ВІДГУК

офіційного опонента Стасика Олега Остаповича
на дисертаційну роботу **ШАХОВА ІВАНА ВАЛЕРІЙОВИЧА «Механізми стрес-протекторної дії γ-аміномасляної кислоти на зернові злаки»**, представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія»

Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Глобальна продовольча проблема в сучасних умовах значно загострюється внаслідок кліматичних змін. Підвищення середньорічної температури повітря, збільшення частоти та тривалості посух і температурних екстремумів, нерівномірний розподіл опадів, деградація земель і засолення ґрунтів негативно впливають на продуктивність сільськогосподарських культур (IPCC, 2021). Висока температура і дефіцит вологи порушують перебіг фізіолого-біохімічних процесів у рослинах, знижують ефективність фотосинтезу та репродуктивну здатність, і кінцевому результаті, формування врожаю (Sato et al., 2024). Серйозною проблемою є засолення ґрунтів, площі яких постійно зростають через зміни клімату, нераціональне зрошення та підвищене випаровування води. За оцінками міжнародних організацій, значна частина орних земель світу вже зазнає впливу посухи та засолення, а в найближчі десятиліття масштаби цих процесів можуть суттєво зрости (FAOSTAT, 2025). Тому одним із пріоритетних завдань сучасної науки є пошук ефективних шляхів підвищення стійкості рослин до абіотичних стресів. Використання фізіологічно активних речовин – індукторів стійкості — є одним із перспективних напрямів підвищення продуктивності агроценозів в умовах несприятливих змін клімату.

Крім класичних фітогормонів та їх аналогів останнім часом значну увагу привертають мультифункціональні сполуки – метаболіти, що виконують сигнальні і регуляторні функції, а також виявляють широкий спектр фізіологічної активності, включно з безпосередньою стрес-протекторною дією. Однією із таких сполук є γ-аміномасляна кислота (ГАМК), яка бере участь у стресових реакціях у різних біологічних системах, включаючи прокаріоти, одноклітинні еукаріоти та вищі рослини. Водночас механізми реалізації стрес-протекторної дії ГАМК в рослин залишаються недостатньо з'ясованими. У зв'язку з цим, дисертаційна робота І. В. Шахова, присвячена дослідженню участі ключових клітинних сигнальних посередників – АФО, іонів Ca^{2+} та нітроген оксиду – у реалізації впливу ГАМК на стійкість зернових злаків до дії абіотичних стресорів, процеси проростання їх зернівок за нормальних і стресових умов та у виявленні метаболічних процесів, чутливих до дії екзогенної ГАМК, є безумовно актуальною і має вагоме наукове та практичне значення, закладаючи

необхідні передумови для теоретичного обґрунтування застосування ГАМК як стрес-протектора у рослинницьких агротехнологіях.

Дисертаційна робота виконувалася в рамках науково-дослідних проєктів 14.00.02.05Пк «Розроблення тест-системи для скринінгу стрес-протекторної дії нових фізіологічно активних речовин на зернові злаки» (№ держреєстрації 0123U100486) і 14.00.02.06П «Розробка методів праймінгу насіння зернових злаків дією донорів газотрансмітерів та сполук з гормональною активністю» (№ держреєстрації 0124U000126), згідно з Договором про наукову співпрацю між Державним біотехнологічним університетом та Інститутом рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України, а також теми НДР кафедри землеробства та гербології Державного біотехнологічного університету «Регуляція адаптивних реакцій рослин з участю активних форм кисню і азоту та нейромедіаторів» (№ держреєстрації 0123U100582).

Структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 198 сторінках. Складається з анотації українською та англійською мовами, переліку опублікованих праць за темою дисертації, вступу, огляду літератури, опису експериментальних об'єктів і методів досліджень, трьох розділів опису результатів та їх обговорення, висновків, списку використаних джерел. Матеріали дисертації ілюстровані 53 рисунками. Список цитованої літератури налічує 237 джерел.

