

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Козуб Наталії
Олександрівни «Різноманітність та ефекти кластерів проламінових генів
Triticum aestivum L. та споріднених видів», подану до захисту на здобуття
наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю
03.00.22 – молекулярна генетика

Актуальність теми. Проламінові локуси злаків є відомою генетичною системою, яка застосовується для вивчення різноманітності культивованих і дикорослих видів злаків. Водночас, аналіз поліморфізму цих локусів має практичне значення для селекції і насінництва, зокрема, пшениці м'якої, оскільки алельні варіанти запасних проламінових білків безпосередньо визначають рівень хлібопекарської якості. Відомо, що генофонд пшениці м'якої обмежений, тому важливо дослідити споріднені види та залучити їх у міжвидову гібридизацію з метою інтрогресії генів цінних ознак. Частоти проламінових алелів у колекціях сортів пшениці різного походження відображають, крім впливу на хлібопекарську якість, адаптивне значення цих алелів. Актуальним також є дослідження змін частот алелів серед українських сортів пшениці м'якої у зв'язку з глобальним потеплінням, про яке свідчить поступове збільшення середньорічної температури повітря в Україні. Такі дослідження популяційної структури сортів є важливими для прогнозування тенденцій селекції пшениці в Україні.

Дисертація Козуб Наталії Олександрівни «Різноманітність та ефекти кластерів проламінових генів *Triticum aestivum* L. та її родичів» присвячена комплексному вивченню різноманітності алелів локусів запасних білків пшениці м'якої та культивованих і дикорослих споріднених видів: дослідження ролі окремих чинників мінливості (рекомбінації, мутацій і інтрогресій) у збільшенні різноманітності алелів, генетичного контролю проламінових компонентів, показників генетичної різноманітності колекцій різних видів Triticeae, виявленню адаптивного значення певних алелів та їх асоціацій. Важливим напрямом дослідження дикорослих видів є збереження їх різноманітності, зокрема *ex situ* в генбанку, де одним із підходів є принцип підбору зразків за алельним багатством, що вимагає вивчення різноманітності алелів у природних популяціях. Тому представлено дисертаційного дослідження є актуальним як з теоретичної, так і з практичної точок зору.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дисертаційне дослідження виконане відповідно до тематики науково-дослідних робіт Інституту захисту рослин Національної академії аграрних наук України, Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» та Інституту агроекології і біотехнології Української академії аграрних (нині Інститут агроекології і природокористування НААН України) у рамках низки проектів упродовж 2001–2020 років.

Наукова новизна одержаних результатів. За матеріалами наукових досліджень автором *вперше*:

ідентифіковано низку нових алелів проламінових локусів; у пшениці м'якої ідентифіковано нові алелі локусів запасних білків: *Gli-B1fg**, *Gli-A1ag*, *Glu-B1er* (рекомбінантного походження); *Gli-B1b1** (мутантного походження); *Gli-B1x* та *Gli-A3e*, (останні два алелі також ідентифіковано у *T. dicoccum*); два рекомбінантні алелі локусу *Gli-D1* з участю генів *T. aestivum* і *Ae. cylindrica*; алель *Gli-B1bLast* у сорту Ластівка одеська (рекомбінантно-інтрогресивне походження); індуковані і спонтанні мутації алеля *Gli-B1b*, пов'язані з втратою одного або двох компонентів гліадинового блоку, кодованого цим алелем;

індукована мутація алеля *Gli-B1l* (у складі транслокації 1BL.1RS), пов'язана зі зміною рухливості секалінового компонента, спонтанна мутація алеля *Gli-B1l*, пов'язана з підсиленням синтезом секалінового компонента; ідентифіковано новий секаліновий локус *Sec-N* на житньому плечі 1RS, його картовано дистально від локусу *Sec-1* на відстані, в середньому, 15 сМ та визначено його алелі; для груп українських сортів пшениці м'якої зони Степу і Правобережного Лісостепу виявлено поступові зміни з часом частот деяких алелів локусів запасних білків, які корелюють з підвищенням середньорічної температури повітря;

