

«ЗАТВЕРДЖУЮ»:

Директор Інституту ботаніки
ім. М.Г. Холодного НАН України
чл.-кор. НАН України С.Л. Мосякін



«21» жовтня 2021 р.

ВИТЯГ

з протоколу № 10

розширеного засідання відділу фітогормонології
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
від 13 жовтня 2021 р.

Присутні: д.б.н., професор Косаківська І.В., д.б.н. Веденичова Н.П., д.б.н. Козеко Л.Є., д.б.н., професор Карпець Ю.В., д.б.н., професор Колупаєв Ю.Є., к.б.н. Бабенко Л.М., к.б.н. Васюк В.А., к.б.н. Романенко К.О., к.б.н. Шевченко Г.В., Кокорев О.І.

Слухали: доповідь асистента кафедри ботаніки і фізіології рослин Державного біотехнологічного університету Кокорева О.І. «Стрес-протекторний вплив поліамінів на рослини та його функціональний зв'язок з сигнальними посередниками» – апробація дисертаційної роботи на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія.

Тема дисертації «Стрес-протекторний вплив поліамінів на рослини та його функціональний зв'язок з сигнальними посередниками» затверджена за засіданні вченої ради факультету захисту рослин Харківського національного аграрного університету ім. В.В. Докучаєва 29 жовтня 2019 р. (протокол № 3).

УХВАЛИЛИ:

1. Затвердити висновок про наукову новизну, теоретичне і практичне значення результатів дисертаційної роботи Кокорева Олександра Ігоревича «Стрес-протекторний вплив поліамінів на рослини та його функціональний зв'язок з сигнальними посередниками».

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне і практичне значення результатів дисертаційної роботи

асистента кафедри ботаніки і фізіології Державного біотехнологічного
університету Кокорева Олександра Ігоревича

«Стрес-протекторний вплив поліамінів на рослини та його функціональний
зв'язок з сигнальними посередниками», поданої на здобуття наукового
ступеня доктора філософії з галузі знань Біологія за спеціальністю 091 –
Біологія

1. Актуальність теми. Реакції рослин у відповідь на дію несприятливих чинників включають в себе запуск універсальних захисних систем, до яких належать, зокрема, синтез стресових білків, активація антиоксидантної системи і накопичення поліфункціональних низькомолекулярних сполук, у тому числі, поліамінів.

Поліаміни являють собою аліфатичні аміни, що мають регулярне просторове розташування позитивних зарядів в молекулі. Останніми десятиліттями активно досліджуються механізми участі поліамінів в адаптації рослин до стресових чинників. Частково їх протекторні ефекти пояснюють стабілізуючою дією на білки, нуклеїнові кислоти і мембранні структури. Однак в цілому спектр біологічних ефектів поліамінів значно ширший. Зокрема, отримано дані про їх участь в клітинному сигналінгу у рослин, що може бути зумовлено утворенням активних форм кисню (АФК) і оксиду азоту при метаболізмі поліамінів, а також їх впливом на стан іонних каналів. Крім того, є дані про вплив поліамінів на експресію генів і активність антиоксидантних ферментів та вміст низькомолекулярних антиоксидантів.

Проте в цілому наявні відомості не дозволяють скласти загальну картину залучення поліамінів в процеси клітинного сигналінгу, зокрема, відкритим є питання про послідовність розташування посередників у сигнальних ланцюгах, що активуються при підвищенні в клітинах вмісту поліамінів. В літературі є повідомлення про підвищення ендogenous вмісту поліамінів у рослин у відповідь на дію стресорів та протекторний вплив екзогенних поліамінів за несприятливих умов. Однак конкретні захисні реакції, що активуються під впливом поліамінів, досліджені далеко не повністю.

Ще одним механізмом стрес-протекторної дії поліамінів на рослини за умов зневоднення може бути їх вплив на стан проростків. Проте дотепер багато в чому відкритим залишається питання участі сигнальних посередників, зокрема, різних пулів кальцію у реалізації впливу поліамінів на стан проростків. Слабо вивчене і значення у такому процесі продуктів реакцій, які каталізуються фосфоліпазами С і D.

