вступі викладено дані про актуальність роботи, мету дослідження, завдання, об'єкт та предмет дослідження, методи, наукову новизну, практичне значення отриманих результатів, особистий внесок здобувача, дані про апробацію результатів дисертації, публікації, структуру та обсяг дисертації.

Першим розділом є огляд літератури, в якому дисертант наводить детальні відомості щодо стану досліджень фундукарства, аналізує напрямки селекції ліщини в світі і в Україні, оцінює роль ДНК маркерів в генетичному аналізі. Розглядаються молекулярні маркери першого покоління, молекулярні маркери на основі мобільних генетичних елементів, іPBS маркери, їх роль в селекції фундука. Наведені в першому розділі дані одразу дають уявлення про логіку експериментів та план роботи, що буде виконаний у представленому дослідженні.

Другий розділ стосується матеріалів та методів дослідження. Слід зазначити, що цей розділ є дуже великим, дисертантом було використано велику кількість класичних та сучасних методів молекулярної та клітинної біології, а також оцінено різноманітні біоінформатичні методи.

Третій розділ представляє результати експериментальних досліджень. Важливою частиною цього розділу була оптимізація виділення ДНК з гербарних зразків *Coryluspp.* В цьому розділі Міщенко А.М. чітко та зрозуміло наводить результати досліджень, які є добре обґрунтованими та підтримуються даними статистичного аналізу. Рисунки, наведені у цьому розділі, змістовні та якісні, підписи до них чіткі та зрозумілі.

Четвертий розділ містить узагальнення отриманих результатів, які коректно співставлені із даними літератури, а також зроблено коректні узагальнення.

Висновки дисертаційної роботи Міщенко А.М. відповідають

поставленій меті та завданням дослідження, адекватно та коректно висвітлюють основні результати досліджень.

Повнота викладу основних наукових результатів у опублікованих наукових працях.

Результати дисертаційного дослідження достатньо повно відображені у публікаціях. За темою дисертації опубліковано 9 наукових праць, у тому числі 5 статей у фахових виданнях та 4 тези у збірниках матеріалів конференцій. Публікаційний доробок відповідає вимогам для здобуття ступеня доктора філософії.

Зауваження та запитання до автора дисертаційної роботи.

Загалом дисертаційна робота справляє позитивне враження. Разом з тим виникає низка зауважень і запитань.

1. У розділі результатів зустрічаються надмірно довгі речення, що ускладнюють сприйняття тексту. Рекомендую звернути на це увагу при підготовці до захисту.

Питання до автора дисертаційної роботи:

1) Відхилення від рівноваги Харді-Вайнберга, виявлене для двох SSR-локусів, пояснюється у роботі переважно ефектом засновника та зв'язком одного з них з S-локусом несумісності. Чи не може воно також вказувати на те, що для повноцінної популяційно-генетичної інтерпретації вибірка з 25 сортів з певної культурної популяції є методологічно відмінною від природної вибірки? Чи є ці відхилення обмеженням для застосування деяких статистичних показників, розрахованих у роботі?

2) Яка стратегія розширення бази алельних профілів є найбільш реалістичною для включення нових сортів, що перебувають в процесі державної реєстрації, та для охоплення матеріалів регіональних генбанків і приватних колекцій?

Висновок:

Дисертаційна робота МІЩЕНКО Андрій Миколайович «Розробка і використання ДНК-маркерів для ідентифікації сортів ліщини української селекції» подана на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 - «Біологія» за спеціальністю 091 - «Біологія» є самостійною завершеною науковою працею, що містить новітні наукові положення, які обґрунтовані отриманими результатами та не порушує принципів академічної доброчесності. За методичним рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, науковою новизною результатів, повнотою публікацій матеріалів дослідження, їх апробації на наукових конференціях дисертаційне дослідження повністю відповідає галузі знань 09- «Біологія», спеціальності 091- «Біологія» та сучасним вимогам, які висуваються до дисертацій, затвердженим наказом МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. №40 та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», » (зі змінами, внесеними згідно із постановою Кабінету Міністрів України №341 від 21.03.2022р. та постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19.05.2023р.), а її автор МІЩЕНКО Андрій Миколайович заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 - «Біологія».

Рецензент:

Завідувач відділу молекулярної генетики

ІМБГ НАН України, д.б.н., професор  Геннадій ТЕЛЕГЕСЬВ

