

Рішення спеціалізованої вченої ради ДФ 39.091.2023 про присудження ступеня доктора філософії

Спеціалізована вчена рада ДФ 39.091.2023 Одеського національного університету І. І. Мечникова, прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії галузі знань 09 Біологія на підставі прилюдного захисту дисертації «Генетико-біохімічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) в північно-західній частині Чорного моря» за спеціальністю 091 Біологія 26 лютого 2024 року.

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

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

Науковий керівник Чеботар Сабіна Віталіївна, докторка біологічних наук, професорка, член-кореспондент НААН України, завідувачка кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики, гарант освітньо-наукової програми 091 Біологія третього рівня вищої освіти за спеціальністю 091 Біологія ОНУ імені І. І. Мечникова.

Здобувачка має 12 наукових публікацій за темою дисертації, з них 1 стаття в наукових фахових виданнях України, 3 статті у журналах, що входять в наукометричну базу Scopus. До захисту зараховується 3 статті.

1. **Chubyk I.**, Chebotar G., Bick A., Chebotar S. Species affiliation of the North-Western region of the Black Sea mussels based on the results of molecular-genetic analysis. *Hydrobiological Journal*. 2022. Vol. 58, no. 3. P. 68-75. DOI: <https://doi.org/10.1615/hydrobj.v58.i3.60> (**Scopus**)
Чубик І. Ю., Чеботар Г. О., Бік А., Чеботар С. В. Видова приналежність мідій північно-західного регіону Чорного моря за результатами молекулярно-генетичного аналізу. *Гідробіологічний журнал*. 2022. Т. 58, № 1. С. 71-80. URL: http://www.hydrobiolog.com.ua/2022/pdf_2022_1/chubik_6.pdf
2. Toptikov V. A., **Chubyk I. Y.**, Chebotar S. V. Distribution and polymorphism of enzymes involved in antioxidant protection and xenobiotics biotransformation in the mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2022. Vol. 94, no. 4. P. 67-82. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj94.04.067> (**Scopus**)
3. **Чубик І. Ю.**, Чеботар С. В. Біоінформатичний аналіз генів адгезивного білка стопи мідій роду *Mytilus*. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2022. Т. 27, вип. 2 (51). С. 30-43. DOI: [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.2\(51\).268553](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.2(51).268553)

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

Рецензент: Заморев В. В., к.б.н., доцент кафедри зоології, гідробіології та загальної екології, декан біологічного факультету ОНУ імені І. І. Мечникова.

1. Термін «кодомінантна спадковість» зазвичай використовується в генетиці для опису відношення між алелями гена коли кожен з них може проявляти свої ознаки, і при наявності кодомінантної спадковості обидва варіанта гену проявляють свої характеристики в фенотипі організму. Чи варто використовувати термін «кодомінантна спадковість» у контексті успадкування мікросателітів?

2. Серед досліджуваних угруповань мідій ПЗЧМ було виявлено 8 алелів, яких не виявлено в угрупованнях мідій Балтійського, Північного та Ватового морів. Чи могло це бути результатом того, що вибірка з південно-західній частині Чорного моря була в 4–6

разів більшою ніж вибірки з інших локалітетів?

3. В чому біологічний сенс проведення аналізу генетичної дистанції та генетичної подібності між угрупованнями мідій Чорного моря, представлених одним видом мідій та угрупованнями Балтійського, Північного і Ватового морів, до складу яких входили мідії декількох видів та їх гібридів?

4. В роботі наведені цікаві результати дослідження маркерів ДНК у популяціях мідій. Проте, у розділі, присвяченому молекулярним формам ферментів, було показано, що їх дослідження менше підходять для аналізу угруповань мідій. Навіщо необхідна було ця частина досліджень, якщо вона просто підтверджує факт, який вже добре відомий: аналіз ДНК є більш точним і інформаційним в популяційних дослідженнях у порівнянні з аллозимним аналізом.

Рецензент: Алексеева Т. Г., к.б.н., доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики ОНУ імені І. І. Мечникова.

1. С. 49 – «Побудовану тривимірну модель структури досліджуваного білка за допомогою серверу I-TASSER було порівняно з моделлю спрогнозованою програмою AlphaFold» – Автор зазначає що вже наявна біоінформатична модель тривимірної структури даного білка, побудована засобами AlphaFold (яка, за результатами дворічних перемог у змаганнях «Critical Assessment of protein Structure Prediction», є оптимальною платформою, що забезпечує високу відповідність біоінформатичної моделі реальному білку). Які переваги забезпечує платформа I-TASSER?