Отже, загальні уявлення про механізми стрес-протекторної дії на рослини поліамінів та про зв'язок між їх залученням у процесі клітинного сигналіngu і розвитком конкретних захисних реакцій дотепер повністю не сформувалися. Водночас такі знання актуальні для керування стійкістю рослин як за допомогою дії екзогенних фізіологічно активних речовин, так і шляхом трансформації цільових генів. Таким чином, дисертаційна робота О.І. Кокорева, спрямована на з'ясування ролі ключових сигнальних посередників, зокрема, АФК, оксиду азоту, сірководню та іонів кальцію у реалізації стрес-протекторної дії ді- і тетраамінів на рослини за гіпертермії та зневоднення, актуальна як для поглиблення фундаментальних знань в галузі адаптації рослин і клітинного сигналіngu, так і для подальшої розробки нових практичних прийомів з підвищення стійкості рослин до стресорів.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконувалося в рамках науково-дослідних тем кафедри ботаніки і фізіології рослин Харківського національного аграрного університету ім. В.В.Докучаєва – «Роль сигнальних посередників і сполук з гормональною активністю у формуванні адаптивних реакцій рослин на абіотичні стресори» (№ держреєстрації 0117U002427; Згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 198 від 10.02.2017) та «Механізми індукування компонентів стрес-протекторної системи рослин» (2016-2020 рр.) (№ держреєстрації 0117U002514), а також гранту за програмою «Grants for Multidisciplinary research teams 2020 of Ministry of Foreign Affairs of the Czech Republic. Direction curator – Czech University of Life Science, Prague» (проєкту Czech Republic Development Cooperation «Платформа AgriSciences для розвитку науки у вищих навчальних закладах України»).

3. Наукова новизна одержаних результатів. Вперше на одному модельному об'єкті (інтактних коренях етіологованих проростків пшениці) проведено комплексне дослідження участі основних компонентів сигнальної мережі рослинних клітин (АФК, оксиду азоту, сірководню, іонів кальцію) у реалізації стрес-протекторної дії поліамінів.

Вперше встановлено, що індукування теплостійкості рослин і ферментативної антиоксидантної системи дією екзогенного путресцину включає в себе підвищення вмісту цитозольного кальцію в клітинах, зростання активності діаміноксидази і пов'язане з ним зростання кількості оксиду азоту і пероксиду водню, які виконують роль сигнальних посередників.

Показано, що у розвитку теплостійкості проростків пшениці за дії путресцину бере участь сірководень, вміст якого в тканинах зростає у присутності цього діаміну. Ефект активації путресцином антиоксидантних ферментів усувається дією антагоністів сірководню. Водночас комбінований вплив на проростки путресцину і донора сірководню NaHS у певному діапазоні концентрацій спричиняє посилення впливу цих агентів на антиоксидантну систему і теплостійкість.

Встановлено як схожість, так і відмінність механізмів впливу двох діамінів – путресцину і маловивченого кадаверину – на ферментативну антиоксидантну систему проростків пшениці, зокрема, здатність кадаверину спричиняти підвищення активності СОД без участі АФК як сигнальних посередників.

Вперше показано значення надходження кальцію в цитозоль з внутрішньоклітинних компартментів та участь сигнальних інтермедіатів, що утворюються за участю фосфоліпаз *C* і *D*, в реалізації продигових ефектів поліамінів.

4. Теоретичне та практичне значення одержаних результатів.

Дисертаційне дослідження поглиблює уявлення про механізми стрес-протекторної дії поліамінів на рослини, пов'язані з їх залученням в процеси клітинного сигналіngu. Це створює підґрунтя для включення поліамінів в групу практично значимих фізіологічно активних речовин зі стрес-протекторними ефектами.

Встановлений у ґрунтовій культурі за умов посухи, наближених до природних, стрес-протекторний вплив фоліарної обробки путресцином і сперміном на інтактні зелені рослини пшениці дозволяє розглядати цей прийом як перспективний для підвищення посухостійкості рослин у польових умовах.

Результати роботи використовуються при викладанні курсів «Фізіологія рослин» та «Фізіологія рослин з основами біохімії» при підготовці бакалаврів та курсу «Фізіологія стресу і адаптації рослин» при

підготовці магістрів в ХНАУ ім. В.В. Докучаєва, а також курсу «Внутрішньоклітинні сигнальні системи та механізми адаптивності рослин і мікроорганізмів», що читається в ХНУ ім. В.Н. Каразіна. Вони можуть бути використані при вивченні відповідних дисциплін студентами інших класичних, аграрних і педагогічних ЗВО, а також при проведенні досліджень у галузі клітинного сигналіngu і фізіології стійкості рослин.

При виконанні роботи біотичні норми не бути порушені.

5. Використання результатів роботи. Результати дисертаційної роботи використовувалися у ХНАУ ім. В.В. Докучаєва при проведенні досліджень у галузі фізіології стійкості рослин. Також результати досліджень знаходили використання при викладанні загальних і спеціальних курсів з фізіології і біохімії рослин в ХНАУ ім. В.В. Докучаєва і ХНУ ім. В.Н. Каразіна, нині використовуються у навчальному процесі на кафедрі ботаніки і фізіології рослин у Державному біотехнологічному університеті.

