

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертацію ПЛОХОВСЬКОЇ Світлани Григорівни на тему:

«Захисна роль оксиду азоту від впливу низьких температур на організацію актинових філаментів *Arabidopsis thaliana*»,

подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

Актуальність теми дослідження

У зв'язку із непередбачуваними коливаннями температури у результаті зміни клімату актуальності набуває дослідження впливу холоду на рослини, один із основних компонентів трофічних ланок. Відомо, що дія низької температури може призвести до значного ураження, і можливо, і повної загибелі врожаю. Дослідження викопних решток довели, що тривале зниження температури на 4⁰С у певні історичні періоди позначилося на зникненні понад 100 видів рослин. Запобігання такому руйнівному ефекту потребує деталізації механізму впливу низької температури на рослини і пошуку нових підходів у розробці методів усунення даного негативного впливу.

Одним із елементів клітин рослин, який характеризується чутливістю до зміни навколишнього середовища, є цитоскелет (динамічна сітка полімерних білків, яка забезпечує сигнальні процеси у клітині і зміна організації якої впливає на ріст та морфогенез рослин). Функціональна активність елементів цитоскелету широко досліджується, проте, досі залишається актуальним вивчення впливу зовнішніх факторів на його стан. Зокрема, недостатньо уваги приділено безпосередньому впливу низької температури на організацію однієї зі складових цитоскелету – актинових філаментів (мікрофіламентів). Багато питань залишаються відкритими і щодо сигнального механізму сприйняття низької температури, зокрема задіяності у них процесах оксиду азоту як вторинного посередника у реакціях клітинної відповіді. Дослідження цього питання є актуальним і має пріоритетне значення як для розуміння сигнальних процесів у клітині, так і для виявлення можливості регуляції росту і поділу клітин.

Ретельний аналіз та порівняльна характеристика впливу температури 4⁰С та 0,5⁰С на організацію мікрофіламентів цитоскелету різних ростових зон кореня, вперше проведена дисертантом, є значним внеском у розуміння функції цитоскелету у ростових процесах клітин рослин. Встановлена відновлююча дія оксиду азоту на мікрофіламенти розкриває можливості контролю за ростовими процесами і морфогенезом рослин в умовах холоду. Підходи, представлені в дисертаційній роботі та відображені в меті та завданнях дослідження, мають наукову новизну та підкреслюють актуальність досліджуваної проблематики.

Обраний напрям дослідження, як видно зі змісту дисертаційної роботи та автореферату, пов'язаний з тематичними програмами відділу геноміки та молекулярної біотехнології ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» «Дослідження відповіді рослин на дію біотичних та абіотичних чинників на клітинному та генетичному рівнях для покращення їх адаптивних властивостей до несприятливого впливу змін кліматичних умов» (2017-2021 рр., номер держреєстрації 0117U000909) та «Геноміка та клітинна біологія цитоскелету рослин як інструмент для вивчення його структури і функцій та розвитку нових біотехнологій» (2015-2019 рр., номер держреєстрації 0115U002084).

Актуальність теми дисертаційної роботи підтверджується можливістю подальшого використання результатів у дослідженнях клітинних та молекулярних механізмів стійкості рослин до холоду, практичним значенням результатів для розробки біотехнологічних підходів, спрямованих на зменшення негативного впливу холоду, а також важливістю результатів роботи для процесу підготовки фахівців з клітинної біології та біотехнології.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Завдяки чітко визначеним завданням та сформульованій меті, вибору об'єкту та предмету дослідження, а також використаним методам вивчення прижиттєвої організації мікрофіламентів цитоскелету у трансформованих рослинах автору вдалося отримати значний за обсягом оригінальний фактичний матеріал. Вперше детально проаналізована організація мікрофіламентів у ростових зонах коренів *A.thaliana* при дії низьких температур 4⁰С та 0,5⁰С та попередньої обробки донором/скавенджером оксиду азоту та прослідковано динаміку зміни організації актинових мікрофіламентів з часом. Паралельно досліджували зміни ростових параметрів коренів рослин.

Спираючись на здатність низької температури порушувати полімеризацію мікрофіламентів, зроблено висновок про взаємозв'язок зменшення темпів росту кореня із

організацією мікрофіламентів за умов росту при T 4°C та $0,5^{\circ}\text{C}$. Водночас, відмічено, що попередня обробка рослин оксидом азоту, навпаки, призводила до відновлення організації мікрофіламентів та росту коренів. Це припущення підтверджується дослідями із застосуванням скавенджеру оксиду азоту, які довели, що за умов руйнування оксиду азоту ріст кореня не відновлювався. Таким чином, спираючись на дані експериментальної роботи, дисертантом відмічене залучення оксиду азоту у ростові процеси клітин рослин за умов дії холодового фактору.

Слід відмітити ерудицію здобувача при узагальненні та систематизації великого масиву даних щодо впливу різних абіотичних та біотичних факторів на мікрофіламенти різних ростових зон кореня. Достовірність дослідження обґрунтована застосуванням статистичної обробки результатів експериментів, порівняльними таблицями організації мікрофіламентів та її зміни при дії холоду. Результати дослідження є значимими, що підтверджується широким аналізом фундаментальних робіт вітчизняних і зарубіжних вчених з питань впливу холоду на організацію елементів цитоскелету та ростові процеси у коренях вищих рослин.

