

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу
Калачової Тетяни Анатоліївни
«Роль фосфатидилінозитол-залежних фосфоліпаз та ліпідкіназ у первинних реакціях клітин рослин на стресові чинники навколошнього середовища та у процесах розвитку»,
поданої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія

Дисертаційна робота Т.А. Калачової присвячена вирішенню актуальної наукової проблеми, пов'язаної із вивченням відповіді рослин на стресові чинники. Зокрема, нею було досліджено процеси ліпідної сигналізації, що ініціюються у клітинах рослин за дії природних фітогормонів та еліситорів, та у первинних реакціях при формуванні стійкості рослин до стресів. Наукова новизна даної роботи полягає в тому, що автором вперше з'ясовано роль фосфоліпаз та діацилгліцеролкіназ у сигнальних каскадах, індукованих фітогормонами саліциловою та абсцизовою кислотами у рослинних клітинах. Вперше виявлено та охарактеризовано групи генів, що спільно регулюються цими фітогормонами за участі фосфоінозитидів, запропоновано механізм такої регуляції. Встановлено роль фосфоліпази D та фосфатидної кислоти в ініціації закриття продихів саліциловою кислотою. Вперше продемонстровано роль ферментів ліпідної сигналізації ФІ-ФЛС та ДГК5 у первинних реакціях рослинних клітин на дію флагеліну та розпізнаванні бактеріальних патогенів. Досліджено роль фосфоінозитидів у морфогенезі кореневої системи рослин *Arabidopsis thaliana*. Зокрема, виявлено взаємозв'язок між рівнем фосфоінозитидів та чутливістю клітин до дії фітогормонів ауксину (ІОК) та цитокініну (БАП). Результати проведених автором досліджень переконливо вказують на участь вторинних посередників ліпідної природи у гормональній регуляції та стрес-сигналізації, на рівні змін експресії генів та метаболізму клітин.

З огляду на практичне значення, проведення робіт в цьому напрямі також є принципово важливим, оскільки отримані автором знання щодо ролі вторинних посередників ліпідної природи в регуляції морфогенезу і відповіді на стрес можуть бути використанні в дослідженнях по фізіології та біотехнології рослин, а також в розробці сучасних технологій сільського господарства.

Одержані результати апробовано здобувачем на багаточисельних вітчизняних та міжнародних наукових зібраннях. За темою дисертації опубліковано 25 наукових праць, з них – 6 статей у фахових виданнях та 19 тез.

Дисертаційна робота виконана в двох наукових установах: в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України та Інституті екології та наук про навколишнє середовище Парижу (Франція), під керівництвом проф. Кравця В.С та проф. Е. Руелланда, відповідно, і тому написана англійською мовою. Робота складається з анотації, поданої українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури (Розділ 1), Розділу 2 «Матеріали і методи», 4-х розділів, присвячених викладенню результатів досліджень та їх обговоренню, з а також висновків та списку літератури. Текст дисертації разом зі списком літератури, рисунками (45) та таблицями (6) представлено на 162 сторінках друкованого тексту.

У вступі дано коротке обґрунтування актуальності проблеми, вирішенню якої присвячена дисертаційна робота, зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами, вказано мету, завдання дослідження, наукову новизну, практичну цінність роботи, основний внесок здобувача, основні положення, які виносяться на захист, та результати апробації роботи.

Розділ 1 «Механізм сигналінгу фосфоліпідів у рослин» огляду літератури являє собою стислий аналіз результатів досліджень, які були

проведені іншими авторами щодо проблем, розглянутих в дисертації. Зокрема, описано про роль фосфатидилінозитол-специфічних фосфоліпаз С, фосфатидилінозитол-4-кіназ, фосфоліпаз D та діацилгліцеролкіназ у функціонуванні сигнальних каскадів та продукції вторинних посередників ліпідної природи у рослин. Представлено дані щодо структури, локалізації, біохімічних властивостей, механізмів регуляції та функціональної ролі фосфатидилінозитол-4-кіназ у опосередкованні внутрішньоклітинної дії фітогормонів на молекулярному рівні.

