

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Плоховської Світлани Григорівни «Захисна роль оксиду азоту від впливу низьких температур на організацію актинових філаментів *Arabidopsis thaliana*», подану до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія.

Дисертаційна робота Плоховської Світлани Григорівни «Захисна роль оксиду азоту від впливу низьких температур на організацію актинових філаментів *Arabidopsis thaliana*» присвячена вирішенню актуальної наукової проблеми, пов'язаної із встановленням первинних реакцій клітин рослин на дію низькотемпературного стресу. Дисертанткою проведено дослідження закономірностей дії низькотемпературного стресу на структуру актинових філаментів в різних типах клітин кореня *Arabidopsis thaliana*, а також участі NO як вторинного посередника в забезпеченні відповіді рослин на дію цього фактору із залученням мікрофіламентів.

Про важливість та актуальність дисертаційної роботи свідчить і те, що вона виконувалася в рамках бюджетних тем відділу геноміки та молекулярної біотехнології ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України».

Дисертаційна робота написана за класичною схемою. Мета досліджень та завдання дисертаційної роботи тісно пов'язані і поступово розкриті у вступі, основній частині, що містить 3 розділи огляду літератури та 4 розділах експериментальних досліджень, узагальненні та висновках.

Дисертаційна робота викладена на 145 сторінках рукопису, у роботі наведено 5 таблиць, 21 рисунок, список використаних джерел містить 273 посилання.

**У першому розділі** дисертанткою наведено аналіз особливостей організації актинових філаментів та їх динамічні властивості. Вказано, що актинові філаменти або мікрофіламенти являють собою високодинамічну сітчасту цитоплазматичну структуру, задіяні у різних клітинних процесах у еукаріотів. Як відмічає авторка, актинові філаменти складаються з висококонсервативного білка актину, який може існувати в клітині у формі мономера або полімера. Нею розглянуто особливості організації актинових філаментів в ході клітинного циклу та в різних типах клітин рослин. Дисертантка відмічає, що мікротрубочки та актинові філаменти є обов'язковим та універсальним структурним елементом еукаріотичних клітин, відіграють важливу роль у регуляції метаболізму, залучені у процеси росту та морфогенезу клітин та тканин рослин, визначають полярність, диференціацію клітин, впливають на рух органел, підтримання їх форми, внутрішньоклітинний транспорт, процеси екзоцитозу.

**У другому розділі** приведено аналіз стану досліджень механізмів відповіді клітин рослин на холододовий стрес. Дослідження механізмів, що обумовлюють формування адаптивного потенціалу рослинного організму, є надзвичайно актуальною проблемою, зокрема для України, сільське

господарство якої зазнає значних збитків від несприятливих факторів довкілля. Перш за все це низькі температури, що негативно впливають на полімерний склад компонентів цитоскелету, їх орієнтацію, організацію і взаємодію з різними внутрішньоклітинними структурами, пригнічуючи ростові процеси теплолюбних культур в різні періоди їх росту і розвитку.

На коренях деяких рослин було продемонстровано, що найбільш чутливими до низької температури є кортикальні мікротрубочки в перехідній зоні та зоні розтягу кореня, тоді як мікротрубочки в клітинах зони меристеми кореня мають велику стійкість до холоду.

**Третій розділ** присвячено аналізу функціональної ролі оксиду азоту у рослин, його залученню в реакції на стрес у рослин. Показано, що за стресових умов відбувається посилення утворення внутрішньоклітинного оксиду азоту, що викликає серію внутрішньоклітинних змін. Оксид азоту являється біологічно-активною сигнальною молекулою, яка бере участь в регуляції різноманітних фізіологічних процесах у рослин. Відомо, що оксид азоту бере участь у таких процесах рослин, як поділ та диференціація клітин, регуляції цвітіння, запилення та проростання насіння, формування адаптаційної пластичності рослин за дії низки абіотичних стресів.

**Методична частина** повною мірою відповідає поставленим задачам. Високому рівню вірогідності наведених у дисертації результатів та обґрунтованості зроблених висновків безумовно слугує використання спектру сучасних методів досліджень, включаючи флуорисцентну білкову конструкцію GFP-ABD2-GFP та лазерний скануючий конфокальний мікроскоп LSM 5 PASCAL (Carl Zeiss, Німеччина).

**У п'ятому розділі** приведено результати досліджень впливу низьких температур та комбінованої дії екзогенного оксиду азоту та холоду на ріст та морфологію первинних коренів *A. thaliana*. Встановлено, що низька температура призводить до змін в організації мікротрубочок, викликаючи їх повну деполімерізацію. Дисертантка встановила, що одночасно з інгібуючим впливом низьких температур на ріст первинних коренів *A. thaliana* відбувається утворення великої кількості деформованих кореневих волосків в зоні диференціації при низьких позитивних температурах та анізотропне збільшення діаметру епідермальних клітин зони розтягу за дії низьких температур, нею виявлені зміни вихідної організації та орієнтації актинових філаментів у різних типах клітин кореня *A. thaliana*.