6. Особистий внесок здобувача. Дисертант самостійно опрацював джерела літератури, опанував відповідні методи досліджень та провів необхідні експерименти. Інтерпретація та узагальнення результатів і підготовка публікацій здійснювалися за участю наукового керівника. Частина експериментів проведена спільно зі співробітниками ХНАУ ім. В.В. Докучаєва д.б.н. Ю.В. Карпцем, к.б.н. Т.О. Ястреб, к.б.н. Г.А. Луговою, к.с.-г.н. М.В. Швиденком, М.А. Шклярєвським. Експерименти з вивчення механізмів впливу поліамінів на стан проростків проводилися спільно з чл.-кор. НАН України О.П. Дмитрієвим (Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України). Частка особистої участі здобувача становить понад 70%.

Розглянувши звіт подібності щодо перевірки на плагіат, рецензенти дійшли висновку, що дисертаційна робота Кокорева О.І. є результатом самостійних досліджень і не містить елементів плагіату та запозичень. Використані результати та ідеї інших авторів мають відповідні посилання.

7. Повнота викладення матеріалів дисертації у роботах, опублікованих автором, із зазначенням особистого внеску здобувача. За темою дисертації опубліковано 17 наукових праць, у тому числі 10 статей у фахових виданнях, з них 2 у журналах, що входять до наукометричної бази

SCOPUS. Матеріали, опубліковані у співавторстві, мають пропорційний внесок здобувача. Права співавторів не порушено.

**Статті у наукових виданнях, що індексовані
у наукометричній базі даних Scopus:**

1. **Kokorev, A. I.**, Kolupaev, Y. E., Yastreb, T. O., Horielova, E. I., Dmitriev, A. P. (2021). Realization of Polyamines' Effect on the State of Pea Stomata with the Involvement of Calcium and Components of Lipid Signaling. *Cytology and Genetics*, 55(2), 117–124. doi: 10.3103/S0095452721020079 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка результатів)

2. Kolupaev, Y. E., **Kokorev, A. I.**, Yastreb, T. O., Horielova, E. I. (2019). Hydrogen peroxide as a signal mediator at inducing heat resistance in wheat seedlings by putrescine. *Ukrainian Biochemical Journal*, 91(6), 103–111. doi: 10.15407/ubj91.06.103 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробці результатів, підготовці тексту статті)

Статті у наукових фахових виданнях України:

3. **Кокорев О. І.** (2021). АФК-залежний стрес-протекторний вплив діамінів на проростки пшениці за умов гіпертермії. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 2(53), 53–60. doi: 10.35550/vbio2021.02.053 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

4. **Кокорев, О. І.**, Колупаєв, Ю. Є., Карпець, Ю. В., Дяченко, А. І. (2020). Участь оксиду азоту в індукуванні теплостійкості проростків пшениці путресцином. *Доповіді Національної академії наук України*, 12, 85–92. doi: 10.15407/dopovid2020.12.085 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

5. **Кокорев, О. І.**, Шклярєвський, М. А., Швиденко, М. В., Колупаєв, Ю. Є. (2020). Стрес-протекторний вплив путресцину і сперміну на рослини пшениці за ґрунтової посухи. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 3(51), 58–70. doi: 10.35550/vbio2020.03.058 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

6. **Кокорев, А. И.**, Шклярєвський, М. А., Швиденко, Н. В., Колупаєв, Ю. Е. (2020). Возможная роль сероводорода в индуцировании путресцином активности антиоксидантных ферментов и теплоустойчивости проростков пшеницы. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 1(49), 44–53. doi: 10.35550/vbio2020.01.044 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

7. **Кокорев, А. И.,** Колупаев, Ю. Е., Ястреб, Т. О., Горелова, Е. И. (2019). Влияние экзогенных полиаминов на состояние антиоксидантной и осмопротекторной систем проростков пшеницы при обезвоживании. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 3(48), 52–65. doi: 10.35550/vbio2019.03.052 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

8. **Кокорев, А. И.,** Швиденко, Н. В., Ястреб, Т. О., Колупаев, Ю. Е. (2018). Индуцирование экзогенными полиаминами теплоустойчивости проростков пшеницы и активности антиоксидантных ферментов. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 3(45), 85–93. doi: 10.35550/vbio2018.03.085 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

9. Колупаев, Ю. Е., **Кокорев, А. И.** (2019). Участие полиаминов в регуляции редокс-гомеостаза у растений. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, 1(46), 6–22. doi: 10.35550/vbio2019.01.006 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

10. Колупаев, Ю. Е., **Кокорев, О. І.** (2019). Антиоксидантная система и устойчивость растений к недостатку влаги. *Физиология растений и генетика*, 51(1), 28–54. doi: 10.15407/frg2019.01.028 (Особистий внесок дисертанта: участь у проведенні експериментів, обробка та інтерпретація результатів, участь у підготовці тексту статті)

Матеріали конференцій:

11. **Кокорев, А. И.,** Ястреб, Т. О., Швиденко, Н. В., Горелова, Е. И., Колупаев, Ю. Е. (2018). Влияние экзогенных полиаминов на активность антиоксидантных ферментов в проростках пшеницы и их теплоустойчивость. *Регуляция роста, развития и продуктивности растений. Материалы IX Международной научной конференции (Минск, Беларусь, 24–26 июня 2018 г.)* (С. 66). Минск: Колоград.

