

## Рішення спеціалізованої вченої ради ДФ 21.091.2023 про присудження ступеня доктора філософії

Спеціалізована вчена рада ДФ 21.091.2023 Одеського національного університету І. І. Мечникова, прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії галузі знань 09 Біологія на підставі прилюдного захисту дисертації «Поліморфізм генів гліадинів в сучасних українських сортах та лініях пшениці м'якої» за спеціальністю 091 Біологія "11" грудня 2023 року.

Попович Юлія Андріївна, 1995 року народження, громадянка України, освіта вища: закінчила у 2018 році Одеський національний університет імені І. І. Мечникова за спеціальністю 091 Біологія.

Працює хіміком I категорії в Молекулярно-генетичній та мікробіологічній лабораторії Випробувального центру іноземного підприємства «СЖС Україна» у м. Одеса з 2018 р. до цього часу.

Дисертацію виконано в Одеському національному університеті імені І. І. Мечникова.

Науковий керівник Чеботар Сабіна Віталіївна, докторка біологічних наук, професорка, завідувачка кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики ОНУ імені І. І. Мечникова, член-кореспондент НААН України.

Здобувачка має 12 наукових публікацій за темою дисертації, з них 1 стаття в наукових фахових виданнях України, 3 статті у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та/або Scopus:

1. **Попович Ю. А.**, Благодарова О. М., Чеботар С. В. Поліморфізм мікросателітного локусу *Taglga* та його зв'язок з алельними варіантами гліадинів пшениці м'якої. *Вісник ОНУ. Серія Біологія*. 2021. Т. 2, №49. С. 73-85. doi 10.18524/2077-1746.2021.2(49).246889.
2. **Popovych Yu. A.**, Blagodarova O. M., Chebotar S. V. Genetic variation of *Gli-B1* locus in Ukrainian bread wheat varieties and lines. *Biopolym. Cell*. 2021. Vol. 37, №5. P. 379-388. <https://doi.org/10.7124/bc.000a63>. (**Scopus, WoS**)
3. Metakovsky E., Pasqual L., Vaccino P., Rodrigues-Quijano M., **Popovych Yu.**, Chebotar S., Rogers W. Heteroalleles in common wheat: Multiple differences between allelic variants of the *Gli-B1* locus. *Int. J. of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. P. 1832. <https://doi.org/10.3390/ijms22041832>. (**Scopus, WoS**)
4. **Popovych Yu.**, Chebotar S., Melnik V., Rodriguez-Quijano M., Pascual L., Rogers W. J., Metakovsky E. Congruity of the polymorphisms in the expressed and noncoding parts of the *Gli-B1* locus in common wheat. *Agronomy*. 2020. Vol.10, №10. P. 1510. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101510>. (**Scopus, WoS**)

У дискусії взяли участь голова і члени спеціалізованої вченої ради та присутні на захисті фахівці:

**Рецензент: Січняк О. Л.** кандидат біологічних наук, доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

1. На с. 15 (і далі повертається до цього на с. 47) авторка вказує як одну із задач селекції пшениці створення сортів із низьким вмістом чи відсутністю глютену. І до цієї тези повертається неодноразово по ходу роботи, наводячи навіть дані, які вказують на можливість досягнення цієї мети. Однак з огляду на те, що проблема глютену, обумовлена спадковою хворобою целіакією торкається не більше 3% населення, а селекція у теперішній час все більше стає технологією, то постає питання, а чи рентабельно вирішувати цю проблему саме селекційним шляхом, а після цього як забезпечувати виробництво і логістику такої продукції? В той же час набагато дешевше методами харчової промисловості можна створювати відповідні безглютенові продукти для



цільових споживачів.

2. На с. 17, цитуючи роботу Коваля і Метаковського, 2018 авторка пише, що у кожному регіоні, як правило, вирощуються сорти, що характеризуються певним набором алельних варіантів, типовим для даного регіону, що пов'язує їх з адаптацією до певних кліматичних умов, таких як морозостійкість, стійкість до стеблової іржі. Це дещо декларативно. Якщо такий зв'язок існує насправді, то треба роз'яснити суть цього зв'язку (зчеплення генів або опосередована дія). До того ж морозостійкість, стійкість до стеблової іржі – це властивості рослини, але ніяк не кліматичні умови.

