РЕЦЕНЗІЯ

на дисертацію Рошки Надії Михайлівни «5S рибосомна ДНК та гени *CO1-CO2* як молекулярні маркери в оцінці генетичного різноманіття комах», подану на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність дисертаційного дослідження

Комахи є найбільш чисельною та різноманітною групою тварин, що викликає значну увагу дослідників. Не зважаючи на це, систематичне положення багатьох таксонів комах остаточно не з'ясоване. Традиційно у їх систематиці використовують морфолого-анатомічні методи. Проте, часто їх застосування або не дозволяє отримати достовірний результат, або, взагалі, призводить до формулювання хибних висновків. Значних успіхів у розумінні еволюції та філогенії багатьох груп комах вдалося досягти, використовуючи молекулярні маркери, серед яких перш за все слід назвати поліморфні послідовності мітохондріального та ядерного геномів. Зважаючи на відносно нетривалу історію їх використання для вивчення цієї групи живих організмів, необхідно перевіряти інформативність та сферу застосування того чи іншого зокрема за рахунок порівняльного аналізу з одночасним маркера, використанням кількох молекулярних маркерів. Серед найінформативніших ДНК-маркерів для комах на сьогоднішній день перш за все виділяють поліморфні локуси мітохондріальної ДНК, які, однак, через успадкування по материнській лінії мають певні обмеження. Значної популярності на сьогодні також набуває використання повторюваних послідовностей ядерного геному.

У дисертаційній роботі проводиться глибокий порівняльний аналіз нуклеотидних послідовностей мітохондріальних генів *CO1-CO2* та ядерної 5S рДНК у представників трьох груп комах – Перетинчастокрилих (рід *Apis*), Лускокрилих (підродини Drepaninae, Thyatirinae) та Двокрилих (підродини Dacinae, Trypetinae, Tephritinae), що належать до найбільших серед сучасних та вимерлих рядів і охоплюють як корисні види, так і комахи-шкідники. На основі отриманих результатів зроблений висновок щодо можливості використання цих ділянок геному як молекулярних маркерів для баркодингу та реконструкції філогенетичних відносин у досліджуваних таксонах. З огляду на зазначене вище, проблематику дисертаційного дослідження слід визнати сучасною та актуальною.

Зв'язок роботи з державними програмами, планами, темами

Дисертаційне дослідження здійснювалося у розрізі наукової тематики

кафедри молекулярної генетики та біотехнології Навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету в рамках кафедральної теми «Структурно-функціональна організація геному та механізми адаптації у еукаріот» (2021-2025; номер державної реєстрації 0121U111109), держбюджетної теми «Генетичний поліморфізм, розповсюдженість та адаптаційні здатності українських порід медоносної бджоли» (2020-2022; номер державної реєстрації 0120U102119), а також науково-дослідної роботи «Походження та розповсюдження Української степової породи медоносних бджіл на території України» (30.09.2020; наказ ЧНУ №261 «Про результати конкурсу грантів ЧНУ для молодих науковців»).

Практичне значення одержаних результатів

На основі проведення порівняльного аналізу нуклеотидних послідовностей та організації *CO1-CO2* ділянок мітохондріального геному та ядерної 5S рДНК обґрунтована можливість їх використання при ідентифікації видової та популяційної належності представників трьох груп комах – Перетинчастокрилих (рід *Apis*), Лускокрилих (підродини Drepaninae, Thyatirinae) та Двокрилих (підродини Dacinae, Trypetinae, Tephritinae). Стосовно *Apis mellifera* аргументована доцільність використання даних молекулярних маркерів за потреби проведення паспортизації її генетичних ліній та спростування або доведення їх гібридогенного походження.

Результати щодо локалізації аборигенних екотипів бджіл, отримані при виконанні досліджень у розрізі науково-дослідної роботи «Походження та розповсюдження Української степової породи медоносних бджіл на території України» впроваджені у програму селекції ГО «Асоціація виробників продуктів бджільництва «Буковинський бджоляр»».

Ступінь наукової обгрунтованості результатів, сформульованих в роботі

При виконанні наукового дослідження автором були використані сучасні молекулярно-генетичні, а також біоінформатичні методи, що дозволило максимізувати обсяг проаналізованого матеріалу. Відповідно до специфіки досліджуваних послідовностей обирались специфічні параметри для проведення статистично достовірного їх вирівнювання та філогенетичного аналізу. Для всіх отриманих результатів був проведений глибокий порівняльний аналіз із використанням наявних на сьогодні даних, отриманих на основі використання морфо-анатомічних методів, та із залученням результатів останніх наукових робіт із молекулярної діагностики, що стало можливим завдяки опрацюванню великого об'єму сучасної наукової літератури. Глибоке розуміння досліджуваної проблематики дозволило надати коректне пояснення закономірностей, виявлених у процесі виконання роботи.

