**ВІДГУК**

офіційного опонента, доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника відділу клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки

ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України

Галини Валеріївни ШЕВЧЕНКО

на дисертаційну роботу Руслани Юріївни ШАДРІНОЇ «Роль аутофагії у відповіді *Arabidopsis thaliana* на вплив мікрогравітації та участь мікротрубочок в опосередкуванні цього процесу», представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю

091 «Біологія»

**Актуальність теми дисертації та її зв’язок з напрямами науково-дослідних робіт.** У зв'язку із розвитком космічних досліджень і плануванням довготривалих пілотованих польотів постає завдання дослідити метаболічні процеси рослин в умовах мікрогравітації. Одним із таких процесів є аутофагія, яка забезпечує рециркуляцію макромолекул і сприяє підтриманню життєздатності клітин. Окрім того, не досить багато відомо про механізми аутофагії у рослин і положення про деякі з них є дискусійними. Дослідження аутофагії у *A. thaliana* в умовах симульованої мікрогравітації зумовлює актуальність роботи Шадріної Р.Ю і також розширює підходи до вивчення цього питання. Автор робить наголос на участі мікротрубочок в опосередкуванні аутофагії при кліностатуванні, оскільки цитоскелет є тим клітинним компонентом, який зазнає безпосереднього впливу зміненої сили тяжіння. Вивчення аутофагії, як процесу забезпечення адаптації рослин до зміни зовнішніх чинників, зокрема, симульованої мікрогравітації, формує інноваційну складову даного дослідження. Дисертаційну роботу виконано у рамках бюджетної тематики відділу клітинної біології та біотехнології «Дослідження відповіді рослин на дію абіотичних та біотичних чинників на клітинному та генетичному рівнях для покращення їх адаптивних властивостей до несприятливого впливу змін кліматичних умов» (2017–2021 рр., номер ДР 0117U000909) та проєкту «Розробка концепції регуляції розвитку та стресостійкості рослин для їх адаптації до умов космічних польотів шляхом залучення клітинно-біологічних ресурсів» цільової комплексної програми НАН України з наукових космічних досліджень (2018–2022 рр., номер ДР 01118U003742).

**Обґрунтованість та достовірність наукових положень та висновків.** Дисертаційна робота Шадріної Р.Ю. є цілісним науковим дослідженням. Здобувачем виконано ґрунтовний об’єм експериментальної роботи із залученням методів клітинної та молекулярної біології. Проаналізовано ростові параметри коренів *A. thaliana* тадосліджено зміну вмісту оксиду азоту у коренях, візуалізовано аутофагосоми та просторову локалізацію мікротрубочок у зоні розтягу коренів, проаналізовано експресію генів, задіяних у регуляцію організації цитоскелету (*TUA, TUB*) та аутофагосом (родина *ATG8*) при кліностатуванні. Це стало основою для визначення особливостей протікання аутофагії на 6-ту, 9-ту та 12-ту добу росту кліностатованих рослин та висновків про залучення мікротрубочок до цього процесу. Достовірність представлених результатів підтверджено двадцятьма сімома рисунками а також теоретичними узагальненнями на основі експериментальних досліджень. Аналіз власних результатів доповнений теоретичною основою, що відображає цитування 236 наукових джерел.

**Новизна наукових положень та висновків.** Серед наукових результатів, які вперше представлені в ході дисертаційного дослідження слід відмітити демонстрацію рівнів експресії генів β-тубуліну під час розвитку аутофагії в умовах кліностатування, підвищення експресії деяких ізотипів *atg8* у рослин *A. thaliana* на різних часових інтервалах в умовах симульованої мікрогравітації, участь мікротрубочок у реалізації процесів аутофагії через забезпечення трафіку аутофагосом. Під час дослідження визначено, що оксид азоту (NO) підвищує стійкість рослин на умови симульованої мікрогравітації. Також вперше виявлено зв'язок між експресією генів родини *ATG8* та тубулінів, що відкриває нові можливості для розуміння клітинних механізмів адаптації рослин до стресових умов.