3. Далі на с. 17: Секвенування гліадин-кодуючих локусів та окремих генів гліадинів. Про що йде мова: кластери генів = локус, або локус = ген, але різні алелі? Потребує уточнення.

4. С. 18: робота присвячена дослідженням поліморфізму гліадинів за допомогою методу електрофорезу в кислому ПААГ та пошуку і аналізу поліморфізму *Gli-1* локусів з використанням молекулярних маркерів. ДНК-маркерів? А хіба білкові маркери не є молекулярними?

5. Далі на с. 18: Проаналізувати поліморфізм *Gli-A1*, *Gli-B1* та *Gli-D1* локусів ... у сучасних українських сортів та світової колекції сортів пшениці м'якої. Формулювання світова колекція зустрічається і далі у роботі. Навіть 50 зразків, наданих проф. Метаковським не відображають всього різноманіття світового генофонду пшениці м'якої. Це число навіть менше, ніж кількість країн, які займаються селекцією пшениці. Хоча у відношенні досліджуваної ознаки проф. Метаковський, ймовірно, створив репрезентативну вибірку зі світової колекції, тому, на мій погляд, правильніше казати про колекцію Метаковського, а не про світову колекцію.

6. С. 24. Найбільш досліджуваними і важливими для селекції є гени, пов'язані з агрономічно цінними ознаками, такими як кількісні ознаки, стійкість до хвороб та абіотичних стресів, а також гени, що визначають адаптацію та урожайність. Потребує уточнення, адже і урожайність, і окремі ознаки адаптивності – це кількісні ознаки.

7. С. 33: За іншими даними у гексаплоїдній пшениці міститься близько 50%  $\alpha$ -гліадинових генів, що є псевдогенами, а в її предкових диплоїдних видів – 87%. Викликає сумнів, що диплоїдні види несуть набагато більше псевдогенів, ніж гексаплоїдний вид. Якщо ж це справедливо, то має відбуватися цілеспрямований процес елімінації псевдогенів в процесі еволюції алополіплоїда. До речі, треба обережніше застосовувати термін «предкові види», адже в еволюційних дослідженнях сучасні види, в даному випадку, близькі до донорів субгеномів м'якої пшениці, є двоюрідними або троюрідними родичами пшениці і нащадками цих донорів. До речі, у егілопсів є інша проблема, пов'язана з генетичним «сміттям» – наявність В-хромосом, де ізолюється так звана егоїстична ДНК. Навряд чи сюди можна віднести гени гліадинів.

8. С. 43. Варто відзначити, що *Gli-1* локус зчеплений з різними генами стійкості R. Що це за гени? Зазвичай вони позначаються аббревіатурами за відповідними ознаками.

9. С. 57: 5 зернівок для електрофорезу і 5 – для ПЛР. Це були загальні наважки з 5 зернівок або окремо по кожному зерну. Якщо останнє, то чи була варіація між рослинами?

10. С. 66, 103. Власна програма. Ви є автором програми? Хто здійснював секвенування і яким методом?

11. С. 80: Стійкий зв'язок «Алель за алель-специфічною ПЛР (SNP алель) – алель *Taglgap* – алельний варіант гліадинів» свідчить про консервативність та важливість даної ділянки геному, що належить  $\gamma$ -гліадиновому псевдогену. Імовірно, ця ділянка *Gli-B1* локусу має певні регуляторні функції. Чи варто тоді казати про псевдоген?

12. С. 85. А може помірні кліматичні умови ні до чого? Справа у обмеженому ареалі, більш-менш однакових вимогах до сорту, традиціях та особистих вподобаннях селекціонерів, асоціації з іншими ознаками?

13. Яку мету переслідували, залучаючи до *in silico* ПЛР інші види злаків, адже головна мета дисертації – визначити частоти алелів різних генів в колекціях сортів та



пов'язати це з селекційними моделями сортів у різних зонах.

14. С. 113 виникали деякі труднощі із специфічністю ПЛР з даними праймерами. Які саме труднощі? Мова йде саме про специфічність або про 3х ендосперм: два алелі 1.2 та один – 1.1?