Структура і зміст дисертації

Дисертаційну роботу викладено на 158 сторінках машинописного тексту. Вона складається з переліку умовних позначень, вступу, трьох розділів (1 – огляд літератури, 2 – матеріали та методи дослідження, 3 – результати досліджень та їх обговорення), загальних висновків, списку використаних джерел та додатку.

В огляді літератури розкривається сучасний стан систематики класу Insecta із глибоким висвітленням його проблем та розкривається значущість та доцільність використання для їх вирішення молекулярно-генетичних та біоінформатичних методів. У другому розділі подана детальна інформація щодо застосованих у роботі методів дослідження та статистичної обробки отриманих результатів.

Третій розділ роботи структурований відповідно до аналізу окремих досліджуваних груп комах при наявності наскрізної загальної схеми щодо подачі матеріалу та його обговорення. Кожен з трьох підрозділів даного розділу закінчується висновками, які випливають з поданого матеріалу. На їх основі у подальшому сформульовані загальні висновки.

Список використаних літературних джерел налічує 188, переважно англомовних, джерел. У додатку наводиться перелік публікацій дисертантки за темою дисертації.

Наукова новизна

Всі результати наукового дослідження Рошки Н.М., які виносяться на захист, мають наукову новизну. Основними з них є наступні:

- для різних підвидів медоносної бджоли Apis mellifera, метеликів-шкідників родини Drepanidae та плодових мушок родини Tephritidae клоновані і сиквеновані повторювані ділянки 5S рДНК та послідовності CO1-CO2. Щодо останніх виявлено, що у різних таксономічних груп філогенетична «роздільна здатність» цих локусів відрізняється, будучи більш інформативною для медоносних бджіл;
- у геномах метеликів, на відміну від інших досліджуваних зразків, виявлено диспергований тип організації 5S рДНК, а також вперше описано хромосомну локалізацію кластерів 5S рДНК у медоносних бджіл;
- для всіх досліджуваних зразків проведений детальний порівняльний аналіз молекулярної організації, поліморфізму та характеру мінливості 5S рДНК;
- для різних груп комах показана наявність суттєвих відмінностей як в

молекулярній організації, так і в швидкості еволюції 5S рДНК.

Повнота викладу матеріалів у роботах, які опубліковані автором

Основні наукові результати, що виносяться на захист, опубліковані у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus (1) та у фахових наукових виданнях України (4), та апробовані на міжнародних та всеукраїнських конференціях, за результатами яких опубліковано 8 тез доповідей.

Відомості про дотримання академічної доброчесності

У дисертації та наукових публікаціях Рошки Н.М. порушень академічної доброчесності не було виявлено.

Зауваження до дисертації

- Враховуючи велике природне різноманіття представників різних видів комах (популяції/породи) навіть у межах однієї окремо взятої країни, у таблиці 2.1 доцільно було б для всіх досліджуваних зразків вказати не тільки країну походження, але і місце збору зразку.
- 2. За яким принципом авторкою обирались послідовності IGS S-типу *A. mellifera* та *A. cerana* з різних термінальних груп в якості репрезентативних (рис. 3.1.3)?
- 3. Відомо, що у більшості випадків пасічниками утримуються гібридні бджолині сім'ї. Автор у своєму дослідженні припускає, що різниця між підвидами/породами медоносної бджоли полягає не у наявності специфічних 5S-риботипів, а скоріше у кількісному співвідношенні різних риботипів в геномі. З цього приводу доцільно було би обговорити можливість використання даної закономірності для з'ясування ступеня гібридизації аналізованих особин.
- 4. У роботі з метою оцінки генетичного поліморфізму для медоносної бджоли *Apis mellifera* представлені результати досліджень гену CO2 мтДНК, метеликів родини Drepanidae – послідовності CO1, а представників родини Tephritidae (Diptera) – генів CO1-CO2 мтДНК. Для отримання більш повної картини щодо використання цих ділянок як молекулярних маркерів доцільно було би зробити більш глибоке їх обговорення із залученням раніше отриманих в лабораторії результатів.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим нормам

Вважаю, що дисертація Рошки Н.М. «5S рибосомна ДНК та гени СО1-СО2 як молекулярні маркери в оцінці генетичного різноманіття комах» є завершеною науковою працею, виконаною із залученням сучасних методів досліджень, яка містить низку нових, актуальних та достовірних результатів, що свідчать про її складність, систематичність та важливе значення для розуміння філогенії комах та розроблення їх сучасної систематики. Дисертація повністю відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (з наступними змінами) та «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, а її автор Рошка Н.М. заслуговує присудження їй ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича

Антоніна ШЕЛИФІСТ