**Висвітлення результатів у наукових публікаціях.** За результатами дисертаційної роботи Шадріної Руслани Юріївни опубліковано 4 статті, 3 з яких у фахових виданнях, що включені до наукометричних баз даних Scopus та Web of Science а також 8 тез, представлених на конференціях. Публікації вичерпно відображають основні отримані результати, відмічають їхню новизну та вказують на наукову значущість.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати дослідження, представленого у дисертаційній роботі Шадріної Р.Ю., зокрема ті, що підтверджують функціональну роль генів α- та β-тубуліну у розвитку аутофагії, формують основу для глибинного вивчення клітинних механізмів залучення різних ізотипів білка ATG8 та їхньої взаємодії з клітинними компонентами під час розвитку аутофагії за умов кліностатування. Також використання ефективних донорів та скавенджерів NO надає можливість регулювати роль NO в опосередкуванні відповіді на симульовану мікрогравітацію а отримані результати складають підґрунтя для розробки підходів сприяння адаптації рослин до умов космічного польоту. Результати представленої роботи можуть стати основою для подальших досліджень і розробок, націлених на удосконалення умов вирощування рослин в умовах реальної мікрогравітації.

**Структура та обсяг дисертації, стиль викладу та оформлення, відповідність зазначеній спеціальності.** Представлена робота складається зі вступу, огляду літератури (три розділи), опису матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень (три розділи), висновків, списку використаних джерел і додатку. Обсяг основного тексту дисертації відповідає вимогам та складає 148 стандартних сторінок.

Слід відмітити, що викладення матеріалу у тексті дисертаційної роботи логічне і зрозуміле, експериментальні дані добре проілюстровані. Дисертаційна робота відповідає спеціальності 091 – «Біологія».

**Запитання та зауваження.** При ознайомлені із представленою роботою виникають наступні питання:

1. Якими чином може відбуватися зв'язок між білками мембрани аутофагосом та мікротрубочками? Які напрями досліджень з цього питання Ви вважаєте перспективними?
2. Чим зумовлений вибір обчислення результатів ПЛР методомln(2-ΔΔCt) ?
3. Який тип кліностатування (1D чи 2D) застосовували для експериментальної роботи?

**Зауваження**

1. Частину огляду літератури присвячено питанням, які не висвітлювалися у експериментальній частині даної роботи, зокрема, у окремі підпункти виділено питання участі мікрофіламентів у процесах автофагії і розвиток аутофагії при біотичному стресі. Про ці питання можна скорочено згадати у обговоренні результатів.
2. Перехідна зона є дистальною частиною зони розтягу кореня, тому при згадуванні цих зон у тексті, зазвичай, перехідну зону ставлять на перше місце і вказують «перехідна зона і зона розтягу» а не навпаки.
3. У результатах роботи відсутні числові параметри вимірів та опис статистичних методів (зокрема двофакторного аналізу вибірок), що погіршує сприйняття результатів роботи.
4. Досить вільно вживається термін «мікрогравітація» і з тексту випливає, що цей термін тотожний терміну «кліностатування».

**Загальний висновок і оцінка дисертації щодо її відповідності чинним вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії.** Дисертаційна робота Шадріної Руслани Юріївни на тему «Роль аутофагії у відповіді *Arabidopsis thaliana* на вплив мікрогравітації та участь мікротрубочок в опосередкуванні цього процесу» є завершеним науковим дослідженням, виконаним на актуальну тему.

Зв’язок об’єктів, предмету, мети, завдань, методів і отримані наукові результати дозволили обґрунтувати теоретичні положення про роль аутофагії у пристосувальних реакціях рослин до зміненої сили тяжіння а також відзначити роль мікротрубочок цитоскелету у цих процесах.

За своєю актуальністю, новизною, науковими результатами і їхнім представленням у наукових виданнях а також оформленням, дисертаційна робота відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 із змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ №341 від 21.03.2022, №502 від 19.05.2023 та №507 від 03.05.2024, а її автор, Руслана Юріївна Шадріна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 – «Біологія» (галузь знань – 09 «Біологія»).

|  |  |
| --- | --- |
| **Офіційний опонент**:  Доктор біологічних наук,  старший науковий співробітник  відділу клітинної біології та анатомії  Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного  Національної академії наук України | Галина ШЕВЧЕНКО |