

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Чубик Інни Юхимівни

«ГЕНЕТИКО-БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819) В ПІВНІЧНО-ЗАХІДНІЙ ЧАСТИНІ ЧОРНОГО МОРЯ»,

представлену до захисту на здобуття наукового ступеня: доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», 09 «Біологія»

Актуальність дослідження не викликає сумніву. Чорноморська мідія є ключовим видом-фільтратором в екосистемі морів Європи, модельним видом для популяційних, генетичних та морфологічних досліджень, важливим біологічним ресурсом.

Робота Інни Юхимівни Чубик «Генетико-біохімічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) в північно-західній частині Чорного моря» за допомогою сучасних генетичних та біохімічних методів надає наукову характеристику *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) в північно-західній частині Чорного моря та інших регіонів.

Структура дисертації відповідає вимогам наказу Міністерства освіти та науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (Із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки № 759 від 31.05.2019). Рукопис складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію викладено на 159 сторінках друкованого тексту і проілюстровано 30 рисунками та 15 таблицями. Список використаних джерел складає 257 найменувань.

У **Вступі** наведено обґрунтування вибору теми дослідження, зв'язок роботи з науковими темами, мета та завдання дослідження, методи, наукова новизна та практичне значення та інша необхідна інформація, яка передбачена для цієї частини.

Мета роботи полягає у визначенні генетико-біохімічних характеристик *Mytilus galloprovincialis* і генетичного поліморфізму угруповань мідій в північно-західній частині Чорного моря за допомогою молекулярних ДНК-маркерів та ізо-алозимного аналізу

Для досягнення мети в роботі поставлено шість завдань, які окреслюють спрямування теоретичних та практичних досліджень:

1. Встановити видову приналежність мідій ПЗЧМ за допомогою молекулярного маркера *Me 15-16*, розробленого до неповторювальної області гена *Fp1* адгезивного білка *Mefp-1* мідії.

2. З'ясувати, чи зустрічаються види *M. edulis* та *M. trossulus* та їх гібриди з *M. galloprovincialis* у ПЗЧМ.

3. Провести біоінформатичний аналіз генів адгезивного білка мідій роду *Mytilus*.

4. Визначити поліморфізм угруповань мідій ПЗЧМ за допомогою мікросателітних маркерів.

5. Визначити поліморфізм за допомогою біохімічних маркерів в угрупованнях мідій ПЗЧМ.

6. Розглянути можливість використання ензимів, як біохімічних маркерів, для генетичної диференціації угруповань мідій ПЗЧМ.

Об'єктом дослідження є генетична різноманітність угруповань мідії, а предметом дослідження – генетичний поліморфізм за геном *Fp1* і мікросателітними локусами, структура популяції та біохімічні характеристики мідії ПЗЧМ.

Найважливіші моменти новизни отриманих результатів стосуються двох аспектів.

По-перше, на підставі молекулярно-генетичних даних виконаного експериментального дослідження доведено присутність мідій виду *M. galloprovincialis* в ПЗЧМ і відсутність видів *M. edulis*, *M. trossulus* та їх гібридів з *M. galloprovincialis*. Досліджено алельне і генотипове різноманіття, визначено частоту алелів та оцінено показники генетичного поліморфізму за

мікросателітними локусами на вибірках мідій ПЗЧМ та зразках мідій з Балтійського, Північного та Ватового морів. За результатами мікросателітного аналізу було з'ясовано, що досліджувані угруповання молюсків ПЗЧМ мають високий рівень генетичної різноманітності та формують одну популяцію чорноморської мідії *M. galloprovincialis*.

По-друге, визначено поліморфізм, тканинний розподіл та активність 13 ензимів, що забезпечують антиоксидантний захист та біотрансформацію ксенобіотиків у п'яти органах чорноморської мідії (гепатопанкреас, ктенідія, мантия, нога, мускул-аддуктор). Встановлено, що всі досліджувані ензими є поліморфними, кожний орган відрізнявся рівнем активності ензимів та набором молекулярних форм. Однак, ці ензими виявилися неефективними для диференціації угруповань мідій з різних локацій Чорного моря.

Практичне значення роботи полягає у тому, що результати дисертаційної роботи впроваджено у навчальну програму підготовки докторів філософії за спеціальність 091 «Біологія», а саме в лекційний курс «Молекулярні маркери». Отримані результати спектрів біохімічних маркерів рекомендовано залучати для вивчення різних представників роду *Mytilus*. Одержані експериментальні дані МС-аналізу можуть бути використані для ДНК-генотипування молюсків з метою створення певних відселектованих вибірок мідій *M. galloprovincialis*, що будуть мати покращені споживчі характеристики і високий адаптивний потенціал для розведення і вирощування в аквакультурі. Представлені в роботі дані свідчать на користь існування однієї популяції мідій *M. galloprovincialis* в ПЗЧМ, що важливо враховувати при промисловому вилові мідій.

Розділ 1. ГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНОМУ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ MYTILUS (огляд літератури) складається з семи підрозділів, в яких розглянуті такі аспекти, як генетичний поліморфізм у популяціях двостулкових молюсків, таксономічне положення і географічне поширення роду *Mytilus*, використання різних типів ДНК-маркерів для встановлення таксономічного статусу представників роду *Mytilus*, ензими як біохімічні маркери генетичної різноманітності та адаптивності мідій до умов

довкілля, особливості організації геному *Mytilus galloprovincialis*, диференціація поселень мідій Чорного моря за допомогою морфологічного аналізу та актуальність генетичних досліджень в аквакультури мідій.