виявлено не випадкові асоціації певних алелів гліадинових локусів та ДНК-маркерів генів стійкості проти збудників хвороб у групі українських озимих сортів пшениці м'якої; показано наявність спільних алелів локусу *Gli-B1* у *T. aestivum*, *T. spelta*, *T. dicoccum*, *T. durum*; виявлено, що переважні алелі локусу *Gli-B1* пов'язані з приналежністю *T. dicoccum* до певного підвиду: алель *Gli-B1h* і споріднені алелі (*ha**, *hb**, *hs**) є переважними у групі європейських полб, *Gli-B1x* – підвиду східних полб, *Gli-B1g* – для ефіопських полб;

ідентифіковано алелі запасних білків *Glu-U1*, *Glu-M^b1*, *Gli-U1*, *Gli-M^b1* *Ae. biuncialis*; визначено генетичну різноманітність і популяційну структуру

Ae. biuncialis Кримського півострова за цими локусами; виявлено географічну диференціацію за швидкістю виколошування-цвітіння у *Ae. biuncialis*;

створено колекцію кримських зразків *Ae. biuncialis* за різноманітністю алелів локусів запасних білків, відповідно до М-стратегії створення корової колекції; ідентифіковано носіїв пшенично-житньої транслокації 1AL.1RS від жита Insave типу Amigo серед сортів пшениці м'якої української і російської селекції, транслокацію 1BL.1RS з секаліновими алелями локусів *Sec-1* та *Sec-N* типу Amigo у угорського сорту MV Táltos, створено лінію CWX з 1BL.1RS з секаліновими алелями від жита Воронежське СГІ, ідентифіковано транслокацію 1BL.1RS з новими секаліновими алелями у сорту Вишиванка, створено популяцію рекомбінантно-інбредних ліній пшениці з рекомбінантними плечима 1RS у складі транслокацій 1AL.1RS типу Amigo та 1BL.1RS типу Кавказ, промаркованими секаліновими локусами; визначено частоту мутацій гліадинових локусів, індуковану гамма-опроміненням сухих зерен пшениці м'якої дозою 200 Гр, яка складає 7,4%;

виявлено такі ефекти наявності транслокації 1BL.1RS від жита Petkus типу Кавказ: залежність здатності до перехресного переzapилення у пшениці м'якої від дози транслокації 1BL.1RS; відносне збільшення частоти чоловічих гамет з 1BL.1RS, які взяли участь у формуванні зернівок F₂, порівняно з контролем, після гамма-опромінення зерен F₁ пшениці м'якої, гетерозиготних за 1BL.1RS; у варіанті з гамма-опроміненням сухих зерен пшениці м'якої у дозі з рівнем зниження виживаності 20–30% найменше знижує ознаки продуктивності відносно свого значення у контролі гомозигота за 1BL.1RS, порівняно з гетерозиготою і гомозиготою без транс локації;

показано, що для транслокації 1AL.1RS типу Amigo пшениці м'якої не є характерною знижена частота передачі через гамети у гетерозигот за її присутністю; вперше визначено частоту рекомбінації між 1RS у складі транслокацій 1AL.1RS та 1BL.1RS (7 % за *Sec-1*) у гібридів пшениці м'якої; встановлено генетичну відстань між групами генів локусу *Gli-D1 Aegilops cylindrica* та зчеплення окремих груп генів цього локусу з кольором колоса;

створено лінії пшениці м'якої з алелями локусів *Glu-U1* і *Gli-U1* від кримських зразків *Ae. biuncialis* і показано позитивний вплив алеля *Glu-U1b* на показник якості. Вперше визначено частоту розщеплення по центромері у гібридів пшениці м'якої, моносомних за хромосомою 1U *Ae. biuncialis* (9%), та виявлено більшу частоту втрати пліч 1US, ніж 1UL;

запропоновано аналіз ω -гліадинів на SDS-електрофореграмі як маркер *Glu-VI* для дослідження популяцій *D. villosum*, та визначено показники різноманітності за локусами *Glu-VI* та *Gli-VI* кримських популяцій *D. villosum*.