2. С. 78. «В таблиці 5.1 не представлено частоти алелів мікросателітних локусів для локації E з ПЗЧМ через малу кількість зразків ($n = 3$), які було отримано в результаті ПЛР з праймерами до МС-локусу *Mch 5*. Проте, було розраховано частоти алелів для інших трьох МС-локусів (*Mch 8*, *MT 203*, *MT 282*) і описано в тексті». Створюється враження, що через малу кількість зразків не вдалося отримати інформацію про присутність ДНК, детектовану за допомогою праймерів до локусу *Mch 5*, але вдалося отримати таку інформацію для інших трьох локусів. Якщо так, то чому склалася подібна ситуація?

3. С. 82-83 – Дві сторінки займає перераховування МС-локусів та алелів з різною кількістю пар нуклеотидів (цей сухий перелік важко читається і важко сприймається, хоч і є цілком виправданим). Але вкрай бажано надати принаймні якийсь біологічне пояснення, нащо цей перелік тут потрібний і яке біологічне значення всі ці дослідження мають.

4. С. 89, 90 і далі – краще пояснити, що саме розраховані показники дають для розуміння генетичної структури мідій різних локацій Чорного моря. Взагалі, дуже сильно не вистачає зрозумілого пояснення, про що говорять усі розраховані показники, їх біологічний сенс.

Опонент: Волков Р. А., д.б.н., професор, завідувач кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича.

1. Виникає питання стосовно послідовності аналізу літературних джерел в розділі 1. На думку опонента «Огляд літератури» варто було розпочати з інформації про таксономічне положення, географічне розповсюдження (підрозд. 1.2) та морфологічні особливості (підрозд. 1.6) досліджуваних молюсків. Далі обговорити біохімічні маркери (підрозд. 1.4) і завершити огляд відомостями про особливості організації геному (підрозд. 1.5), молекулярно-генетичні маркери (підрозд. 1.3) та генетичний поліморфізм в популяціях двостулкових молюсків (підрозд. 1.1).

2. Назва підрозділів 1.1 та 1.4 в огляді літератури видається дещо невдалою, адже проаналізована інформація охоплює більш широке коло питань, ніж зазначено у назвах.

3. У підрозділі 1.4 зазначено, що «Зараз біохімічні маркери витіснені більш інформативними – ДНК-маркерами. Проте, як і раніше залишаються одними з найшвидших та найдешевших систем маркерів, що розробляються, і залишаються дієвим інструментом для проектів, які потребують лише виявлення низьких рівнів генетичних варіацій». Опонент не може погодитись з таким баченням. По-перше, використання ДНК маркерів в багатьох випадках є дешевшим, ніж застосування біохімічних маркерів, особливо при широкомасштабному використанні. По-друге, перевага ДНК-маркерів полягає у тому, що ДНК технології, на яких вони ґрунтуються, є більш універсальними, простішими у виконанні та такими, що забезпечують високу відтворюваність та надійність результатів. Відповідно, опонент вважає, що дисертаційна робота виграла б, якщо б ДНК маркери були використані більш широко за рахунок скорочення досліджень ферментних маркерів.

4. На ст. 30 мова іде про геномне секвенування, але не зрозуміло, маються на увазі мітохондріальні чи ядерні геноми.

5. Декілька методик у розділі «Методи дослідження» наведено занадто детально. Наприклад, (i) описано виділення ДНК з використанням комерційних наборів. Опонент вважає, що такий опис є надлишковим і по суті являє скорочений переклад стандартних інструкцій до наборів; (ii) на ст. 51 детально описано приготування розчинів для електрофорезу, хоча загальноприйнято просто вказувати концентрації розчинів, які було використано.

6. На ст. 63 вказано: «Всі досліджувані особини мідій з локацій (A, B, C, D, E, F) Чорного моря характеризувалися алелями розміром 126 п.н.». Питання: чи було проведено секвенування отриманого ПЛР-продукту? Аналогічне зауваження стосується і ПЛР-продуктів, які згадуються наприкінці ст. 65.

