

## **ВІДГУК**

офіційного опонента **Циганкової Вікторії Анатоліївни**

на дисертаційну роботу **Кваско Анни Юріївни «Створення посухостійких**

**ліній пшениці з дріжджовими генами біосинтезу трегалози»,**

подану до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

**Актуальність теми.** На сьогодні надзвичайно актуальним напрямком для успішного розвитку біотехнології є розробка нових та удосконалення існуючих методів для отримання трансгенних рослин з покращеними властивостями, зокрема, підвищеною стійкістю до стресових факторів абіотичного та біотичного характеру.

Пшениця є однією з найбільш економічно важливих зернових культур, яка широко культивується в усьому світі та належить до головних джерел у забезпеченні харчових потреб людства.

Хоча на сьогодні світове виробництво пшениці задовольняє поточний попит на споживання, норма її щорічного вирощування за останні роки знизилась на 0,9%, що викликає занепокоєння, чи вдасться досягти збільшення принаймні до 15% від сьогоднішнього світового виробництва до 2050 року, щоб забезпечити харчові потреби зростаючого населення планети. Внаслідок численних стресових факторів зовнішнього середовища в організмах рослин активуються складні фізіологічні, клітинні та молекулярні механізми, що включають активацію або репресію багатьох генів, які контролюють синтез поживних речовин: білків, цукрів, ліпідів, або вторинних метаболітів, а також будову та структуру клітинних мембран. Оптимальною температурою для росту та розвитку пшениці є +15°C, за якої проходить більше половини всього періоду онтогенезу рослин. За прогнозами вчених, середня добова температура в світі зростатиме на 1,4-3,1°C до кінця XXI століття разом зі скорочення зимових

періодів та збільшенням весняно-літніх. Вплив підвищених температур, повітряної та ґрунтової посухи, які викликають осмотичний стрес, завдають непоправної шкоди врожаю важливої сільськогосподарської культури пшениці. Таким чином, невдовзі перед людством може повстати глобальне питання дефіциту продуктів харчування. Відтак, селекційні заходи, які наразі застосовуються, повинні доповнюватись вдосконаленими методами функціональної геноміки сільськогосподарських рослин, запровадженням ефективних біотехнологічних підходів із застосуванням методів генетичної інженерії для підвищення врожайності рослин та стійкості до стресових факторів з урахуванням специфіки різних генотипів, а також кліматичних умов для вирощування пшениці.

Відомо, що важливу роль у механізмах захисту рослин від стресових факторів виконує трегалоза – це відновлювальний (нередукуючий) дисахарид, що складається з двох молекул глюкози. Завдяки своїй молекулярній структурі (наявності глікозидного зв'язку між двома залишками D-глюкози) трегалоза може зв'язуватись з полярними групами макромолекул, стабілізуючи структуру ліпідних двошарових мембран, заміщуючи молекули води навколо них та підтримуючи цілісність клітин за умов дегідратації, дії високих і низьких температур, а також засолення. Навіть низькі концентрації трегалози мають здатність стабілізувати білки та мембранні структури за стресових умов, що ймовірно обумовлено температурою її кристалізації, високою пластичністю та хімічною стабільністю.

Більшість організмів накопичують трегалозу за умов стресу, синтезуючи її за допомогою двох послідовних реакцій, в яких задіяні трегалозо-6-фосфатсинтаза та трегалозо-6-фосфатфосфатаза. Метаболізм трегалози детально вивчено у дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, у яких внутрішньоклітинний рівень трегалози підтримується завдяки збалансованій дії ферментів її синтезу та гідролізу. Синтез трегалози здійснюється великим ферментним комплексом, що

складається з трегалозо-6-фосфатсинтази, яка кодується геном *TPS1*, та трегалозо-6-фосфатфосфатази, яка кодується геном *TPS2*. Трегалозо-6-фосфатсинтаза каталізує взаємодію глюкозо-6-фосфату з УДФ-глюкозою з утворенням трегалозо-6-фосфату. У свою чергу, трегалозо-6-фосфат перетворюється до трегалози за участю фермента трегалозо-6-фосфатфосфатази. Посилення експресії принаймі одного з цих генів – *TPS1* – сприяє підвищенню внутрішньоклітинної концентрації трегалози та посиленню термотолерантності дріжджів *S. cerevisiae*.