15. С. 149. Сорти із Gli-D1b алельним варіантом гліадинів характеризувалися як *Gli-D1.1* алелем, так і *Gli-D1.2* алелем. В чому причина? Гетерогенна суміш білків? Чи за рахунок виродженості коду не відбулося заміни амінокислоти?

16. С. 165-166. Неспівпадіння з Поліщук та ін., 2010. З чим це пов'язане: розміри вибірки, мутаційні зміни, які відбувалися протягом 10 років?

**Опонент: Волков Р. А.** доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича.

1. На с. 105 дисертантка стверджує, що у лабораторному експерименті практично неможливо відрізнити ПЛР-продукт довжиною 400 нп та продукт, який відрізняється від нього на 30 нп. Для вирішення цієї задачі пропонується використовувати лише метод сиквенування. Опонент не може погодитися з такою точкою зору, оскільки фрагменти вказаного розміру можна легко розрізнити або за допомогою капілярного електрофорезу, або з використанням електрофорезу у ПААГ;

2. На с. 107 вказано, що для чотирьох зразків «не вдалося отримати якісну нуклеотидну послідовність». Хотілося б дізнатись, що на думку дисертантки може бути причиною цього?

3. На с. 145 дисертантка пише, що «Використання HotStart ДНК-полімерази, у більшості випадків, дозволило лише значно знизити ефективність реакції з праймерами до одного з алелів». Прохання уточнити, що саме мається на увазі, оскільки на думку опонента використання HotStart ДНК-полімерази мало би підвищувати специфічність реакції ПЛР, а не «знижувати ефективність реакції»;

4. На думку опонента розділ «Узагальнення результатів» є занадто довгим і детальним, і частково дублює попередні розділи;

5. На с. 167 та у висновку 3 вказано, що «Відповідність між алелями, які визначаються в ПЛР з алель-специфічними праймерами до Gli-D1 локусу не установлена». Бажано пояснити можливі причини такого результату.

6. Хотілося б почути думку дисертантки, чи можна використати отримані в роботі дані для уточнення походження сортів м'якої пшениці, філогенетичних відносин між ними та їх спорідненості із дикими родичами?

7. В роботі наявні орфографічні та технічні помилки та невдалі вирази. У «Змісті» пропущено підрозділ 2.2 «Електрофорез в кислому ПААГ».

**Опонент: Козуб Н. О.** докторка біологічних наук, завідувачка Лабораторії екологічної генетики рослин та біотехнології Інституту захисту рослин НААН України.

1. Щодо локусу *Gli-B3* (с. 29) посилання Nieto-Taladriz et al., 1996; Anderson et al., 2009 є невідповідними. Посилання (Matsuo et al., 2005; Altenbach et al., 2007) у яких йдеться про омега-гліадини, є невідповідними для розгляду структури альфа і гама гліадинів (с. 32). У посиланні на с. 51 Hsia C. C., Anderson O. D. Isolation and characterization of wheat gliadin gene пропущено « » ( - gliadin). Це посилання є невідповідним для опису структури гамма-гліадинів (абзац 2 ст. 32), оскільки у ньому йдеться про омега-гліадини.

2. Щодо твердження, що «-гліадини *Gli-3* локусів тісно зчеплені з  $\gamma$ -гліадиновими генами» (с. 29) то насправді тільки *Gli-D3* є частиною *Gli-D1* (див. Payne, 1987). Локуси *Gli-A3* та *Gli-B3* знаходяться на відстані 20 сМ проксимально від відповідних локусів *Gli-1* і тому не є тісно зчепленими з ними і неправильним є твердження, що «Metakovsky et al., (2018) було висунуто припущення, що *Gli-3* є



частиною *Gli-1* локусів» (ст. 29, абзац 3). Якраз Метаковський (Metakovsky et al. 2018; Metakovsky 2015) дивується тому, що деякі автори (зокрема в публікаціях Olin D. Anderson) виділяють гени омега-гліадинів в складі *Gli-1* в окремий локус *Gli-3*. Він пише (Metakovsky et al. 2018, Box3): “The use of well-known symbol *Gli-3* to designate a region of *Gli-1* may mislead researches and confound scientific results”. Те ж стосується твердження на с. 42: омега гліадини *Gli-3* локусів також входять в дану класифікацію, і на думку авторів даний локус є частиною *Gli-1* (Metakovsky et al. 2018).

