

## **В І Д Г У К**

**офіційного опонента дисертаційну роботу Копіча Віктора Миколайовича „Функціонування ліпоксигеназ під впливом рослинних гормонів та ліпоксигеназних метаболітів”, подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.**

Однією з центральних проблем сучасної теоретичної і практичної біології є вивчення молекулярних і клітинних механізмів адаптації рослин до абіотичних і біотичних стресорних впливів. Серед компонентів, що беруть участь у формуванні адаптивних реакцій у рослинах, важлива роль належить фізіологічно активним (сигнальним) продуктам метаболізму, а також ферментам, задіяним в утворенні сигнальних посередників. До таких, зокрема, відносяться ліпоксигенази (ЛО), що каталізують приєднання молекулярного кисню до цис-цис-1,4-пентадієнної системи в молекулах поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). Відомо, що абіотичні та біотичні стресори викликають зміни активності ЛО, котра розглядається в якості біологічного маркера фізіологічного стану рослини. Біологічна значимість продуктів ліпоксигеназного каскаду обумовлює дослідницький інтерес до пошуку шляхів регуляції їхньої активності та можливості коригування рівня ліпоксигеназних метаболітів, що відкриває можливості підвищення стресостійкості провідних аграрних культур. Тому дисертаційну роботу В.М. Копіча, присвячену вивченню впливу рослинних гормонів та гідропероксидів полієнових жирних кислот на функціонування ліпоксигеназ в модельних системах, вважаю актуальною і своєчасною. Дисертаційна робота є складовою частиною науково-дослідних робіт Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України (тема: "Вивчення механізмів дії та регуляції ферментів каскаду поліненасичених жирних кислот у системах, що моделюють біологічні мембрани" (№ держреєстрації 0103U005437); тема: "Молекулярна

асоціація, функціональні властивості та шляхи регуляції активності ферментів каскадів поліненасичених жирних кислот" (№ держреєстрації 0106U004305); тема: "Ключові ферменти ліпоксигеназного шляху перетворення поліненасичених жирних кислот та дія біологічно активних сполук" (№ держреєстрації 0109U002339); тема: ЦНП 9.1-07 „Розвиток пріоритетних напрямів синтезу потенційних низькомолекулярних біорегуляторів і дослідження їх властивостей в модельних системах” (№ держреєстрації 0107U002550); тема: ЦНП 9.1-12 „Розвиток методів синтезу, дослідження властивостей та механізмів дії нових потенційно біоактивних сполук” (№ держреєстрації 0112U002657)), а також за підтримки міжнародного гранту ДФФД 14.4/018 ”Брассиностероїди в регуляції метаболізму клітин рослин за дії низькотемпературного стресу” (№ Ф14/247-2007).

Дисертаційна робота В.М. Копіча викладена на 132 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень та трьох розділів, у яких наведені результати власних досліджень та їх обговорення, висновків і списку використаних літературних джерел, що містить 213 найменувань. Робота проілюстрована 32 рисунками та 6 таблицями.

Викладені в дисертації та авторефераті відомості відображені в наукових публікаціях, отримані результати є достовірними. За результатами досліджень опубліковано 13 робіт, серед них 5 статей у фахових наукових виданнях, із яких 2 статті у наукових виданнях України, які включено до міжнародних наукометричних баз. Основні положення дисертації апробовані на Міжнародних конференціях і конференціях з біоорганічної хімії та нафтохімії ІБОНХ НАН України.

Мета дисертаційної роботи, котра полягала у встановленні закономірностей прояву функціональної активності 9- та 13-ліпоксигеназ з використанням природних сполук і факторів – рослинних гормонів,

первинних ліпоксигеназних продуктів, абіотичних стресорів, у результаті виконання досліджень була досягнута.

Для досягнення мети було вирішено такі завдання:

- визначено вплив рослинного гормону 24-епібрасиноліду на активність ліпоксигеназ в проростках кукурудзи за дії низьких температур;
- порівняно активність ліпоксигеназ в проростках кукурудзи за дії сольового стресору та рослинного гормону абсцизової кислоти;
- з'ясувано дію первинних 13-ліпоксигеназних продуктів на активність 9-ліпоксигенази та швидкість біоконверсії гідропероксидів полієнових жирних кислот в бульбах картоплі за дії механічного ушкодження;
- вивчено каталітичні властивості гідропероксидліази з проростків картоплі;
- порівняно дію природних брасиностероїдів та їх синтетичних похідних на 9-ліпоксигеназу з бульб картоплі в міцелярних системах *in vitro*.

У першому розділі дисертації, який складається з трьох підрозділів, проаналізовані вітчизняні та зарубіжні літературні джерела з питань структурно-функціональних особливостей ЛО. Представлені відомості про номенклатуру та класифікацію, каталітичний механізм дії ЛО, детально охарактеризований ліпоксигеназний шлях окислення поліненасичених жирних кислот та участь даного ферменту в реакціях адаптації рослинної клітини до абіотичних та біотичних стресорів, а також можлива роль брасиностероїдів та АБК в якості регуляторів каталітичної активності ЛО. На основі аналізу й узагальнення літературних даних обґрунтовано актуальність проведення досліджень за темою дисертаційної роботи.