Наукова новизна результатів дослідження

Автором вперше показаний вплив низької температури (4°C та $0,5^{\circ}\text{C}$) на морфологію клітин ростових зон кореня *A.thaliana* та приріст коренів (Розділ 5). На основі отриманих даних зроблено висновок про негативний вплив низької температури на організацію мікрофіламентів у ростових зонах коренів, що призводить до уповільнення росту кореня у цілому. Вперше визначені найчутливіші та найстійкіші зони кореня до холодового стресу та відмічена різниця між впливом вищої та нижчої температури. (Розділ 6). Проаналізований вплив низької температури та попередньої обробки рослин донором/скавенджером оксиду азоту на організацію мікрофіламентів ростових зон кореня *A.thaliana*. Визначений ступінь такого впливу та складена порівняльна характеристика дії температури 4°C та $0,5^{\circ}\text{C}$ на організацію мікрофіламентів у ростових зонах кореня. Вперше показане відновлення сітки мікрофіламентів у клітинах за умов попередньої обробки рослин оксидом/скавенджером азоту.

За здатністю мікрофіламентів та оксиду азоту регулювати ріст клітин рослин за умов дії різноманітних зовнішніх чинників обґрунтовано висновки про залучення оксиду азоту та мікрофіламентів у сигнальні шляхи реакції-відповіді рослин на дію холоду. Автор припускає, що результатом дії холоду є уповільнення росту та зміна морфології клітин ростових зон коренів і ці процеси регулюються оксидом азоту (Розділ 6).

Отримані новітні дані знайшли своє відображення в 15-ти публікаціях автора, у тому числі 4-ох статтях у наукових фахових виданнях. Основні положення і висновки дисертаційної роботи достатньо широко представлені в опублікованих наукових працях та отримали апробацію на багатьох наукових конференціях.

Практичне значення результатів дослідження

Отримані дані щодо дії низької температури 4⁰С та 0,5⁰С та запобігання її руйнівного впливу за допомогою оксиду азоту можуть застосовуватися для оцінки впливу холодового фактора на кореневу систему та розроблення методик поліпшення холодостійкості рослин. Окрім того, результати досліджень можуть бути використані у навчальному процесі підготовки фахівців з клітинної біології та біотехнології у вищих освітніх навчальних закладах.

Структура дисертації

Дисертаційна робота складається із наступних розділів: Анотація, Вступ, Огляд літератури, Матеріали та методи дослідження, експериментальних розділів (Розділ 5, 6 та 7), Узагальнення результатів дослідження, Висновків та Списку посилань. Зміст автореферату є ідентичним змісту дисертації та відображає основні положення роботи. Робота добре проілюстрована і містить підсумовуючі таблиці, що полегшує її сприйняття.

Дискусійні положення та зауваження до дисертації

Як і будь-яке дослідження науковця, робота не позбавлена окремих недоліків та дискусійних положень:

1. **Огляд літератури** переобтяжений зайвими посиланнями, багато з яких були опубліковані у 90-тих роках минулого та початку нульових років нинішнього сторіччя, що призвело у деяких випадках до цитування застарілих даних. Наведено багато посилань щодо функціонування мікрофіламентів та актин-асоційованих білків у клітинах тварин, що не має безпосереднього відношення до тематики роботи.
2. У **Матеріалах і методах досліджень** (Розділ 4) відсутня схема експериментів. У описі експерименту із комбінованим застосуванням низьких температур та модуляторів вмісту азоту не вказані часові інтервали тривалості обробки рослин. Цю інформацію можна знайти лише на підписах під рисунками.

3. Залишається не повністю поясненим вибір температури 4⁰С та 0,5⁰С та концентрації донору/скавенджера оксиду азоту у експериментальній частині роботи.
4. У **Розділі 7** відмічена лише зміна орієнтації мікрофіламентів при дії холоду та донору/скавенджера оксиду азоту і не відмічений ефект від такої реорієнтації, зокрема, на ріст/морфологію клітини, а також, відмінність/подібність до передніх власних вимірювань. На наш погляд, це призводить до сумнівів щодо доцільності використання програми аналізу мікрофіламентів.
5. Розділ **Узагальнення результатів дослідження** доцільно доповнити приблизною схемою залучення оксиду азоту у сигнальний шлях реакції рослини на холодострес за участю мікрофіламентів.

У цілому ж, у дисертації представлені значимі результати і вона є завершеною науково-дослідною роботою.

Виходячи з вищезазначеного, вважаємо, що представлена дисертаційна робота Плоховської Світлани Григорівни на тему «**Захисна роль азоту від впливу низьких температур на організацію актинових філаментів *Arabidopsis thaliana***» відповідає вимогам МОН України щодо кандидатських дисертацій та паспорту спеціальності 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія.

Офіційний опонент:

старший науковий співробітник
відділу клітинної біології та анатомії
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник

Г. В. Шевченко



Підпис Шевченко Г.В.
Засвідчую
Відділ кадрів