3. Треба було б навести в дисертації електрофореграми з новими блоками гліадинів, що згадуються в розділах 3-5, а наведення рисунків зі статті Поліщук та інш. 2010 у розділах з експериментальними даними є надмірним.

4. В тексті розділу 3.1 є різні варіанти довжини амплікона з ген-специфічними праймерами до *Gli-B1* сортів Безоста 1 і Миронівська 808. На рис. 1 Безоста 1 (3) має фрагмент 372 п.н., що видно з фото, тут же підписано 372 для Миронівської 808, а в таблиці 3.1 для обох сортів наведено 369 п.н. Для сорту Альбатрос одеський в тексті на с. 79 також наведено 372 п.н., а в таблиці 3.1 – 369 п.н. Аналогічно, на с. 87 написано «Переважає більшість сортів української колекції відносилися до підгрупи 2, характеризувалися *Gli-B1.1* алелем з розміром фрагментів ампліфікації 372 п.н.», а в табл. 3.3. для цих сортів наведено 369 п.н.

5. У розділі 4.1 у частини сортів ідентифіковано алель *Gli-A1x*. Ці сорти дійсно мають алель «х», але згідно із позначенням цього алеля, запропонованим у статті Kozub et al. 2009 р. У цій же статті вказано, що *Gli-A1x* позначено алель, що кодує блок гліадинів, який раніше Попереля позначив GLD 1A9. Про це також зазначалось у всіх наступних публікаціях де наводили генотипи з *Gli-A1x*. У пізнішій публікації 2018 р. Метаковський дав позначення «х» зовсім іншому алелю, що є комбінацією *Gli-A1a* та *Gli-A6b*. Тому це треба було б врахувати при обговоренні, але на цінність одержаних результатів це не впливає. Носії алеля *Gli-A1x* (блоку GLD 1A9) за Kozub et al. 2009 мають алель *Gli-A6a*, тому потребує корекції фраза першого абзацу на с. 126.

6. Невдалою є фраза (с. 32) «СІ домен С-термінальної ділянки складається з шести залишків цистеїну». У тексті зустрічаються вирази: амінокислотні основи, цистеїнові основи (с. 32, 33, 35, 36). На ст. 34 є «транзиція».

7. При згадці про картування *Gli-A3* треба було б посилатись на статтю Собко, 1984.

8. У висновку 1 є невчитана фраза «у світовій вибірці описано 1 алелів, найчастіше зустрічалися 216 п.н. та 270 п.н., відповідно». У висновку 2 треба було б поміняти місцями кількості алелів для *Gli-A1*, *Gli-B1* світової колекції.

**Опонент: Антонюк М. З.** доктор біологічних наук, завідувач кафедри біології Національного університету «Кієво-Могилянська академія».

1. По всьому тексту автор роботи вживає словосполучення «біоінформаційний аналіз». Але це словосполучення має походити не від слова інформація (будь який аналіз це, зрештою, аналіз інформації), а від слова інформатика і є аналізом даних засобами біоінформатики. Має бути «біоінформатичний аналіз».

2. На стор. 66 при описі протоколу фарбування сріблом фрагментів ДНК у гелях читаємо таке: «частину відновного розчину (12г Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (безводний) 200 мкл 0,019% формальдегід на 400 мл H<sub>2</sub>O)». Ця фраза не зрозуміла. На стор. 20 згадано реактив аргентум II нітрат. Такої сполуки не існує.

3. У огляді літератури на стор. 38 автор пише, що «опираючись на великі нуклеотидні послідовності ... було створено генетичні карти *Gli-1* та *Gli-2* локусів». Виходячи з малюнка, до якого читача відсилає автор роботи, тут мова іде не про генетичну карту, відстань між генами на якій визначається у категоріях сантіморганід, а карта фізична, відстань на такій карті визначають у парах основ. На стор. 48 автор пише: «Використання ДНК-маркерів для збільшення ефективності точності звичайної селекції



отримало назву маркер-асоційована селекція (MAS)». Такий переклад не точний: селекція англійською буде breeding, а MAS має бути перекладено, як «добір за допомогою маркерів», і у такому разі очевидною стає спрямованість роботи: добір бажаних генотипів за молекулярним фенотипом, який дослідник отримує у представників з популяцій, що розчеплюються на основі аналізу поліморфізмів макромолекул.