7. На рис. 4.2 представлена дендрограма, яка викликає ряд запитань. По-перше, чому на дендрограмі наведено лише послідовності з Генбанк і не проведено секвенування відповідних ділянок геному для проаналізованих у дисертації зразків мідій? По-друге, для побудови дендрограми використано метод UPGMA, який зазвичай не прийнято застосовувати у філогенетичних дослідженнях. Загальновизнаним стандартом є використання методу Maximum Likelihood. Прохання пояснити, чому цей метод не був використаний у дисертації. По-третє, рівень статистичної підтримки (бутстреп індекс) для більшості груп не перевищує 50. Загальновідомо, що такі значення є низькими і вказують на недостовірність виділення відповідних груп на філогенетичному дереві, і тому такі групи зазвичай не наводяться. Загальний висновок, який можна зробити з аналізу дендрограми, полягає в тому, що застосований підхід не дозволяє достовірно відтворити філогенію досліджуваної групи.

8. Прохання пояснити, для чого у дисертацію було включено розділ 4.2. «Аналіз структури адгезивного білка *Mytilus galloprovincialis*». На думку опонента, викладена в цьому розділі інформація не прямого має відношення до теми дисертації.

9. У розд. 6 (ст. 99-100) наведено текст, який по суті являє собою аналіз публікацій інших авторів. Ці фрагменти тексту варто було би перенести у розділ «Огляд літератури».

10. На ст. 109 зазначено, що «у гепатопанкреасі пероксиди нейтралізуються в першу чергу за допомогою глутатіонпероксидази і каталази, у ктенідіях – пероксиредоксинами». Прохання пояснити, які саме пероксиди маються на увазі. Чи мова йде виключно про пероксид водню?

11. Якість кількох фотографій, які наведено у розділі 6.1, є недостатньою, що не дозволяє розрізняти всі ізоформи. Зокрема, рецензент не може погодитися з інтерпретацією рис. 6.3, 6.4, 6.6, 6.7, 6.8. На мою думку, на гелі наявно набагато менше ізоформ, ніж вказано на схемах під позначкою «В». В кількох випадках якість розділення можна було би покращити, якщо збільшити час проведення електрофорезу. Чому умови проведення електрофорезу не було оптимізовано у попередніх експериментах? Чи не

варто було провести сканування отриманих гелів для покращення ідентифікації ізоформ?

Опонент: Сон М. О., д.б.н., старший науковий співробітник ДУ «Інститут морської біології НАН України».

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 століття 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, Capt 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?

У дискусії взяли участь присутні за захисті.

Рецензент: Заморов В. В., к.б.н., доцент кафедри зоології, гідробіології та загальної екології, декан біологічного факультету ОНУ імені І. І. Мечникова. Дисертаційна робота Чубик Інни Юхимівни є повним та закінченим дослідженням. Представлений на рецензію рукопис відповідає вимогам до дисертації на здобуття доктора філософії і може бути допущеним до захисту. Здобувач заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

Рецензент: Алексєєва Т. Г., к.б.н., доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики ОНУ імені І. І. Мечникова. Дисертаційна робота Чубик Інни Юхимівни «Генетико-біохімічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) в північно-західній частині Чорного моря», є цілісною, закінченою науковою працею. За своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів, глибиною розкриття поставлених проблем, логічністю і обґрунтованістю висновків дисертація повністю відповідає вимогам, що висуваються до дисертаційних робіт, а її автор, Чубик І. Ю. заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

Опонент: Волков Р. А., д.б.н., професор, завідувач кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Дисертаційна робота Чубик Інни Юхимівни «Генетико-біохімічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) в північно-західній частині Чорного моря» є завершеною науковою працею, яка має теоретичну та практичну цінність. Аналіз дисертаційної роботи показує, що за своєю актуальністю, науковою

новизною, обсягом зібраного експериментального матеріалу, достовірністю отриманих результатів та обґрунтованістю висновків дисертація Чубик І. Ю. «Генетико-біохімічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) в північно-західній частині Чорного моря» цілком відповідає вимогам, а її авторка – Чубик І. Ю. заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Опонент: Сон М. О., д.б.н., старший науковий співробітник ДУ «Інститут морської біології НАН України». Дисертаційна робота Чубик Інни Юхимівни є самостійним і завершеним науковим дослідженням. 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 друківаних працях. Вважаю, що дисертаційна робота «Генетико-біохімічні характеристики *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) в північно-західній частині Чорного моря» відповідає вимогам, що висуваються до дисертацій, а Чубик І. Ю. заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

Результати голосування:

«За» 5 членів ради

«Проти» 0 членів ради

На підставі результатів голосування спеціалізована вчена рада ДФ 39.091.2023 присуджує Чубик Інні Юхимівні ступінь доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Голова спеціалізованої вченої ради



Федір ТКАЧЕНКО