12. **Kokorev, O. I.,** Kolupaev, Yu. E., Karpets, Yu. V., Ivanchenko, O. E. (2020). Induction of wheat plants resistance to soil drought by exogenous polyamines. *Сучасні проблеми генетики, біотехнології і біохімії сільськогосподарських рослин. Тези доповідей Міжнародної наукової конференції (Одеса, Україна, 21 жовтня 2020 р.)* (С. 94–95). Одеса: СГІ-НЦНС.

13. **Кокорев, О. І.,** Швиденко, М. В., Колупаев, Ю. Е. (2021). АФК-залежне індукування теплостійкості проростків пшениці дією кадаверину. *Актуальні проблеми фізіології рослин і генетики. Тези доповідей Міжнародної наукової конференції (Київ, 17 липня 2021 р.)* (С. 170–172). Київ: ІФРГ.

14. **Kokorev, A. I.**, Kolupaev, Yu. E., Diachenko, A. I., Dmitriev, A. P. (2021). Signal mediators in implementation of putrescine influence on state of *pisum sativum stomata*. *Plants stress and adaptation. Proceedings of the International scientific conference (Kharkiv, Ukraine, February 25-26, 2021)* (pp. 10–11). Kharkiv: KhNAU.

15. **Kokorev, A. I.**, Kolupaev, Yu. E., Karpets, Yu. V., Lugovaya, A. A. (2021). Participation of reactive oxygen species and nitric oxide in heat resistance induction in wheat seedlings by exogenous putrescine. *Plants stress and adaptation. Proceedings of the International scientific conference (Kharkiv, Ukraine, February 25-26, 2021)* (pp. 12–13). Kharkiv: KhNAU.

16. **Кокорев, О. І.**, Швиденко, М. В., Лугова, Г. А., Колупаєв, Ю. Є. (2021). Індукування ферментативної антиоксидантної системи проростків пшениці та їх теплостійкості екзогенним кадаверином. *Стрес і адаптація рослин. Тези міжнародної наукової конференції (Харків, Україна, 25-26 лютого 2021 р.)* (с. 245). Харків: ХНАУ.

17. Колупаєв, Ю. Є., **Кокорев, О. І.**, Ястреб, Т. О., Горелова, О. І. (2019). Участь активних форм кисню в індукуванні стійкості проростків пшениці поліамінами. *Медична та клінічна хімія. Матеріали XII Українського Біохімічного конгресу (Тернопіль, 30 вересня – 04 жовтня 2019 р.)* (С. 309). Тернопіль: ТНМУ.

8. Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень.

Наукові положення дисертації добре обґрунтовані. Матеріали, що складають основу виконаної роботи, за обсягом отриманих експериментальних даних, методичним рівнем досліджень, теоретичними узагальненнями, що впливають з їх аналізу та обговорення, забезпечують високий рівень їх обґрунтованості і достовірності, підтверджують зроблені автором висновки.

9. Відповідність змісту дисертації спеціальності, за якою вона подається до захисту.

Дисертаційна робота Кокорева О.І. «Стрес-протекторний вплив поліамінів на рослини та його функціональний зв'язок з сигнальними посередниками» повністю відповідає спеціальності 091 – Біологія, оскільки у ній одержано нові наукові і практично цінні результати, що належать до сучасних напрямів фізіології і біохімії рослин.

2. Констатувати, що дисертаційна робота Кокорева О.І. «Стрес-протекторний вплив поліамінів на рослини та його функціональний зв'язок з сигнальними посередниками», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, за актуальністю, ступенем новизни, обґрунтованістю, наукової і

практичною цінністю одержаних результатів, змістом та оформленням відповідає вимогам пп. 9, 10, 11 «Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 р., № 167, та відповідає напряму наукового дослідження зі спеціальності 091 – Біологія.

3. Рекомендувати дисертацію робота Кокорева О.І. «Стрес-протекторний вплив поліамінів на рослини та його функціональний зв'язок з сигнальними посередниками» до захисту на здобуття ступеня доктора філософії у разовій спеціалізованій вченій раді за спеціальністю 091 – Біологія.

Рецензенти:

пров. наук. співробітник
відділу фітогормонології
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного
НАН України докт. біол. наук



Н.П. Веденичова

ст. наук. співробітник
відділу фітогормонології
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного
НАН України канд. біол. наук

К.О. Романенко



Головуюча на засіданні
Завідувач відділу фітогормонології
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного
НАН України докт. біол. наук, професор



І.В. Косаківська