

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

**РЕГЕДИ ЛЮБОВІ ВОЛОДИМИРІВНИ**

**на тему: «Біологічні особливості видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. у культурі»,**

представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія»

Докладний аналіз дисертаційної роботи Регеди Л.В. на тему: «Біологічні особливості видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. у культурі» та наукових публікацій з теми досліджень дозволяє сформулювати висновки щодо актуальності, наукової новизни, достовірності, ступеня обґрунтованості основних висновків, практичного значення, рекомендацій та загальної оцінки представленої наукової роботи.

### **1. Актуальність теми дослідження.**

Доцільність вивчення морфолого-культуральних, фізіологічних та біосинтетичних характеристик видів базидієвих грибів обумовлена встановленням їх корисних властивостей, пошуком нових хімічних сполук, вивченням закономірностей спрямованої регуляції росту й метаболічних шляхів біологічно активних речовин, визначенням біологічної ролі активних метаболітів, зокрема у пристосуванні до різноманітних субстратів та у адаптогенних реакціях і, нарешті, широким застосуванням в біотехнології, господарстві та екології. Як наслідок, вивчення біології в культурі і розробка нових інтенсивних біотехнологій культивування різних видів базидієвих грибів з метою отримання як міцелію, так і біологічно активних сполук з кожним роком стають все більш затребуваними.

Так, види роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. успішно використовуються як для промислового отримання плодових тіл, так і для отримання біологічно-активних речовин з лікувальними властивостями. Проте, морфолого-



культуральні і фізіолого-біохімічні особливості видів цього роду грибів досліджено тільки на обмеженому ряді штамів. До прикладу, наявні лише фрагментарні дані щодо біологічних властивостей вегетативного міцелію штамів видів роду *Pholiota*, виділених у культуру з плодових тіл, зібраних на теренах України. Це ще раз підкреслює актуальність подовження вивчення цих грибів у культурі з метою встановлення їх практичного потенціалу.

Представлена дисертаційна робота виконана у відділі мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України відповідно до планів науково-дослідних тем № 433 «Біологічні особливості штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ІВК» (№ державної реєстрації – 011U002001) та № 468 «Біологічна активність штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ІВК» (№ державної реєстрації – 0120U101111).

## **2. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які сформульовані в дисертації.**

Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані в дисертації, відповідають вимогам до такого виду досліджень.

У дисертаційній роботі визначено мету – дослідження біологічних особливостей штамів видів роду *Pholiota* за різних умов культивування. Для досягнення мети було встановлено низку рівнозначних завдань. Автором застосовані загальноприйняті мікробіологічні, мікологічні, біохімічні, молекулярно-генетичні методи роботи з чистими культурами грибів, світлова та сканувальна електронна мікроскопія, спектрофотометрія, статистичні та математичні методи обробки результатів.

Аналіз змісту дисертації і опублікованих за її результатами праць підтверджує обґрунтованість результатів щодо дослідження біологічних особливостей видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. з Колекції культур ІВК.

У першому розділі дисертаційної роботи «Загальна характеристика видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm.» виконано детальний аналіз наукової літератури за темою дослідження. Розглянуто систематичне положення,

морфологія, поширення, біологічно-активні речовини (вторинні метаболіти, полісахариди, білки), лікарське значення, рівень дослідження видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. у культурі.

У другому розділі «Матеріали і методи досліджень» надано список об'єктів досліджень – чистих культур 18 штамів 8 видів роду *Pholiota*, детально описано застосовані мікологічні, мікробіологічні, морфолого-культуральні, фізіолого-біохімічні, молекулярно-генетичні, електронно-мікроскопічні і статистичні методи досліджень.

У третьому розділі «Морфолого-культуральна характеристика вегетативного міцелію», який містить три підрозділи увага приділяється наступному. В першому підрозділі надаються результати проведення молекулярно-генетичного аналізу культур п'яти видів роду *Pholiota* з колекції Колекції культур ІВК для підтвердження їх видового статусу. У другому – надаються результати вивчення та обговорення морфологічних характеристик вегетативного міцелію видів роду *Pholiota* для доповнення існуючих таксономічних даних. За результатами цього етапу дослідження встановлено морфолого-культуральні характеристики, які рекомендовано враховувати для підтвердження таксономічної приналежності культур видів роду *Pholiota*. Встановлені суттєві відмінності у морфології міцеліальних колоній в залежності від складу обраного живильного агаризованого середовища. У третьому підрозділі досліджено мікроморфологічні особливості вегетативного міцелію восьми видів роду *Pholiota* з Колекції культур ІВК. Вперше проведено детальне дослідження мікроструктур *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko* та *P. subochracea* для встановлення морфологічної характеристики та ідентифікації цих таксонів у чистій культурі. Було відзначено наявність усіх типових для цих видів особливостей, характерних роду *Pholiota*. Отримані нові дані щодо мікроморфологічних особливостей представників роду *Pholiota*. Для *P. populnea* було відмічено існування секреторних гіф та вакуолізованого міцелію у чистій культурі, а для *P. subochracea* – орнаментацию гіф

вегетативного міцелію. Отримано нову інформацію про наявність гіфальних кілець для трьох видів роду *Pholiota* – *P. alnicola*, *P. limonella* та *P. subochracea*.