Практичне значення одержаних результатів. Зразки *Ae. biuncialis* передано в НЦГРРУ і зареєстровано під номерами UA0400157–UA0400171, UA0400187–UA0400195. Зареєстровано в НЦГРРУ генетичну колекцію *Ae. biuncialis* «Колекція зразків *Aegilops biuncialis* Vis. за алелями локусів запасних білків *Glu-U1*, *Glu-M^b1*, *Gli-U1*, *Gli-M^b1*», Свідоцтво № 262 від 20 лютого 2017 р. Озимі лінії пшениці м'якої, з транслокацією 1BL.1RS типу Кавказ, зчепленою з алелем *Glu-B1a1*, використовуються в селекційній роботі наукових установ України. Свідченням практичної значимості отриманих результатів є запропоновані автором і подані у тексті дисертації практичні рекомендації.

Теоретичне значення результатів досліджень. Результати дисертації поглиблюють уявлення про роль різних чинників мінливості у формуванні різноманітності кластерів проламінових генів, генетичний контроль проламінів, закономірності формування коадаптивних асоціацій генів, еволюцію пшениці, мікроеволюційні процеси в популяціях.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій. Дисертантка опрацювала значний обсяг літератури, що дозволило визначити невирішені питання та сформулювати мету роботи і перелік завдань. Робота має чітку структуру, а експериментальні розділи є логічно пов'язаними і послідовними. Для дослідження створено спеціальний гібридний матеріал. Для виконання роботи використано широкий спектр сучасних методів – молекулярно-генетичні (виділення білків, виділення ДНК, ПЛР-ампліфікація, електрофорез проламінів у ПААГ у кислому середовищі, SDS-електрофорез білків у ПААГ, електрофорез ДНК в агарозному гелі), гібридизація рослин, генетичний аналіз, маркерний добір. Достовірність результатів підтверджується відповідною статистичною обробкою. Висновки у повній мірі відображають суть роботи та відповідають її меті та завданням. Зміст автореферату відповідає змісту дисертаційної роботи.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Одержані результати мають важливе значення як для фундаментальних, так і прикладних напрямів генетики пшениці та споріднених видів. Результати з генотипування зразків за проламіновими локусами можуть бути використані селекціонерами для підбору вихідних форм. Створений матеріал ліній пшениці з рекомбінантними та мутантними алелями може бути

корисним для дослідження структури проламінових локусів та створення генотипів пшениці з новими властивостями. Колекція зразків *Ae. biuncialis* може використовуватись у міжвидовій гібридизації як джерело нових корисних генів для розширення генофонду *T. aestivum*, а також для перенесення окремих генів методами генетичної трансформації. Зразки *Ae. biuncialis* можуть використовуватись як стандарти алелів для дослідження природних популяцій світового генофонду виду.

Повнота використання в роботі наукової літератури у даній галузі. Список використаних літературних джерел включає 649 посилань, із них більшість (526) – в іноземних виданнях, що дозволяє повністю охарактеризувати сучасний стан розробки проблеми в Україні та в світі.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. Матеріали дисертаційної роботи достатньо повно висвітлено у наукових працях, які опубліковано у провідних фахових виданнях. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 86 наукових праць, з них 42 статті у фахових і міжнародних виданнях, 19 статей у наукових збірниках і журналах, 2 розділи у монографіях, 23 тези у матеріалах всеукраїнських та міжнародних конференцій і з'їздів.