Вступ написаний відповідно до чинних вимог. У ньому обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету та завдання роботи, а також наведено основні положення наукової новизни і практичного значення отриманих результатів та охарактеризовано особистий внесок здобувача.

У **Розділі 1** дисертаційної роботи – ***Огляді літератури*** – проаналізовано функції і роль сигнальних посередників та стресових метаболітів в процесах адаптації рослин до несприятливих абіотичних чинників на клітинному і субклітинному рівнях. Значна увага приділена висвітленню ролі активних форм оксигену (АФО) та нітроген оксиду (NO) в формуванні стрес-протекторної фізіологічної відповіді рослинних систем. Детально проаналізовані наявні в літературі дані щодо стрес-протекторної дії ГАМК в рослинних системах, особливостей її функціональних звязків з компонентами антиоксидантної і осмопротекторної систем та сигнальними сполуками в адаптації рослин до стресових чинників.

У **Розділі 2** (методичному) детально охарактеризовано об`єкти і умови досліджень, дизайн експериментів, описані методи визначення біохімічних і фізіологічних показників та обробки результатів. Використані в роботі методи є адекватними відносно поставлених задач, успішно апробованими в практиці наукових досліджень.

У **Розділі 3** наведені результати досліджень феноменології впливу ГАМК на стійкість рослин пшениці і тритикале до абіотичних стресорів. Встановлено, що екзогенна ГАМК підвищує стійкість злакових культур до

основних абіотичних стресів — високої температури, посухи та засолення. Обробка ГАМК сприяла зростанню виживаності проростків пшениці після теплового стресу, зменшувала негативний вплив осмотичного стресу на накопичення біомаси та покращувала водний статус рослин, особливо у посухочутливого сорту. Вперше показано стрес-протекторну дію ГАМК у проростків тритикале за умов посухи, сольового та комбінованого стресів, що проявлялася у послабленні пригнічення росту та зменшенні втрати води рослинами.

Розділ 4 присвячено висвітленню результатів детального вивчення участі сигнальних посередників і стрес-протекторних систем у розвитку індукованої ГАМК стійкості пшениці і тритикале до теплового, осмотичного та сольового стресів. Встановлено, що стрес-протекторна дія екзогенної ГАМК реалізується через регуляцію редокс-гомеостазу, активацію антиоксидантної системи та підтримання осмотичного балансу рослин. Підвищення теплостійкості проростків пшениці за дії ГАМК пов'язане із сигнальною функцією гідроген пероксиду та іонів кальцію, що забезпечує активацію антиоксидантних ферментів і зменшення ушкоджень внаслідок окиснювального стресу. За умов посухи, засолення та їх комбінованої дії ГАМК зменшувала накопичення активних форм оксигену і продуктів перекисного окиснення ліпідів, сприяла підтриманню активності антиоксидантних ферментів, накопиченню осмолітів і фенольних сполук, що супроводжувалося підвищенням стійкості рослин пшениці та тритикале. Виявлено сортоспецифічні особливості реалізації захисної дії ГАМК. Праймінг насіння та фоліарна обробка ГАМК ефективно підвищували посухостійкість рослин пшениці, причому праймінг виявився більш ефективним способом застосування.

У **Розділі 5** наведені результати досліджень механізмів дії передпосівної обробки (праймінгу) насіння γ-аміномасляною кислотою на проростання зернівок пшениці і тритикале за нормальних і стресових умов. Вперше показано, що стимулювальний вплив ГАМК на проростання насіння та ріст проростків пшениці за умов осмотичного стресу опосередковується нітроген оксидом (NO). При цьому, захисна дія ГАМК пов'язана з регуляцією метаболізму вуглеводів і вторинного метаболізму, зокрема посиленням активності амілази, накопиченням цукрів, фенольних сполук та підтриманням вмісту антоціанів. Встановлено, що ГАМК підвищує ендогенний рівень NO, а блокування його дії усуває захисні ефекти. Крім того, праймінг насіння ГАМК суттєво покращував посівні якості та ріст проростків пшениці й тритикале зі старого насіння, що супроводжувалося зниженням проявів окиснювального стресу, активацією антиоксидантної системи та накопиченням низькомолекулярних антиоксидантів.