У четвертому розділі «Вплив умов культивування на ріст міцелію і накопичення біомаси» міститься аналіз експериментальних даних дослідження швидкості росту 18 штамів восьми видів роду *Pholiota* на агаризованих середовищах різного складу та особливостей культивування цих штамів на рідких середовищах за умов різних показників рН та температури. Цей розділ розподіляється на три підрозділи. Перший підрозділ присвячено дослідженню швидкості росту вегетативного міцелію та підбору складу оптимальних живильних середовищ. За результатами проведених досліджень підтверджено залежність радіальної швидкості росту міцелію видів роду *Pholiota* як від біологічних особливостей штаму, так і від складу живильних середовищ. Другий – результатам вивчення впливу критичних температур на життєздатність вегетативного міцелію досліджуваних штамів. Встановлено граничні температури, після впливу яких не відбувається відновлення росту досліджених штамів видів роду *Pholiota*. Третій підрозділ розкриває особливості впливу вихідного рН живильного середовища на ріст культур і накопичення ними біомаси. На підставі аналізу отриманих експериментальних даних встановлені індивідуальні оптимальні значення рН живильного середовища для максимального росту і накопичення біомаси досліджуваними культурами.

П'ятий розділ дисертаційної роботи «Біосинтетична активність культур видів роду *Pholiota*» має п'ять підрозділів, які, відповідно, присвячено вивченню вмісту ендополісахаридів у вегетативному міцелії, тритерпенових кислот ланостанового типу, фенольних сполук та визначенню антимікробної, алелопатичної і антиоксидантної активності екстрактів біомаси та культуральної рідини штамів *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa* і *P. subochracea*.

Висновки дисертації виявляють наукову новизну, повноту розв'язання

завдань і мають теоретико-методичне й практичне значення.

### **3. Ступінь наукової новизни результатів дисертаційної роботи.**

Наукова новизна представлених у дисертації результатів визначається обґрунтованістю теоретичних положень й рекомендацій щодо практичного використання отриманих результатів.

Автором вперше досліджено мікроморфологічні особливості вегетативного міцелію 8 видів роду *Pholiota* з Колекції культур (ІВК). За допомогою сканувальної електронної мікроскопії вперше проведено детальне дослідження мікроструктур штамів *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko* та *P. subochracea* для встановлення морфологічної характеристики та ідентифікації цих таксонів у чистій культурі. Вперше виявлено існування таких структур вегетативного міцелію як анастомози для *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*; кондіальне спороношення – для *P. alnicola*, *P. nameko*, *P. populnea*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*; кристали – для *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. populnea*, *P. nameko*, *P. subochracea*; міцеліальні плівки – для *P. nameko*, *P. subochracea*; хламідоспори – для *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. subochracea*. Для *P. populnea* вперше було відмічено існування секреторних гіф та вакуолізованого міцелію у чистій культурі, а для *P. subochracea* – орнаментацию гіф вегетативного міцелію. Крім того, отримано нову інформацію про наявність гіфальних кілець для трьох видів роду *Pholiota* – *P. alnicola*, *P. limonella* та *P. subochracea*.

Автором вперше отримано дані щодо накопичення та продуктивності синтезу ендополісахаридів у вегетативному міцелії 7 видів роду *Pholiota*. Вперше встановлено наявність та кількісні показники вмісту та продуктивності синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу у міцелії представників роду *Pholiota*. Вперше встановлено вміст та продуктивність синтезу фенольних речовин представниками роду *Pholiota* в біомасі та культуральній рідині. У результаті проведеного антимікробного скринінгу досліджених штамів виявлено антифунгальну активність екстрактів

культуральної рідини *P. adiposa* відносно *Aspergillus niger*, *Penicillium pollonicum* та *Mucor globosus*. Вперше досліджено вплив біомаси видів роду *Pholiota* на проростання насіння та ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus*. Вперше визначено величину та межі варіювання антиоксидантної активності біомаси та культуральної рідини для штамів семи видів роду, а саме *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*.

Таким чином, змістовне наповнення пунктів наукової новизни дійсно має фундаментальне теоретичне та практичне значення, як для біології і мікології, так і для споріднених галузей знань та господарювання.

#### **4. Теоретична цінність та практичне значення наукових результатів.**

Обґрунтовані у дисертації Регеди Л.В. положення і висновки мають наукове та практичне значення.

Теоретична значущість дисертаційної роботи полягає у тому, що вона доповнює існуючі переривисті знання з біологічних особливостей видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. у культурі. Зокрема, поповнено Колекцію культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України 6 штамми 3 видами роду *Pholiota*. Молекулярно-генетичними методами підтверджено видову приналежність досліджуваних штамів та депоновано відповідні молекулярні послідовності до міжнародної бази даних GenBank. Досліджено мікроструктури вегетативного міцелію цих штамів, які доповнюють критерії оцінки їх таксономічної приналежності при зберіганні *in vitro*. Надано рекомендації щодо зберігання вегетативного міцелію у колекціях культур та подальшого використання досліджених видів *Pholiota* у фармакології та агровиробництві.