Оцінка наукової та літературної якості складу матеріалу і стилю дисертації та автореферату. Дисертація *Козуб Н.О.* написана у традиційній формі науковою літературною мовою, оформлена відповідно до вимог ДАК МОН України. Дисертаційна робота складається із переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, розділу з описом матеріалів та методів досліджень, чотирьох розділів, де викладено результати експериментальних досліджень та їх обговорення, розділу з узагальненням результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел та великої кількості (14) додатків, що ще раз засвідчує значний обсяг проведених дисертаційних досліджень та отримання великого масиву даних. Основний текст дисертації складає 475 сторінок друкованого тексту, а загальний обсяг дисертаційної роботи – 716 сторінок. Робота включає 145 таблиць і 136 рисунків. Заслуговує на увагу якість представленого у дисертації ілюстративного матеріалу.

У **Вступі** обґрунтовано актуальність теми дослідження і наведено загальну характеристику роботи.

У розділі 1 «**Огляд літератури**» автор на основі аналізу літературних джерел узагальнює інформацію про особливості будови різних груп проламінових білків, генетичний контроль проламінів пшениці та жита,

результати досліджень структури проламінових локусів; різноманітність проламінових алелів у пшениці м'якої та споріднених видів, механізми утворення нових алелів, пов'язаність алелів проламінових локусів запасних білків пшениці з технологічними властивостями зерна, зчеплення проламінових локусів з генами стійкості до збудників хвороб, морфологічних ознак, QTL агрономічно-важливих ознак, вплив інтрогресованих алелів локусів запасних білків на хлібопекарну якість; результати дослідження різноманітності колекцій пшениці м'якої та споріднених видів за проламіновими локусами; ефекти пшенично-житніх транслокацій з участю плеча 1RS та збільшення їх різноманітності. Виходячи з цього, сформульовано завдання, які необхідно було вивчити та уточнити.

Огляд літератури написаний ґрунтовно із залученням значної кількості сучасних вітчизняних та іноземних наукових джерел з досліджуваної тематики. Слід зазначити, що кожен із розділів огляду є своєрідною теоретичною основою для експериментальних розділів, що наводяться автором у дисертаційній роботі. Наприкінці «Огляду літератури» автором зроблено короткий підсумок і обґрунтовано необхідність проведення досліджень, яким присвячена дисертаційна робота. Це, з нашої точки зору, важливо, оскільки дозволяє краще зрозуміти представлений у роботі експериментальний матеріал.

У розділі 2. «**Матеріали і методи**» наведено детальну характеристику рослинного матеріалу, методи виділення білків, виділення ДНК, ампліфікації з використанням полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР), електрофорезу проламінів у поліакриламідному гелі (ПААГ) в кислому середовищі, електрофорезу білків у ПААГ в присутності додецилсульфату натрію (SDS), електрофорезу ДНК в агарозному гелі, гібридизації рослин, генетичного аналізу, статистичного аналізу даних. Описано використані ДНК-маркери та відповідні праймери, методики детекції перезапилення у пшениці та ранжування зразків *Ae. biuncialis* за часом цвітіння. Заслуговують на увагу розроблена дисертантом у співавторстві методика електрофорезу гліадинів у кислому середовищі, запропоновані показники перехресного запилення та методика ранжування зразків *Ae. biuncialis* за часом цвітіння.

Слід зазначити, що саме раціональний підбір методичних підходів дозволив автору успішно реалізувати основні завдання дисертаційної роботи.

У розділі 3_«**Ідентифікація нових алелів запасних білків та збільшення їх різноманітності у пшениці м'якої (рекомбінація, мутації, інтрогресія)**» автором описано ідентифікацію нових алелів проламінових локусів *Gli-B1*, *Gli-*

D1, Gli-A1, Gli-A3, Gli-A2, Glu-B1, Sec-N, Sec-1 (Gli-R1) (у складі пшенично-житніх транслокацій) рекомбінантного, мутантного, інтрогресивного та рекомбінантно-інтрогресивного походження в результаті дослідження колекцій сортів та гібридного матеріалу пшениці м'якої. Визначено генетичну відстань між окремими групами генів локусу *Gli-D1 T. aestivum* та *Ae. cylindrica* та їх розміщення відносно центромери. Показано, що частота мутацій гліадинових локусів, індукованих гамма-опроміненням сухих зерен *T. aestivum* на базі відомого сорту Безоста 1 дозою 200 Гр, становить 7,4% і є на порядок вищою за частоту спонтанних мутацій (0,5%).