Розділ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. У двох підрозділах автор послідовно розкриває наступні аспекти: матеріал для дослідження, методи виділення геномної ДНК, молекулярно-генетичний аналіз мідій, біоінформатичний аналіз адгезивного білка, генетико-біохімічний аналіз, статистичну обробку результатів.

Розділ 3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ МІДІЙ ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА *Me 15-16*. Три підрозділи цього розділу присвячені визначенню видової приналежності мідій північно-західного регіону Чорного моря, видової приналежності мідій Балтійського, Північного та Ватового морів за результатами молекулярно-генетичного аналізу та генетичній характеристиці угруповань мідій за допомогою *Me 15-16*.

Розділ 4. БІОІНФОРМАТИЧНИЙ АНАЛІЗ ГЕНІВ АДГЕЗИВНОГО БІЛКА МІДІЙ РОДУ *MYTILUS*. Два підрозділи цього розділу присвячені порівняльному аналізу нуклеотидних послідовностей генів адгезивного білка представників роду *Mytilus* та аналізу структури адгезивного білка *Mytilus galloprovincialis*.

Розділ 5. МІКРОСАТЕЛІТНИЙ АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ ТА СТРУКТУРИ ПОПУЛЯЦІЇ МІДІЙ. Два підрозділи цього розділу присвячені алельній та генотиповій характеристиці мідій за мікросателітними локусами.

Розділ 6. ПОЛІМОРФІЗМ І РОЗПОДІЛ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА БІОТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ У *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* З ПЗЧМ. Чотири підрозділи цього розділу присвячені поліморфізму, тканинному розподілу та активності ензимів антиоксидантної системи та біотрансформації у *Mytilus*

galloprovincialis, кореляційним зв'язкам між досліджуваними ензимами та диференціації *M. galloprovincialis* за допомогою біохімічних маркерів.

Наведені розділи завершує «Узагальнення результатів дослідження».

Висновки дисертаційної роботи узагальнюють отримані результати відповідно до мети та поставлених завдань.

Додатки А-В містять інформацію про публікації здобувача та відомості про апробацію результатів дисертації, а також Акт впровадження результатів дисертаційної роботи у навчальну програму підготовки докторів філософії за спеціальність 091 «Біологія», а саме в лекційний курс «Молекулярні маркери».

При аналізі тексту даної роботи в нас виникли наступні зауваження та питання:

1. Структура розділу 2 є занадто деталізованою та переобтяженою кількістю підрозділів.
2. Опис матеріалу досліджень не вказує на те, хто проводив польові роботи.
3. Методи морфологічної характеристики та камеральної обробки мідій для їх визначення повинні були міститися безпосередньо в розділі 2 (вони наведені в інших місцях тексту).
4. При обговоренні статусу мідій ПЗЧМ, зокрема інформації про *edulis*- та *trossulus*-подібні мідії не наведена історія цього питання. Реально, такі морфи відомі в ПЗЧМ ще з XIX сторіччя та обговорювалися в подальших ревізіях. На жаль, в роботах Н.М. Шурової та В.Н. Золотарьова ці данні не були залучені, в результаті чого з'явилась гіпотеза про сучасну інвазію двох видів з наступною гібридизацією.
5. В літературному огляді описана специфічна риса геному мідій – т.з. мітохондріальна полова система «doubly uniparental inheritance». Необхідно було розкрити це питання в контексті молекулярної таксономії. Мова йде про те, що у видів з «DUI» може спостерігатися підвищене мітохондріальне різноманіття (наприклад, Capr et al. 2020, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57975-y>). Це теоретично може

впливати на трактування меж виду, які в молекулярній таксономії визначаються для різних груп по суті справи «конвенційною умовою» про той чи інший процент розбіжності.

6. В роботі описані різкі розбіжності в характері генетичного різноманіття між популяціями ПЗЧМ (особливо, відносно острова Зміїний). Незрозуміло, який екологічний базис цієї розбіжності: острівний ефект, різниця в різноманітті оселищ (так звані «мулисті» та «скелясті» екологічні раси), розбіжності в гідрологічному режимі солоності?

Наведені вище зауваження та запитання не знижують високий науковий рівень дисертаційної роботи, яка є самостійним і завершеним науковим дослідженням.

Оформлення дисертаційної роботи відповідає встановленим вимогам до її структури, робота написана науковою мовою, але спостерігаються друкарські помилки, навіть в назвах підрозділів дисертації.

Ознайомлення з текстом дисертації свідчить, що її автор обґрунтував методологію проведення досліджень, розробив робочі гіпотези, виконав камеральні та лабораторні дослідження, провів розрахунки відповідних показників та їхню статистичну обробку, узагальнив та оприлюднив одержані результати у наукових друкованих працях.

Згідно з вимогами, результати дисертаційної роботи повно опубліковані у виданнях, зокрема й тих які входять до наукометричної бази Scopus.

Матеріали дисертаційної роботи неодноразово апробовані на міжнародних конференціях високого рівня.

Тому вважаю, що дисертаційна робота «Генетико-біохімічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) в північно-західній частині Чорного моря» 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 від 12 січня 2022 р. № 44 (із змінами, внесеними згідно з Постановою КМ № 341 від

21.03.2022), що висуваються до дисертацій, а Чубик Інна Юхимівна заслуговує на присудження наукового ступеня: доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», 09 «Біологія».

Старший науковий співробітник
Інституту морської біології НАН України
доктор біологічних наук



М.О. Сон

*Юрій Сон М.О. завідувач
допоміжний директор з міжсекторою О.В.*