В дисертаційній роботі Кваско А.Ю., наведено приклади біотехнологічних модифікацій шляхів біосинтезу трегалози із використанням генів її біосинтезу. Згідно результатів, описаних у цих роботах, автором зроблено висновок, що суттєве покращення посухостійкості рослин може бути досягнуто шляхом перенесення генів, задіяних у метаболізмі трегалози, як це було запропоновано для підвищення посухостійкості таких видів рослин, як тютюн, картопля, томати, рис та кукурудза. Проте, на сьогодні відсутні дані про експресію дріжджових генів *TPS1* та *TPS2*, що кодують ферменти біосинтезу трегалози, у більшості видів злаків, до яких належить одна з найважливіших сільськогосподарських культур – пшениця.

Отже, дисертаційна робота Кваско А.Ю. «Створення посухостійких ліній пшениц із дріжджовими генами біосинтезу трегалози» має практичну цінність та присвячена вирішенню саме цієї актуальної наукової проблеми.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження було виконано у відділі клітинної біології та біотехнології Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» в рамках проекту «Створення посухостійких ліній рослин за допомогою надекспресії дріжджових генів біосинтезу трегалози» цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Молекулярні

та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства» (номер державної реєстрації – 0115U005022, 2015-2019 рр.).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Дисертаційна робота є оригінальним та завершеним дослідженням. У ньому дисертанткою вперше:

- створено генетичні векторні конструкції з генами біосинтезу трегалози *TPS1* та *TPS2* термофільних дріжджів: pGWB2-*TPS1* та pGWB2-*TPS2* (з генами *TPS1* та *TPS2*, відповідно, під контролем промотору вірусу мозаїки цвітної капусти (P35S), а також pBract214-*TPS1* та pBract214-*TPS2* з генами *TPS1* та *TPS2* під контролем сильного конститутивного промотору убіхвітину кукурудзи (PUBi) для трансформації рослин;

- введено в культуру *in vitro* 6 сортів (Вихованка, Миронівська 67, Щедрість, Журавка Одеська, Кесарія Поліська та Мірхад) пшениці м'якої української селекції та досліджено їх морфогенетичний потенціал;

- за допомогою *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації методами *in vitro* та *in planta* з використанням сконструйованих векторів pBract214-*TPS1* та pBract214-*TPS2* перенесено дріжджові гени *TPS1* та *TPS2* в геном рослин пшениці;

- встановлено, що трансгенні рослини пшениці з генами *TPS1* та *TPS2* характеризуються підвищеною стійкістю до посухи.

**Практичне значення одержаних результатів.** У результаті виконання дисертаційної роботи Кваско А.Ю. було отримано трансгенні лінії рослин пшениці м'якої з підвищеною посухостійкістю, що мають практичну цінність і можуть бути використані у селекційній роботі та подальших наукових дослідженнях. Результати даної роботи вказують на перспективність генетичної трансформації цінних рослинних зернових культур генами трегалози для підвищення їх стійкості до посухи. Матеріали та методи дисертаційної роботи можуть представляти інтерес для науково-дослідних та навчальних робіт біотехнологічного та генно-інженерного напрямків.

**Ступінь обґрунтованості основних наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.** Дисертаційна робота виконана із використанням сучасних методів досліджень: методу Gateway-клонування; методів культур тканин і органів *in vitro*; *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації рослин в умовах *in vitro* та *in planta*; молекулярно-генетичних методів: виділення рослинної тотальної ДНК; полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР); електрофорезу продуктів ампліфікації в агарозному гелі; спектрофотометричному методу кількісного визначення вмісту трегалози; методів статистичної обробки даних. Застосовані методи наукових досліджень відповідають меті та поставленим завданням.

Зроблені автором висновки, що логічно випливають з одержаного фактичного матеріалу, відображають головні досягнення проведеної роботи та перспективи використання отриманих результатів.

Цитовані в дисертації літературні джерела дали змогу обґрунтувати основні положення наукової роботи та методичні підходи для реалізації поставлених завдань.

Результати досліджень дисертанта, основні наукові положення дисертації, її висновки є цілком обґрунтованими, мають значне практичне і теоретичне значення, і відповідають високому науковому рівню роботи.