Ідентифіковано новий секаліновий локус *Sec-N* на житньому плечі 1RS дистально від локусу *Sec-1 (Gli-R1)* та його алелі. Ідентифіковано носіїв транслокації 1AL.1RS типу Amigo серед сортів *T. aestivum* української і російської селекції та трьох нових транслокацій 1BL.1RS; створено популяцію F₆ рекомбінантно-інбредних ліній пшениці з рекомбінантними плечима 1RS у складі пшенично-житніх транслокацій 1AL.1RS та 1BL.1RS, промаркованими секаліновими локусами та визначено частоту рекомбінації між 1RS у складі транслокацій 1AL.1RS та 1BL.1RS.

Створено матеріал *T. aestivum* з інтрогресіями хромосоми 1U *Ae. biuncialis* або лише її довгого плеча, замаркованих алелями проламінових локусів, та досліджено вплив інтрогресованого алеля локусу *Glu-U1* від *Ae. biuncialis* на показники якості зерна. Визначено частоту поперечного розщеплення за центромерою у гібридів *T. aestivum*, моносомних за хромосомою 1U *Ae. biuncialis*, та виявлено більшу частоту втрати пліч 1US, ніж 1UL.

У розділі 4 «**Ефекти присутності пшенично-житніх транслокацій з участю плеча 1RS у геномі пшениці м'якої**» викладено результати дослідження поширеності транслокацій з участю плеча 1RS серед українських озимих та ярих сортів *T. aestivum* та ефектів їх присутності.

Виявлено низку нових ефектів присутності транслокацій з участю плеча 1RS у геномі пшениці м'якої. Визначено залежність показників перезапилення від дози житнього плеча 1RS у складі транслокації 1BL.1RS, замаркованої алелем *Gli-B1l*, у сприятливих для цього умовах (посуха під час цвітіння). Показано що, для транслокації 1AL.1RS типу Amigo не є характерною знижена частота передачі через гамети у гетерозигот за її присутністю, на відміну від транслокації 1BL.1RS типу Кавказ. Виявлено позитивний ефект присутності транслокації 1AL.1RS типу Amigo на прояв ознак продуктивності, порівняно з

наявним плечем 1AS при вирощуванні рослин F₂ Колумбія × Панна в умовах Лісостепу та відсутність відмінностей у зоні Степу. Показано, що гамма-опромінення сухих зерен F₁ *T. aestivum* дозою 200 Гр приводило до відносного підвищення частоти пилкових зерен з транслокацією 1BL.1RS, які взяли участь у формуванні зернівок F₂, порівняно з контролем. Виявлено, що після гамма-опромінення у дозі 200 Гр (або відповідній дозі за рівнем зниження виживання – 20–30%) зерен F₂, гомозигота за 1BL.1RS типу Кавказ найменше знижувала ознаки продуктивності відносно свого значення у контролі, порівняно з гетерозиготою і гомозиготою без транслокації. Показано, що одночасна присутність двох транслокацій 1AL.1RS типу Amigo і 1BL.1RS типу Кавказ у гібридів в геномі *T. aestivum* приводить до зниження озерненості, при цьому виявлено, що сорт Миронівська 67 несе фактори, які підсилюють зниження озерненості у гібридів із двома різними транслокаціями. Показано можливість гетерозису у гібридів з двома транслокаціями 1AL.1RS і 1BL.1RS, незважаючи на зниження озерненості.