Завершується експериментальна частина дисертації **Висновками**, коректно сформульованими дисертантом на основі отриманих оригінальних експериментальних даних.

Наукова новизна результатів дослідження. Вперше показано, що індуковане ГАМК підвищення теплостійкості проростків пшениці реалізується за участю АФО, утворюваних НАДФН-оксидазою, та іонів кальцію, які регулюють генерацію АФО й активність антиоксидантних ферментів. Вперше доведено, що стимулювальний вплив праймінгу ГАМК на проростання насіння і ріст проростків пшениці за умов осмотичного стресу опосередковується нітроген оксидом (NO) та пов'язаний із регуляцією вуглеводного й вторинного метаболізму. Вперше встановлено особливості відповіді проростків тритикале на дію ГАМК та показано її ефективність у підвищенні посухо- і солестійкості через активацію антиоксидантного захисту, осморегуляції та накопичення фенольних сполук. Також уперше продемонстровано, що праймінг ГАМК поліпшує проростання насіння пшениці й тритикале зі зниженими посівними якостями завдяки послабленню окиснювального стресу.

Практичне значення та шляхи використання результатів досліджень. Показано ефективність праймінгу насіння пшениці й тритикале ГАМК для підвищення стійкості до посухи, осмотичного і сольового. Встановлено, що праймінг є ефективнішим за фоліарну обробку щодо покращення росту, водного режиму, вмісту фотосинтетичних пігментів та функціонування стрес-протекторних систем рослин. Також доведено можливість використання праймінгу ГАМК для підвищення схожості насіння зі зниженими посівними якостями. Отримані результати мають перспективи практичного застосування в агробіотехнологіях, роботі з генетичними ресурсами рослин, наукових дослідженнях і освітньому процесі. Результати досліджень включені у науково-методичні рекомендації «Оцінка стрес-протекторного впливу фізіологічно активних речовин на зернові злаки» (2023 р.), «Підвищення схожості насіння зернових злаків праймінгом фізіологічно активними речовинами» (2024 р.) та «Індукування стійкості зернових злаків до абіотичних стресорів праймінгом насіння фізіологічно активними речовинами (2025 р.), виданими Інститутом рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України за співавторства здобувача.

Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків. Дисертаційна робота базується на достатньо великому масиві оригінальних експериментальних даних, отриманих завдяки ретельно продуманим і логічно спланованим експериментам. Методичні прийоми, біохімічні і математичні методи, використані в роботі, повністю узгоджуються з контекстом сучасних досліджень у галузі біології стійкості рослин. Достовірність результатів не викликає сумніву, а їх інтерпретація є коректною і виваженою. Досліди проведені з достатньою кількістю повторень, дані математично опрацьовані з використанням адекватних загальноприйнятих методів. Сформульовані висновки є добре обґрунтованими і відповідають вказаним меті та завданням дослідження.

Повнота викладу основних результатів у опублікованих наукових працях. За темою дисертації опубліковано16 наукових праць, у тому числі 7 статей у фахових виданнях України та інших країн, з них 6 у журналах, що входять до наукометричної бази Scopus. Публікації повністю відображають основні матеріали і положення, що представлені в дисертації. Результати досліджень пройшли широку апробацію на міжнародних та вітчизняних симпозіумах, з'їздах і конференціях.

Відповідність вимогам академічної доброчесності. Текст дисертаційної роботи та представлені експериментальні результати не мають ознак плагіату та академічної недоброчесності. Наукові дані, отримані іншими дослідниками, наведені в тексті дисертації з відповідними посиланнями на літературні джерела.