**Повнота викладу основних наукових положень та висновків у опублікованих наукових працях.** За темою дисертації опубліковано 11 наукових праць, з них 4 статті та 7 тез у профільних наукових виданнях та збірках матеріалів конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертацію викладено на 170 сторінках друкованого тексту. Вона складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, результатів дослідження та їх обговорення, узагальнення, висновків і переліку використаних джерел, що включає 290 найменувань. Дисертація містить 7 таблиці, 29 рисунків, 4 додатки.

**У розділі «Вступ»** детально обґрунтовано актуальність теми, чітко сформульовано мету і завдання дослідження, визначено об'єкт і предмет дослідження, наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, відмічено особистий внесок дисертанта у виконання роботи.

**У першому розділі «Огляді літератури»** наведено аналіз даних щодо будови молекули трегалози, її фізичних, хімічних властивостей та існуючі шляхи біосинтезу в живих організмах. Описано функціональні властивості молекули трегалози як стресопротектора, вплив трегалози та продуктів її біосинтезу (трегалозо-6-фосфату) на ріст та розвиток рослин. Також, проведено аналіз літературних даних щодо модифікацій шляхів біосинтезу трегалози біотехнологічними та генно-інженерними методами в рослинах. Описано особливості роботи з пшеницею, як об'єктом біотехнологічного дослідження для *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in vitro*. Наведена оцінка сучасних методів та підходів до генетичної трансформації пшениці в Україні та світі. Надано дані щодо методів трансформації рослин *in planta* та їх використання для трансформації пшениці, як актуальний, простий та сучасний підхід до генетичної трансформації пшениці.

**У другому розділі «Матеріали і методи досліджень»** наведено умови проведення досліджень і надано характеристику експериментального матеріалу. У дисертаційній роботі використано широкий спектр сучасних біологічних методів досліджень, зокрема методи культури тканин і органів рослин *in vitro*, методи *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації тютюну та незрілих зародків пшениці *in vitro*, метод трансформації пшениці *in planta*, молекулярно-генетичний аналіз відібраних ліній рослин (полімеразна ланцюгова реакція), електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному гелі, аналіз отриманих ліній тютюну на стійкість до осмотичного стресу *in vitro*, морфофізіологічний аналіз отриманих ліній пшениці на стійкість до посухи, спектрофотометричний метод кількісного визначення вмісту трегалози в досліджуваних рослинах пшениці. Ці

матеріали свідчать про вільне володіння дисертантом сучасними біотехнологічними та молекулярно-біологічними методами досліджень.

**Результати досліджень дисертанта** викладено у двох наступних розділах. У **третьому розділі**, який складається з чотирьох підрозділів, представлені результати створення генетичних векторних конструкцій *pGWB2-TPS1* та *pGWB2-TPS2* з дріжджовими генами біосинтезу трегалози *TPS1*, *TPS2* під контролем промотору вірусу мозаїки цвітної капусти (P35S) для використання у *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації рослин тютюну сорту Самсун. Після проведення трансформації було відмічено затримку росту та коренеутворення отриманих рослин на регенераційному середовищі та середовищі для вкорінення в порівнянні з контролем та проведено подальші дослідження з підбору джерел вуглецю у живильних середовищах для вирощування отриманих рослин тютюну.

За трансформації рослин тютюну конструкцією *pGWB2-TPS1*, найвищі показники частоти та ефективності регенерації рослин було зафіксовано на середовищах, що містили сахарозу, мальтозу або глюкозу у концентрації від 25 до 45%. Зокрема, на середовищі з 45 г/л сахарози найвищий показник частоти регенерації рослин тютюну в умовах селективного тиску становив  $88,5 \pm 3,23\%$ , а найбільший показник ефективності регенерації - 4 добре розвинених регенерованих пагонів на одному експланті.

За трансформації рослин конструкцією *pGWB2-TPS2* найвищі показники ефективності та частоти регенерації пагонів в умовах селективного тиску було зафіксовано на 40 добу вирощування на середовищі зі зниженим вмістом цукрів – 5-10 г/л. Найбільший показник частоти регенерації становив  $73,5 \pm 2,34\%$  при вирощуванні на середовищі з глюкозою у концентрації 10 г/л, а найвищий показник ефективності регенерації – 4-5.