У другому розділі наведені детальні відомості щодо матеріалів та методів дослідження. Робота проводилась на проростках *Zea mays L.* сорту Говерла та бульби картоплі *Solanum tuberosum L.* сорту Луговська. У розділі описані методи визначення активності ЛО з проростків кукурудзи

за нормальних умов та в модельних системах, що імітують функціонування рослинної клітини при дії абіотичних стресорів та при дії АБК, 24-епібрасиноліду, фосфатидної кислоти. Подано деталізований опис отримання модельних систем для дослідження впливу хімічних сполук в умовах стресу, одержання ферментних препаратів ЛО з бульб картоплі і проростків кукурудзи, визначення впливу брасиностероїдів і лізофосфоліпідів на активність ЛО. Описаний ферментативний синтез 9-гідропероксиду лінолевої кислоти та лінолевого спирту, 13-гідропероксиду лінолевої та 15-гідропероксиду арахідонової кислот. Результати експериментів оцінювали за *t*-тестом Ст'юдента та *U*- критерієм Мана-Вітні. Статистично достовірною вважали різницю при  $p \leq 0,05$ .

У третьому розділі дисертації наведені результати експериментальних досліджень і їх обговорення.

В дисертаційній роботі зроблено узагальнення отриманих результатів, висновки сформульовано в цілому чітко, вони відображають головні досягнення проведеної роботи. Автореферат у достатній мірі репрезентує рукопис дисертації.

Разом із тим, до дисертаційної роботи Віктора Миколайовича є окремі запитання і зауваження. Хочу зазначити, що мої зауваження носять суто рекомендаційний характер, а саме:

1. Яку наукову гіпотезу було покладено дисертантом в основу проведеної роботи?

2. В огляді літератури, зокрема, у розділі 1.3 «Участь ліпоксигеназ в адаптації рослинної клітини до абіотичних та біотичних стресів» та в експериментальній частині у розділі 3.2. «Порівняльне дослідження дії сольового стресора та абсцизової кислоти на активність ліпоксигеназ кукурудзи» дисертантом детально описує концепцію стресу, сформульовану у роботах Сел'є. Проте, оскільки вивчались два види стресів у часовому проміжку від 0,3 до 6 год та 24 год., при викладенні

результатів та їх обговоренні доцільно виділити відповідні фази реакції-відповіді і в цьому сенсі проводити обговорення.

3. У розділі Матеріали та методи дослідження доцільно було б розширити інформацію про сорти кукурудзи та картоплі, на яких проведено дослідження впливу фізіологічно активних сполук та абіотичних стресорів. Зокрема, вказати оригінаторів сортів та представити адаптаційні характеристики рослин.

4. У роботі є деякі невдалі вислови, зокрема, «Під дією підвищених концентрацій солі в рослині накопичується АБК, під дією холоду значно зростає рівень брасиностероїдів» (автореферат, стор. 1), більш лаконічно - «За умов сольового стресу у рослин зростає рівень АБК, а при дії позитивної низької температури – брасиностероїдів».

5. В авторефераті і дисертації за період 2010-2015 рр. перераховано 8 конференцій і семінарів, на яких були апробовані результати дисертаційної роботи. Бажано було б відзначити, на яких заходах дисертант презентував роботу.

6. До списку висновків доцільно було додати запропоновані дисертантом експериментальні системи для визначення функціональної активності ліпоксигеназ *in vivo* придатні для скринінгу хімічних сполук – потенційних регуляторів активності ферменту.

7. Оскільки робота має серйозне теоретичне значення, логічно було у заключній частині у вигляді схеми представити визначені дисертантом зв'язки між ліпоксигеназною активністю і впливом природних стресорів, рослинних гормонів і ліпоксигеназних метаболітів.

Підсумовуючи, слід відзначити, що дисертант проаналізував динаміку змін ЛО-активності за умов сольового, низькотемпературного стресів, механічного ушкодження, дослідив вплив екзогенних АБК та брасиностероїдів на індукцію адаптивних реакцій кукурудзи за умов двох типів стресу, вплив первинних ліпоксигеназних метаболітів на ферменти синтезу оксиліпінів в умовах стресу, продемонстрував їхню спрямованість

на відновлення метаболічних процесів. Дисертантом розширені знання щодо ефектів АБК, брасиностероїдів, гідропероксидів полієнових жирних кислот на фізіологічні характеристики метаболічних реакцій при стресі.

Аналіз поданих до розгляду матеріалів та положень дисертаційної роботи на підставі наявності в роботі: наукової новизни, практичної значимості та статистичної надійності отриманих дисертантом даних дозволяє дійти висновку про те, що робота відповідає п.п. 11, 12 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння наукового звання «старшого наукового співробітника, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567, а її автор, Копіч Віктор Миколайович заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Офіційний опонент

кандидат біологічних наук, с.н.с.

відділу фітогормонології Інституту

ботаніки імені М.Г. Холодного

НАН України

*Л.М. Бабенко*

Л.М. Бабенко



Підпис *Бабенко Л.М.*  
Засвідчую  
Відділ кадрів *Зам*