Ознайомлення з матеріалами дисертації І.В. Шахова надає підстави вважати, що дисертантом виконана вагома науково-дослідна робота, в результаті якої отримані достовірні ґрунтовні результати, які істотно поглиблюють існуючі уявлення щодо механізмів стрес-протекторної дії γ-аміномасляної кислоти та її ролі в функціонуванні антиоксидантної і осмопротекторної систем злакових культур при адаптації до абіотичних стресів. Дисертаційна робота І.В. Шахова є самостійним дослідженням, виконаним на високому методичному та науковому рівні. Вона є завершеною працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, що мають важливе теоретичне і практичне значення.

Зауваження та пропозиції до дисертаційної роботи. Загалом у представленій роботі мною не виявлено суттєвих недоліків. Водночас слід відзначити деякі упущення та огріхи редакційного характеру:

1. У тексті дисертації зустрічається багато технічних друкарських помилок (стор. 4, 20, 21, 32, 35, 60, 63, 77, 96. 101,102, 110, 129, 130, 164).

2. У **SUMMARY** вжита неправильна назва м`якої пшениці англійською мовою – «soft wheat» замість «common (bread) wheat» (стор. 10).

3. У описі структури дисертаційної роботи (стор. 31) вказана наявність розділу узагальнення, але в рукописі його як окремого розділу немає.

4. Повною назвою основного ферменту асиміляції CO_2 є рибулозобісфосфаткарбоксилаза/оксигеназа (стор. 38).

5. В тексті дисертації іноді плутаються два різних показники водного режиму – вміст води і відносний вміст води. Так, на рис. 3.5 (стор. 82) згідно підпису представлено відносний вміст, а описуються ці результати "як зниження вмісту води". На рис. 5.9 (стор. 143), навпаки, у підписі зазначено "вміст води", а в тексті – "відносний вміст води".

6. Трапляється вживання некоректного терміну "сира" і "суха маса надземної частини рослин" (рис. 4.17; стор. 114), а також стор. 136.

7. Не зрозуміло, чому на тепловій карті результатів кореляційного аналізу (рис. 5.7; стор. 138) білим кольором позначено поле із коефіцієнтом

кореляції 0,72 та 0,67 між генерацією O_2^- і вмістом проліну та вмістом МДА, відповідно, а також 0,72 між активністю каталази і вмістом цукрів?

8. Недостатньо повними є підписи до деяких рисунків. У даній роботі доцільно було б у підписах до рисунків вказувати назви сортів, на яких отримані результати. Підписи до теплових карт і деяких рисунків з результатами варто було б доповнити деталями статобробки, зокрема, зазначити що означають зірочки біля чисел, кількість порівнювальних пар даних тощо. У підписі до рис. 4.10 чи хоча б у тексті доцільно було б указати відносно чого (якого етапу досліду) представлено зміни.

Водночас, зазначені недоліки не знижують загальної високої оцінки наукового значення роботи, вагомості її результатів та обґрунтованості висновків.

Висновок. Підсумовуючи викладене, вважаю, що тема і зміст дисертації Шахова Івана Валерійовича «Механізми стрес-протекторної дії γ-аміномасляної кислоти на зернові злаки» відповідають спеціальності 091 – «Біологія» галузі знань 09 – «Біологія», а також вимогам Наказу Міністерства освіти і науки України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 року №40 (зі змінами, внесеними згідно з Наказом МОН України від 31.05.2019 р. № 759) та вимогам постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 року № 44 (в редакції постанови Кабінету Міністрів України від 3 травня 2024 року №507), а її автор ШАХОВ Іван Валерійович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент,
доктор біологічних наук,
член-кореспондент НАН України,
завідувач відділу фізіології та
екології фотосинтезу
Інституту фізіології рослин і
генетики НАН України О.О. Стасик

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
ПІДПИС ПОСВІДЧУЮ
Учений секретар
«04» 10 2024