За результатами відмічали підвищення відсотку вкорінення рослин тютюну:  $25 \pm 1,98\%$  пагонів при додаванні сахарози або глюкози після трансформації

експлантів конструкцією pGWB2-TPS1 та  $20 \pm 2,78\%$  пагонів за використання pGWB2-TPS2.

Молекулярно-генетичним аналізом було підтверджено перенесення цільових генів біосинтезу трегалози. Інтеграцію генів TPS1 та TPS2 було виявлено у 80% та 95% рослин, трансформованими, відповідно, конструкціями pGWB2-TPS1 та pGWB2-TPS2. Розмір ампліфікованих фрагментів становив 640 п.н. (для гена TPS1) та 758 п.н. (для гена TPS2).

В **четвертому розділі**, який складається з семи підрозділів, надано дані введення в культуру *in vitro* семи сортів пшениці української селекції, проведено оцінку морфогенетичного та регенераційного потенціалу досліджених сортів.

Встановлено, що найвищі показники частоти утворення морфогенного калюсу характерні для сортів Миронівська 67 та Мірхад ( $68 \pm 2,34$  та  $67,8 \pm 1,56$  відповідно). Також для цих сортів була характерна найвища частота регенерації пагонів ( $47 \pm 2,15$  та  $43,9 \pm 0,76$  відповідно). У експлантів сортів Миронівська 67 та Мірхад також спостерігали найвищі показники регенерації рослин у культурі *in vitro*.

Дисертантом проведено *Agrobacterium*-опосередковану трансформацію незрілих зародків семи сортів пшениці введених в культуру *in vitro* з використанням створених генетичних векторних конструкцій pBract 214-TPS1 та pBract 214-TPS2 з дріжджовими генами біосинтезу трегалози TPS1 та TPS2 під контролем сильного конститутивного промотора убіхвітину кукурудзи (PUbi), які було створено для трансформації однодольних, зокрема пшениці.

Частота трансформації рослин пшениці за використання методу *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in vitro* була в середньому на рівні 2,5% за використання конструкції pBract214-TPS1 та приблизно 4% за використання конструкції pBract214-TPS2 для всіх досліджуваних сортів.

Найвищі показники частоти регенерації пагонів пшениці *in vitro* в умовах селективного тиску після трансформації конструкцією pBract214-TPS1 було



зафіксовано для сортів Вихованка та Зимоярка ( $48,9 \pm 0,96$  та  $40 \pm 2,31$ , відповідно), тоді як після трансформації конструкцією pBract214-TPS2 - для сортів Миронівська 67 та Вихованка ( $48 \pm 2,69$  та  $46,7 \pm 1,35$ , відповідно).

Для підтвердження трансгенної природи отриманих ліній пшениці було проведено їх молекулярно-генетичний аналіз. У результаті ПЛР-аналізу з використанням специфічних праймерів до генів *TPS1* та *TPS2* було отримано фрагменти розміром 640 п.н. та 758 п.н., що відповідають позитивному контролю.

Наведено також дані щодо трансформації пшениці п'яти сортів пшениці методом *in planta* з використанням зазначених вище конструкцій, охарактеризовано морфологічні показники отриманих після трансформації колосів та насіння. Морфологічно колоси та насіння були без суттєвих відхилень в розвитку, насіння відрізнялось середньою наповнюваністю. Найвищий відсоток зав'язування насіння було виявлено для сорту Вихованка ( $58\% \pm 1,7$ ).

За допомогою застосування ПЛР аналізу з використанням специфічних праймерів до генів *TPS1* та *TPS2* підтверджено перенесення цільових генів біосинтезу трегалозу до геномів рослин пшениці. За результатами молекулярно-генетичного аналізу, найвищі показники частоти трансформації було зафіксовано для рослин сортів Вихованка, Зимоярка та Кесарія Поліська. Встановлено, що частота трансформації досліджуваних сортів пшениці за використання методу *in planta* була на рівні 2-6,5% (для обох конструкцій).

