

**ВІДГУК**  
**офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора**  
**Волкова Романа Анатолійовича,**  
**на дисертаційну роботу Попович Юлії Андріївни**  
**«Поліморфізм генів гліадинів в сучасних українських сортах**  
**та лініях пшениці м'якої»,**  
**представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії**  
**зі спеціальності 091 «Біологія»**

**Актуальність обраної теми та зв'язок з науковими програмами**

Дисертаційна робота Попович Юлії Андріївни присвячена вивченню поліморфізму генів гліадинів – запасних білків пшениці, які разом із глютенінами утворюють клейковинний (глютеневий) комплекс, який визначає хлібопекарську якість борошна – дуже важливу ознаку для селекції. Гліадини проявляють високий рівень поліморфізму, який додатково ускладнюється завдяки гексаплоїдній конституції геному пшениці м'якої. У зв'язку з цим, застосування основного методу аналізу запасних білків – електрофорезу в кислому ПААГ - для ідентифікації алельних варіантів гліадинів вимагає тривалого досвіду у цій сфері.

Таким чином, виникає потреба у молекулярних маркерах, які б дозволили визначати алельні варіанти гліадинів за допомогою ПЛР. Наявність таких маркерів допоможе використовувати гліадини в ході маркер-асоційованої селекції, для ідентифікації алельних варіантів гліадинів ще до отримання зерна, придатного для проведення електрофорезу запасних білків, що дозволяє прискорити та полегшати селекційний процес.

У дисертаційному дослідженні поліморфізм гліадинів, що кодуються трьома локусами *Gli-1*, вивчається як за допомогою методу електрофорезу в кислому ПААГ, так і з використанням молекулярних маркерів. Представлені результати доводять ефективність застосування праймерів, використаних у роботі, для ідентифікації алельних варіантів гліадинів за допомогою ПЛР. Отже, тема і мета дисертаційного дослідження є важливими та актуальними.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, темами**

Дисертаційна робота виконувалася у межах наукової теми кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики ОНУ імені І. І. Мечникова №308 «Еколого-генетичні аспекти адаптації та генетичний поліморфізм живих систем».

### **Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, та їх достовірність**

Сформульовані у дисертації положення та висновки є достовірними та логічно випливають з наведених експериментальних даних, отриманих на значній кількості сортів пшениці м'якої як української, так і зарубіжної селекції.

Основні положення дисертаційного дослідження є достатньо обґрунтованими, підтверджуються біоінформатичним аналізом і сиквенуванням та співвідносяться із дослідженнями інших вчених, представленими у науковій літературі.

### **Наукова новизна положень, результатів та висновків дисертаційної роботи**

У дисертаційному дослідженні вперше показана відповідність між алелями, які визначаються за допомогою ПЛР з праймерами, запропонованими Zhang et al. (2003), алелями мікросателіту *Taglgap* та алельними варіантами гліадинів, визначеними з використанням електрофорезу у кислому ПААГ. Дисертанткою сиквеновано ряд основних алелів *Gli-B1* локусу.

Для ідентифікації алельних варіантів гліадинів, що кодуються локусом *Gli-A1* в роботі запропоновані нові праймери до кодувальної ділянки цього гена  $\gamma$ -гліадину.

У 94 сучасних українських сортів вперше досліджено не тільки алельні варіанти гліадинів, які визначаються методом електрофорезу в кислому ПААГ, але й алелі, які ідентифікуються з використанням ПЛР з алель-специфічними праймерами до трьох *Gli-1* локусів та алелі локалізованих в цих локусах мікросателітів.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Робота впроваджена у навчальну програму курсу «Молекулярні маркери», яка викладається для докторів філософії за ОНП «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія» на Біологічному факультеті ОНУ імені І.І. Мечникова.

Отримані результати, а саме дані щодо відповідності алелів, визначених з алель-специфічними праймерами до локусів *Gli-B1* і *Gli-A1* та праймерами до мікросателітів – *Taglgap* та *MS1* можуть використовуватися для ідентифікації ряду алельних варіантів гліадинів в ході відбору генотипів для селекційного процесу, а також для генотипування сортів пшениці.

### **Повнота викладу основних результатів у наукових фахових виданнях**

Результати дисертаційного дослідження викладені у чотирьох статтях, три з яких у журналах, які індексуються в наукометричній базі Scopus та одна – у фаховому журналі категорії «Б», а також у восьми тезах та матеріалах міжнародних наукових конференцій.

### **Загальна характеристика роботи**

Дисертація складається із Вступу, п'яти розділів, Узагальнення та Висновків. Список використаних джерел літератури містить 160 найменувань, більшість з яких англomовні.

У розділі «Огляд літератури» детально описуються типи та структура гліадинів, основні гліадин-кодувальні локуси, їх структура. Розглянуто дві

класифікації алельних варіантів гліадинів та основні сучасні напрями досліджень гліадинів, а також їх практичне значення. У розділі «Матеріали та методи» детально наведені та пояснені всі використані методики, описано використані у дослідженні сорти м'якої пшениці. «Розділ 3» присвячений викладенню результатів аналізу поліморфізму локусу *Gli-B1*. У «Розділі 4» описані результати, отримані для локусу *Gli-A1*, а в «Розділі 5» – для локусу *Gli-D1*.

Висновки сформульовані у шести положеннях, які відповідають поставленим завданням. Загальний обсяг дисертації складає 194 сторінки.

### **Відсутність порушень академічної доброчесності**

Розгляд дисертації Попович Юлії Андріївни показує, що робота є самостійно виконаною та завершеною науковою працею. Основні результати, нові наукові положення та висновки, сформульовані у дисертації, оприлюднені в наукових працях, зарахованих за темою дисертації; порушень академічної доброчесності в роботі не виявлено.

**Під час ознайомлення з дисертаційною роботою виникли певні зауваження та запитання, а саме:**

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 встановлена». 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» пропущене підрозділ 2.2 «Електрофорез в кислому ПААГ».

Проте, наведені вище зауваження та запитання мають уточнюючий характер, не є критично важливими і не зменшують наукову цінність дисертаційної роботи.

## **ВИСНОВОК**

Дисертаційна робота Попович Юлії Андріївни «Поліморфізм генів гліадинів в сучасних українських сортах та лініях пшениці м'якої» є завершеною науковою працею, яка має теоретичну та практичну цінність.

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 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 12 січня, 2022 року, а її авторка – Попович Юлія Андріївна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Офіційний опонент

завідувач кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича, доктор біологічних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України

Роман ВОЛКОВ