4. У таблицях 2.1, 3.1, 4.3 та у тексті дисертації згадується нулі-тетрасомна лінія сорту Chinese Spring N10T1B, а також, наприклад лінія 1B·1D. Опонент не знає, що це означає, оскільки таке позначення не відповідає загальновідомому позначенню нулі-тетрасомних ліній пшениці.

5. На стор. 85 автор завершує підрозділ 3.1 абзацом, сенс якого полягає у тому, що метод на основі ПЛР дасть змогу прискорити процес відбору рослин під час селекції, бо беручи ДНК з будь-якої частини рослини, можна не чекати зрілості зернівки. Але ж на рослині формується зернівка наступного покоління, а це має критичне значення при аналізі рослин з популяцій, що розчеплюються.

6. На стор. 107 автор описує результати секвенування продуктів ампліфікації Gli-B1.1 – у сортів Gabo та Миронівська 808, які мають однакові за довжиною фрагменти у 369 п.о. А на цій же сторінці нижче Юлія Андріївна описує результати секвенування цих продуктів, і виявляє, що сиквенси цих сортів відрізняються на один глютаміновий мікросателіт. Тобто три нуклеотиди. Причина невідповідності у роздільній спроможності електрофорезу?

7. У таблицях 3.5 та 4.2. загальна кількість сортів не є сумою сортів, які наведені у стовпчиках, де перераховані кількості сортів з певного селекційного центру України. Для розрахованих частот слід було навести похибку.

8. Як автор роботи може пояснити той факт, що деякі з проаналізованих нею за допомогою методу АРААG сортів (як от Миронівська слава за локусом *Gli-A1*) мають інший алель, ніж можемо бачити у каталогах гліадинових алелів, наприклад, оприлюднених Н. О. Козуб.

9. Чому дендрограми, які відображені на малюнках 3.14 і 4.10 побудовано з використанням різних методів Neighbour joining та UPGMA, відповідно? Відомо, що в основі цих методів лежать різні алгоритми. Як ці дерева можна співставити?

У дискусії взяли участь присутні за захисті

**Рецензент: Січняк О. Л.** кандидат біологічних наук, доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Вважаю, що дисертація на тему «Поліморфізм генів гліадинів в сучасних українських сортах та лініях пшениці м'якої» на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» відповідає існуючим вимогам, робота є актуальною і корисною для селекції.

**Опонент: Волков Р. А.** доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Аналіз представлених у роботі матеріалів свідчить, що за своєю актуальністю, науковою новизною, обсягом та достовірністю отриманих результатів, обґрунтованістю висновків дисертація Попович Юлії Андріївни «Поліморфізм генів гліадинів в сучасних українських сортах та лініях пшениці м'якої» повністю відповідає існуючим вимогам, а її авторка – Попович Юлія Андріївна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

**Опонент: Козуб Н. О.** докторка біологічних наук, завідувачка Лабораторії екологічної генетики рослин та біотехнології Інституту захисту рослин НААН України. Дисертаційна робота Ю. А. Попович є закінченим науковим дослідженням, містить нові, цікаві, науково обґрунтовані експериментальні результати проведених здобувачем

досліджень, має наукову новизну і практичну цінність, а її автор – Попович Ю. А. заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

**Опонент: Антонюк М. З.** доктор біологічних наук, завідувач кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія». Дисертаційна робота Попович Ю. А. є завершеним науковим дослідженням з актуального напрямку генетики рослин. Робота містить оригінальні результати, що мають як теоретичне, так і практичне значення. За своєю актуальністю, новизною отриманих результатів, обсягом виконаних досліджень, за повнотою оприлюднення результатів дослідження у науковій періодиці робота Попович Ю. А. відповідає вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Результати голосування:

"За" 5 членів ради  
Проти" немає  
Утримались немає

На підставі результатів голосування спеціалізована вчена рада ДФ 21.091.2023 присуджує Попович Юлії Андріївні ступінь доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Голова спеціалізованої вченої ради



Федір ТКАЧЕНКО

Підпис громад. Федоро Ткаченко  
посада Голови спецради  
**ЗАВІРЯЮ:**  
Проректор ОНУ імені І. І. Мечникова  
Запорожченко О. В.