Проведено аналіз посухостійкості трансгенних рослин пшениці в умовах закритого ґрунту. Встановлено, що отримані трансгенні рослини пшениці, трансформовані генами біосинтезу трегалози *TPS1* та *TPS2*, характеризувались підвищеною стійкістю до посухи. За розвитку рослин в умовах змодельованої посухи показано збереження кількісних показників формування зерна та його нормального розвитку, збільшення довжини колосу, висоти експериментальних рослин в порівнянні з контролем. Встановлено, що середня довжина головного

колосу пшениці сорту Зимоярка становила  $10,38 \pm 0,38^*$  см за умов посухи. Цей показник був на рівні середньої довжини колосів контрольних рослин пшениці того ж сорту як за умов 30% ПВГ, так і за умов 100% поливу. Проте кількість насіння в головному колосі була більшою на  $37\% \pm 0,05$ , а маса зерна з головного колосу більшою на  $23\% \pm 0,05$  порівняно з контролем, який зростав за умов змодельованої посухи (30% ПВГ). Для рослин пшениці сорту Вихованка, що вирощували за умов посухи, показники довжини головного колосу були меншими порівняно з відповідними показниками у контрольних рослин ( $10,6 \pm 0,21$ ), однак кількість зерна з головного колосу була більшою на  $40\% \pm 0,06$ , а маса зерна -  $0,522 \pm 0,53$  г. Встановлено, що відсоток фертильності отриманих ліній рослин був вищим і становив 85%, в той час, як для контрольних рослин характерними були низький показник зав'язування насіння та вищий відсоток стерильності – 40%.

Визначено вміст трегалози в трансгенних рослинах пшениці, вирощених як за умов посухи, так і за нормальних умов, у порівнянні з контрольними рослинами. У трансгенних рослин, для яких було підтверджено інтеграцію генів *TPS1* та *TPS2*, за умов 100% ПВГ вміст трегалози був вищим порівняно з контролем і становив від 0,15-0,17 мг на 1 г сирої маси. Проте під час вирощування за умов 30% ПВГ вміст трегалози збільшувався – від 0,19 до 0,305 мг на 1 г сирої маси.

Проведено також дослідження щодо успадкування цільових генів в наступному поколінні трансгенних рослин. Зокрема, у трансгенної рослини сорту Вихованка, для якої підтверджено інтеграцію в геном гена біосинтезу трегалози *TPS2*, було зібране насіння, пророщено, та проведено перевірку щодо успадкування гена *TPS2* у наступному поколінні. При проведенні ПЛР-аналізу з використанням специфічних праймерів до гена *TPS2* було підтверджено успадкування гена *TPS2* в наступному поколінні пшениці сорту Вихованка.

Таким чином, за результатами проведених досліджень з перенесення дріжджових генів біосинтезу трегалози *TPS1* та *TPS2* методами *in vitro* та *in planta* було створено лінії пшениці, які характеризувались підвищеною посухостійкістю. Також, було показано підвищення концентрації трегалози в тканинах трансформованих ліній рослин як за умов достатнього поливу, так і за модельованої посухи.

Розділ **Аналіз та узагальнення результатів дослідження** викладено на 5 сторінках, зміст розділу вдало та лаконічно підсумовує та узагальнює основні результати, отримані в роботі. Дисертантом наведено дані щодо результатів *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації тютюну. Детально описано результати *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації методами *in vitro* та *in planta*. Висвітлено перспективи використання генів біосинтезу трегалози для отримання ліній рослин пшениці з підвищеною посухостійкістю.

#### **Зауваження до дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення.**

В цілому, матеріал дисертаційної роботи викладено чітко, логічно, з використанням наукової термінології та доцільно проілюстрованими рисунками.

Проте, слід зазначити деякі уточнюючі запитання та побажання до представленої роботи:

1. У першому розділі «Огляд літератури» дисертантом вельми детально описано фактори успішної *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації пшениці *in vitro* та найчастіше застосовані для цього штами *Agrobacterium*, бінарні вектори та промотори. Проте, у представленій дисертаційній роботі, на мій погляд, недостатньо висвітлено та обґрунтовано вибір векторних конструкцій pVact 214-*TPS1* та pVact 214-*TPS2* з дріжджовими генами біосинтезу трегалози *TPS1* та *TPS2* під контролем сильного конститутивного промотора убіхвітину кукурудзи (PUBi).