За допомогою маркерного добору створено лінії пшениці м'якої озимої з транслокацією 1BL.1RS, зчепленою зі алелем *Glu-B1al*, та досліджено їх показник якості (SDS-седиментації), який виявився на достатньо високому рівні – рівні сорту Безоста 1. Таке поєднання алелів компенсує негативний вплив 1BL.1RS на якість.

У розділі 5 «Різноманітність колекцій *T. aestivum*, *T. spelta*, *T. durum*, *T. dicoccum* та тритикале за проламіновими локусами» викладено результати дослідження колекцій пшениці м'якої, твердої, спельти, культурної полбидвозернянки та тритикале за кластерами проламінових генів. Ідентифіковано генотипи за проламіновими локусами та асоціації алелів. Серед українських озимих сортів пшениці м'якої виявлено не випадкові асоціації алелів локусів запасних білків *Gli-B1*, *Gli-A3*, *Gli-D1* та ДНК-маркерів генів стійкості проти збудників хвороб: гена *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57/Bdv1* стійкості проти низки біотрофних фітопатогенів, гена *TDF_076_2D* помірної стійкості проти збудників фузаріозу колоса, гена *Tsn1* чутливості до токсинів А некротрофних грибів-збудників піренофорозу та септоріозу колоса. Досліджено популяційну структуру за проламіновими локусами для сортів селекції Селекційно-генетичного інституту та Миронівського інституту ім В.М. Ремесла, створених у різні періоди селекції (до 1996 р., з 1996 по 2010, після 2010 р), показано

поступові зміни частот деяких алелів проламінових локусів, які корелюють з підвищенням температури.

Визначено алельний склад проламінових локусів грецьких сортів та ліній *T. aestivum*, грецьких зразків *T. durum*, колекцій тритикале, спельти та *T. dicoccum*. Гібридологічним аналізом визначено, що у *T. spelta* var. *caeruleum* темний колір колоса визначається геном на хромосомі 1A, зчепленим з алелем *Gli-A1j*. Виявлено, що у *T. dicoccum* переважні алелі локусу *Gli-B1* пов'язані з належністю до певного підвиду. Виявлено спільні алелі за проламіновими локусами у досліджених вибірках зразків тетраплоїдних та гексаплоїдних видів пшениці і тритикале, зокрема спільні алелі локусу *Gli-B1*.

У розділі 6 «Аналіз різноманітності природних популяцій дикорослих родичів пшениці» викладено результати дослідження різноманітності за проламіновими локусами двох видів дикорослих злаків, що ростуть на території України (Кримський півострів): *Dasypyrum villosum* (L.) P. Candargy та *Ae. biuncialis* Vis. Досліджено різноманітність двох популяцій *D. villosum* та запропоновано аналіз ω -гліадинів на SDS-електрофореграмі як маркер *Gli-V1*.

Вивчено різноманітність 15 популяцій *Ae. biuncialis* з Кримського півострова, особливості популяційної структури цього виду, виявлено найбільш часті поєднання алелів проламінових локусів, генетичну диференціацію популяцій. Визначено частоту перехресного запилення у *Ae. biuncialis*. Виявлено географічну диференціацію за швидкістю виголошування-цвітіння у *Ae. biuncialis*, де найбільш ранньостиглими є зразки із східної частини ареалу виду Кримського півострова. Створено і зареєстровано в НЦГРРУ генетичну колекцію *Ae. biuncialis* «Колекція зразків *Aegilops biuncialis* Vis. за алелями локусів запасних білків *Glu-U1*, *Glu-M^b1*, *Gli-U1*, *Gli-M^b1*» для збереження різноманітності кримських популяцій *Ae. biuncialis ex situ*.