#### **5. Повнота викладення наукових результатів дисертації в опублікованих працях.**

Основні наукові положення і висновки дисертації висвітлено у 8 роботах, у тому числі 1 стаття в періодичних наукових виданнях держав, які

входять до Організації Економічного Співробітництва, 3 статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових видань України і 4 публікації у матеріалах доповідей наукових конференцій.

Кількість, обсяг та зміст друкованих праць відповідають вимогам МОН України щодо публікацій основного змісту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії і надають авторові право публічного захисту дисертації.

#### **6. Відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Дисертація відповідає вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії та має структуру, що складається із анотації двома мовами, списку публікацій здобувача, вступу, п'яти розділів, висновків, переліку використаних джерел та двох додатків. Перелік використаних джерел містить 281 найменування. Структура дисертації логічно побудована і сприяє розкриттю теми дослідження, виконанню поставлених завдань.

Анотація відображає основний зміст дисертаційної роботи. Вона не містить положень чи ідей, що не наведені в основному тексті.

В цілому, дисертація оформлена відповідно до вимог Міністерства освіти і науки України, що висуваються до такого роду наукових робіт.

#### **7. Дискусійні питання та зауваження щодо змісту дисертації.**

Загалом дисертаційне дослідження проведено на високому науково-теоретичному рівні. Проте, оскільки деякі його положення є дискусійними, що пов'язано з означенням дисертантом власної позиції щодо окремих досліджуваних проблем, варто зробити певні уточнення та рекомендації з метою подальшого удосконалення обумовленої проблематики:

1. Автор застосовує комплекс методів дослідження для визначення низки показників біосинтетичної активності культур, проте при цьому доцільно було б обґрунтувати, чому саме використання такого підходу є необхідним у контексті дослідження.
2. Потребує уточнення методологія проведення певних етапів дослідження: чи подрібнювали до порошкоподібного стану, і чи є

така необхідність, висушену при  $60 \pm 0,1^\circ\text{C}$  біомасу при визначенні в ній вмісту ендополісахаридів та тритерпенових кислот ланостанового типу?

3. При вивченні (порівнянні) морфолого-культуральних та біосинтетичних особливостей вегетативного міцелію представників роду *Pholiota* використовували глюкозо-пептон-дріжджовий агар (ГПДА), глюкозо-пептон-дріжджове середовище (ГПД) та агаризоване пивне сушло (СА), які мають складний (як правило – нестандартизований) вміст поживних речовин. Чи враховувався вплив вмісту останніх при встановленні реєстрованих властивостей досліджуваних штамів?
4. В розділі 4.2. Вплив критичних температур на життєздатність вегетативного міцелію зазначається, що в результаті дослідження «Відмічено залежність стійкості вегетативного міцелію до підвищених температур в залежності від виду та біологічних особливостей штаму роду *Pholiota*». Чи можна тут, і далі в тексті, робити узагальнюючі висновки при вивченні всього по одному штаму в половини з досліджених видів роду *Pholiota*?
5. Чи виявлена кореляція між встановленим вмістом ендополісахаридів, тритерпенових кислот ланостанового типу, фенольних сполук у мікологічному матеріалі та антимікробною, алелопатичною і антиоксидантною активністю досліджуваних штамів?

Виявлені незначні технічні помилки, дискусійні питання та зауваження щодо дисертації не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

## **8. Відсутність порушення академічної доброчесності.**

В результаті всебічного аналізу тексту дисертації не було виявлено порушення автором вимог доброчесності. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають посилання на відповідне джерело, дотримано вимоги норм законодавства про авторське право. У роботі не виявлено ознак



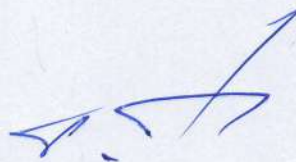
академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації. Для всіх публікацій у співавторстві чітко зазначено особистий внесок дисертанта.

#### **9. Відповідність роботи встановленим вимогам та загальний висновок.**

На основі аналізу основних положень, змісту та результатів, які розроблені й представлені в дисертаційній роботі і опублікованих наукових працях можна стверджувати наступне. Дисертація Регеди Любов Володимирівни на тему «Біологічні особливості видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kunt. у культурі» є закінченим науковим дослідженням, де вирішено науково-практичне завдання щодо дослідження біологічних особливостей штамів видів роду *Pholiota* за різних умов культивування. За змістом і оформленням дисертаційна робота відповідає вимогам «Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 06.03.2019 р. Таким чином, виходячи із вище зазначеного, дисертант Регеда Любов Володимирівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

#### **Офіційний опонент:**

доктор біологічних наук,  
професор кафедри медичної біології,  
Маріупольський державний університет  
МОН України



**Федотов О.В.**

Підпис

*Регеда О.В.*

завіряю

Начальник відділу кадрів

*(Ольга БЛАГІНІНА)*