2. Виникають запитання та побажання методичного характеру до підрозділу «*Agrobacterium*-опосередкована трансформація пшениці методом *in planta*» другого розділу «Матеріали і методи». Доцільно було би детальніше описати як проводили процес кастрування колосів пшениці після зараження агробактерією та за якою методикою? Бажано також додати схему кастрування, оскільки, така методика є вузькоспеціалізованою і механізми зараження та перенесення клітин агробактерії є до кінця незрозумілими. Варто було би детальніше описати, якою методикою користувались та як проводили запилення ізольованих колосів?

3. У підрозділі «*Agrobacterium*-опосередкована трансформація тютюну» розділу «Результати досліджень та їх обговорення» описано підбір селективної концентрації антибіотика гігromіцину та подальшу селекцію на ньому рослин тютюну після *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації. Виникає запитання: чому використовували саме гігromіцин, якщо у векторних конструкціях для трансформації тютюну вбудований ген *nptII* для селекції рослин на канаміцині? Які селективні антибіотики краще підходять для селекції дводольних та які кращі та частіше застосовуються для однодольних рослин?

4. У підрозділі «Введення в культуру *in vitro* сортів пшениці м'якої української селекції» розділу «Результати досліджень та їх обговорення» наведено дані щодо морфогенетичного потенціалу семи досліджуваних в роботі сортів пшениці. Виникає запитання: чому в якості експлантів використовували саме незрілі зародки пшениці?

5. У підрозділі «*Agrobacterium*-опосередкована трансформація пшениці м'якої *in vitro*» розділу «Результати досліджень та їх обговорення» наведено дані щодо показників частоти регенерації пагонів семи сортів пшениці трансформованих *in vitro*. Виникає декілька запитань: як можна пояснити міжсорткову різницю за показниками частоти регенерації пагонів після трансформації конструкціями pBract214-TPS1 та pBract214-TPS2? Чи визначали частоту утворення коренів на середовищі для вкорінення пшениці?

6. Побаження до підрозділу «Аналіз посухостійкості трансгенних рослин пшениці та визначення вмісту трегалози» розділу «Результати досліджень та їх обговорення». Доцільно і вельми важливим напрямком є проведення подальших досліджень щодо визначення вмісту у листках рослин пшениці, вирощених в умовах посухи в закритому ґрунті, важливих біохімічних маркерів стійкості рослин до дефіциту води: вмісту та співвідношення фотосинтетичних пігментів, зокрема, хлорофілів а, б та каротиноїдів, вмісту осмопротектору - вільного проліну, а також активності ферментів антиоксидантного захисту, які як відомо змінюються під впливом стресових факторів абіотичного походження.

7. За результатами проведеної роботи, які мають вагоме теоретичне та практичне значення, доцільно підготувати патенти на корисну модель та винахід.

Проте, представлені вище запитання та побажання не є принциповими і не знижують наукової цінності дисертації та загального позитивного сприйняття отриманих дисертанткою результатів.

**Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до здобувача наукового ступеня кандидата біологічних наук.** Дисертаційна робота Кваско Анни Юріївни «Створення посухостійких ліній пшениці з дріжджовими генами біосинтезу трегалози» виконана на сучасному науковому рівні, характеризується новизною і актуальністю обраної теми, достовірністю і практичним значенням одержаних експериментальних даних, лаконічністю висновків. Результати досліджень, основні наукові положення та зроблені дисертанткою висновки обґрунтовані достатнім об'ємом молекулярно-генетичних та біотехнологічних досліджень. Застосовані методи наукових досліджень відповідають меті та поставленим завданням. Зроблені автором висновки, що логічно випливають з одержаного фактичного матеріалу,

відображають головні досягнення проведеної роботи та перспективи використання отриманих результатів.

Вважаю, що за обсягом, рівнем, актуальністю та науковим значенням виконаних досліджень, їх фундаментальністю і практичним спрямуванням, оформленням фактичним та ілюстративним матеріалом дисертаційна робота Кваско Анни Юріївни «Створення посухостійких ліній пшениці з дріжджовими генами біосинтезу трегалози» є завершеною науковою роботою, що цілком відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20. – біотехнологія.

доктор біол. наук,  
старший науковий співробітник,  
провідний науковий співробітник відділу  
хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ  
Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії  
ім. В.П. Кухаря НАН України,  
лауреат Державної премії України  
в галузі науки і техніки 2018 р.

Циганкова В.А.