В Розділі 2 описано матеріали та методи, які автор використовувала під час виконання дисертаційної роботи. Зокрема, коротко наведено перелік ліній та мутантних рослин, що були використані в роботі, описано умови їх культивування, умови обробки різними реагентами (фітогормонами, інгібіторами, еліситором, тощо), методи аналізу фосфоліпідів (радіактивне мічення, тонкошарова хроматографія), аналіз експресії генів за допомогою ПЛР в реальному часі, гістохімічний аналіз, метод визначення ROS, метод визначення руху продихів, морфологічна оцінка росту коренів за різних експериментальних умов, оцінка відкладання калози, транскриптомний аналіз та статистичний аналіз отриманих даних. Використані методи є самими сучасними та цілком адекватними для вирішення поставлених в дисертації завдань.

Результати досліджень та обговорення викладено в наступних чотирьох розділах, які мають назву Розділ 3 «Роль фосфоліпази D та NADPH-оксидази в сигнальному каскаді саліцилової кислоти», Розділ 4 «Регуляція базальної активності фосфатидил-інозитол специфічної фосфоліпази С як ключовий механізм впливу саліцилової та абзизової кислот на транскриптом суспензійної культури клітин», Розділ 4 «Залучення фосфатидилінозитол-залежної фосфоліпази С та діацилгліцеролкінази у відповідь на флагелін у рослинних клітін» та Розділ 6 «Мутації обох типів III фосфатидилінозитол-4-

фосфат $\beta 1$ та $\beta 2$ ізоформ призводять до зміненої відповіді на дію ауксинів і цитокінінів у *Arabidopsis*. У цих розділах послідовно і детально викладено результати кропітких досліджень, проведених здобувачем, а також професійне і повне обговорення отриманих даних з тими, що існують несьогоднішній день, посилаючись на відповідні літературні джерела пов'язані з тематикою дисертації. Слід зазначити, що в кінці кожного розділу експериментальної частини дисертації автор проводить аналіз та узагальнення власних результатів досліджень.

Висновки, наведені автором, є чіткими, достатньо обґрунтованими, вони логічно випливають з експериментальних даних, які отримано дисертантом і повністю відображають їх зміст.

З отриманих результатів видно, що автором проведено дуже великий та кропіткий об'єм експериментальної роботи, застосовано велику кількість різноманітних найсучасніших методів досліджень та використано достатньо велику кількість клітинних ліній та мутантів.

Підводячи загальний підсумок роботи Т.А. Калачової, слід зазначити, що дисертація є логічно завершеним дослідженням, виконаним на високому сучасному методичному рівні, і має високу наукову та практичну цінність. Автор характеризується аналітичним складом мислення, вміє критично викласти та коректно інтерпретувати результати власних досліджень. Дисертація написана доброю мовою, акуратно оформлена (зокрема, гарно ілюстрована), отримані результати достовірні та статистично оброблені.

В той же час необхідно відзначити незначні недоліки в оформлені дисертації та автoreферату. В дисертації на Рис. 3.3 (1), 5.5, 5.6, 6.1 (A), 6.2.(A), де наведено знімки, отримані за допомогою світлової та лазерної скануючої мікроскопії, необхідно вказувати масштаб (англійською Bar = ...). В автoreфераті дисертації зустрічаються поодинокі граматичні та

орфографічні помилки, вказано, що кількість сторінок друкованого тексту дисертації – 145, хоча найсправді – 162.

Однак ці незначні недоліки не знижують загального враження про роботу і дисертація в цілому є актуальним, цікавим та закінченим дослідженням, повністю відповідає вимогам МОН України щодо кандидатських дисертацій, а її автор – Калачова Тетяна Анатоліївна безумовно заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Завідувач відділу клітинної
біології та біотехнології
ДУ «Інститут харчової біотехнології
та геноміки НАН України»,
доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НАН України

А.І. Ємець