Важливою, на наш погляд, є наявність у дисертації розділу 7 «Узагальнення результатів дослідження», який дозволяє виокремити найважливіші теоретичні та практичні результати дисертаційної роботи. У розділі описано класифікацію ідентифікованих алелів у зв'язку з походженням, розглянуто практичне значення окремих мутацій, зокрема нуль-алелів за проламіновими локусами. Виділено в окрему групу алелі, що походять від широко поширеного у сортів пшениці м'якої алеля *Gli-B1b*, та зроблено припущення про порядок розміщення певних генів у складі алеля *Gli-B1b*.

Розглянуто мутантні секалінові алелі у складі транслокації 1BL.1RS та ідентифікацію нового локусу секалінового *Sec-N* у контексті гомеології проламінових локусів. Обговорено ідентифікацію спільних алелів у тетраплоїдних та гексаплоїдних пшениць та припущення про їх роль в еволюції пшениці.

На основі аналізу частот алелів локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів у *Ae. biuncialis* визначено «базові» алелі (найбільш давні, присутні у генотипів при формуванні середземноморської флори на Кримському півострові) та похідні алелі, що з'явилися у результаті мутацій вже в кримських популяціях. Відмічено значення реєстрації колекції *Ae. biuncialis* в НЦГРРУ на прикладі успішної інтрогресії алеля *Glu-U1* від *Ae. biuncialis* з позитивним ефектом на показник якості.

Водночас, до дисертаційної роботи можна висловити деякі *побажання і зауваження*.

1) Для кращого сприйняття структури роботи і великого масиву отриманих автором експериментальних результатів, на нашу думку, у дисертації добре було б подати схему досліджень і обґрунтувати доцільність проведення кожного етапу роботи.

2) Таблиці 4.15 та 6.6 краще було б навести в розділі 2 «Матеріали і методи»; деякі таблиці варто було перенести в Додатки, що зменшило б обсяг основного тексту дисертації, зокрема таблиці розділу 4: 4.18, 4.19, 4.20, 4.21, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27, 4.28, 4.29, 4.31, 4.32, 4.33; таблиці розділу 5: 5.16; 5.19, 5.24, 5.27, 5.30.

3) У табл. 3.27, 4.16, 4.37, 4.38, 4.44 слід було вказати «середнє \pm стандартна похибка»; дані у табл. 3.4 і 3.5 доцільно було б подати в іншій формі, оскільки назви таблиць більші, ніж обсяг представлених у них результатів.

4) Варто було б уніфікувати написання грецьких позначень груп гліадинів – або в транскрипції (омега-, гамма-, альфа- тощо) або грецькими буквами (ω -, γ -, α - тощо).

5) Посилання на літературу у тексті роботи, на наш погляд, доцільніше було б подати цифрами, що полегшило б сприйняття особливо насиченого посиланнями розділу «Огляд літератури» та дещо скоротило обсяг тексту дисертації.

Однак, зазначені зауваження і побажання не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора біологічних наук.

Даючи оцінку дисертаційної роботи Козуб Н.О. у цілому, слід зазначити, що вона є завершеним науковим дослідженням, яке містить вирішення проблеми комплексного вивчення різноманітності алелів локусів запасних білків пшениці м'якої та культивованих і дикорослих споріднених видів.

Вважаю, що робота «Різноманітність та ефекти кластерів проламінових генів *Triticum aestivum* L. та споріднених видів» за своєю актуальністю, обсягом виконаних досліджень, інтерпретацією отриманих результатів, їхнім теоретичним і практичним значенням, відповідає паспорту спеціальності 03.00.22 – молекулярна генетика, а також вимогам постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. «Порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», що ставляться до докторських дисертацій, а її автор, Козуб Наталія Олександрівна, заслуговує присудження їй наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика.

Офіційний опонент,
доктор біологічних наук, професор,
декан хіміко-біологічного факультету,
завідувач лабораторії екології та біотехнології
Тернопільського національного педагогічного
університету імені Володимира Гнатюка



Н. М. Дробик

Підпис Дробик Н.М.
Засвідчую
Начальник відділу кадрів

Козуб Н.О.