Аналіз оригінальних результатів дослідження Плоховської С.Г. щодо впливу низьких температур та комбінованої дії донора та скавенджера оксиду азоту на організацію актинових філаментів у клітинах кореня *A. thaliana* приведено у **шостому розділі**. Дисертанткою встановлено, що обробка холодом вказаних коренів призводить до виражених змін вихідної організації актинових філаментів в клітинах всіх досліджуваних зон головного кореня. Вже через короткий проміжок часу після початку експозиції при температурі +4°C в епідермальних клітинах на рівні меристеми дисертантка спостерігала більш тонку неупорядковану та розріджену мережу мікрофіламентів. Дисертантка стверджує, що клітини

апикальної меристеми виявились досить чутливими до дії цієї температури, оскільки в них також фіксували зміну нативної орієнтації актинових філаментів, в тому числі і їх часткову деполімеризацію. Більш виражений вплив на організацію та орієнтацію актинових філаментів спостерігали при більш тривалій експозиції температури +4°C на корені досліджених рослин. Так, в епідермальних клітинах на рівні меристеми неупорядкована мережа мікрофіламентів ставала ще більш розрідженою і в окремих клітинах спостерігали деполімеризацію даних структур.

Плоховської С.П. вперше провела візуалізацію прижиттєвої організації актинових філаментів під впливом більш низьких температур (+0,5°C). Найбільш чутливими до дії даної температури виявились мікрофіламенти зони розтягу та кореневі волоски, найменш чутливими – актинові філаменти в клітинах епідермісу зони меристеми. Отримані дисертанткою результати дозволили їй висловити припущення, що виявлені порушення орієнтації актинових філаментів є однією з причин зміни морфології і росту коренів в умовах холодного стресу. Результати цих досліджень, на її думку демонструють, що актинові філаменти є потенційною мішенню для впливу холоду в клітинах рослин.

Після комбінованого впливу низьких температур та дослідженого донора оксиду азоту вже через короткий проміжок часу дисертантка спостерігала часткове відновлення сітки актинових філаментів в епідермальних клітинах кореневого апексу, в той час, як в клітинах меристеми комбінований вплив низьких температур температури та оксиду азоту Плоховська С.Г. виявила відновлення сітки актинових філаментів в цих клітинах. Сигнал, індукований дією низьких температур, як свідчать отримані нею результати може передаватися на актинові філаменти за допомогою оксиду азоту, викликаючи зміни їх організації та орієнтації залежно від значення температури.

**У сьомому розділі** приведені результати узагальнення впливу низьких температур та екзогенного оксиду азоту на орієнтацію мікрофіламентів в клітинах кореня *A. thaliana*, проведені за допомогою програмного забезпечення. Дисертанткою за допомогою сучасного програмного забезпечення проведено узагальнення закономірностей орієнтації мікрофіламентів в клітинах з різних зон кореня *A. thaliana*.

Дисертаційна робота є цілісним, завершеним самостійним дослідженням ролі оксиду азоту у реакціях рослин на дію низьких температур. За результатами дисертаційної роботи було опубліковано 15 праць, з них 5 статей та 10 тез доповідей в профільних журналах та збірниках матеріалів конференцій.

Зміст автореферату повністю відображає структуру дисертаційної роботи Плоховської С.Г.

Висновки наведені в роботі є чіткими, достатньо обґрунтованими, вони логічно випливають з експериментальних даних отриманих Світланою Григорівною і повністю відображають їх зміст.

В дисертаційній роботі Світлана Григорівна відмічає: «В основному було помічено, що у рослин, які живуть в місцях з теплим кліматом, проявляються симптоми пошкодження при дії низьких температурах [141, 71]. Наприклад, у таких рослин, як кукурудза, соя, бавовна, томат і банан проявляються перші ознаки пошкоджень вже при впливі температур нижче 10-15°C [141, 85, 92]». Варто було б зазначити, що вказані заключення приведені на підставі аналізу оглядових робіт, а не експериментальних, крім того у книзі, яка цитується під номером 71 не вказано кількість сторінок.

Завершуючи аналіз дисертаційної роботи Плоховської С.П. та високо оцінюючи в цілому дисертаційну роботу змушений констатувати неповний рівень знання дисертанткою результатів дослідження впливу температурних стресів на рослини, проведених за довгі роки в багатьох установах та ВУЗах України.

Однак ці незначні недоліки не знижують загального враження щодо якості роботи.

Підводячи підсумок роботи Плоховської Світлани Григорівни, слід зазначити, що дисертація є актуальним, оригінальним логічно завершеним дослідженням, виконаним на високому методичному рівні і має високу наукову та практичну цінність. Авторка проявила аналітичний склад мислення, вміння критично викласти та коректно інтерпретувати результати власних досліджень. Дисертація написана гарною мовою, акуратно оформлена, добре ілюстрована, отримані результати достовірні та статично оброблені.

На підставі викладеного, вважаю, що дисертаційна робота «Захисна роль оксиду азоту від впливу низьких температур на організацію актинових філаментів *Arabidopsis thaliana*», за актуальністю, обсягом і змістом проведених досліджень, за науковою новизною та практичним значенням одержаних результатів без сумніву відповідає вимогам п.п.11,12,13 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія.

Завідувач відділу молекулярних механізмів  
регуляції метаболізму клітини

Інституту біоорганічної хімії

та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України,

доктор біол. наук, професор

В.С. Кравець

