

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу  
Регеди Любові Володимирівни  
«Біологічні особливості видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. у культурі»,  
що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за  
спеціальністю 091 Біологія.

**Актуальність дисертаційної роботи.** Дисертація автора присвячена актуальній темі – вивченню особливостей біосинтетичної активності видів роду *Pholiota*, які представляють інтерес для біотехнології завдяки продукуванню речовин з антиоксидантними, гепатопротекторними, протипухлинними та імуномодулюючими властивостями. Проте, існують лише поодинокі відомості про потенціал українських штамів представників роду *Pholiota*, виділених у культуру з плодових тіл, зібраних на території України, як продуцентів біологічно активних речовин. Враховуючи вищенаведене, вкрай актуальним та своєчасним є дослідження морфолого-культуральних, фізіологічних та біосинтетичних характеристик видів роду *Pholiota*.

Дисертаційна робота Регеди Любові Володимирівни виконана у відділі мікології Інституту ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України відповідно до планів НДР за темами № 433 «Біологічні особливості штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки *ИБК*» (№ державної реєстрації – 011U002001) та № 468 «Біологічна активність штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки *ИБК*» (№ державної реєстрації – 0120U101111).

**Метою дисертаційної роботи** Дослідження біологічних особливостей штамів видів роду *Pholiota* за різних умов культивування.

**Завдання досліджень:** виділити чисті культури нових штамів роду *Pholiota* з плодових тіл, зібраних на території України; підтвердити видову приналежність досліджених штамів видів роду *Pholiota*; дослідити залежність морфолого-культуральних особливостей і швидкості росту вегетативного міцелію штамів видів роду *Pholiota* від складу агаризованих живильних середовищ; дослідити мікроструктури вегетативного міцелію штамів видів роду *Pholiota*; встановити граничні температури, після впливу яких не відбувається відновлення росту вегетативного міцелію досліджених штамів видів роду *Pholiota*; виявити вплив кислотності живильного середовища на накопичення біомаси досліджених штамів; провести скринінг штамів роду *Pholiota* за накопиченням і продуктивністю ендополісахаридів; встановити вміст і продуктивність синтезу тритерпенових кислот



ланостанового типу у представників роду *Pholiota*; встановити вміст та продуктивність синтезу фенольних сполук у біомасі і культуральній рідині представників роду *Pholiota*.

провести антимікробний скринінг біомаси та культуральної рідини, а також тритерпенових кислот ланостанового типу видів роду *Pholiota*; дослідити вплив біомаси видів роду *Pholiota* на проростання насіння та ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus*; визначити величину і межі варіювання антиоксидантної активності екстрактів біомаси та культуральної рідини штамів видів роду *Pholiota*.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше проведено дослідження морфолого-культуральних характеристик 18 штамів 8 видів роду *Pholiota* з Колекції культур шапинкових грибів (*IBK*) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. У результаті експериментальних досліджень з'ясовано критичні температури інкубації вегетативного міцелію, при яких штами зберігають життєздатність. Встановлено сприятливі для продукції біомаси значення рН живильного середовища для кожного з досліджених видів роду *Pholiota*. Уперше отримано відомості щодо накопичення та продуктивності синтезу ендополісахаридів у вегетативному міцелії семи видів даного роду, а також результати щодо вмісту та продуктивності синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу у представників роду. Уперше встановлено вміст і продуктивність синтезу фенольних сполук у біомасі та культуральній рідині представників роду *Pholiota*. Проведено дослідження антимікробних властивостей екстрактів біомаси, культуральної рідини, а також тритерпенових кислот ланостанового типу семи видів даного роду. Уперше досліджено вплив біомаси видів роду на проростання насіння, ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus*. Уперше визначено антиоксидантну активність екстрактів біомаси і культуральної рідини досліджених штамів видів роду *Pholiota*.

**Практичне значення одержаних результатів.** Поповнено Колекцію культур шапинкових грибів (*IBK*) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України 6 штамми 3 видами роду *Pholiota*, які були виділені з карпофорів, зібраних на території України. Молекулярно-генетичними методами підтверджено видову приналежність 5 штамів 5 видів роду *Pholiota* з Колекції *IBK* та депоновано відповідні молекулярні послідовності до міжнародної бази даних GenBank. Досліджено мікроструктури вегетативного міцелію восьми видів роду *Pholiota*, які доповнюють критерії оцінки таксономічної приналежності штамів при зберіганні *in vitro*. Надано рекомендації щодо зберігання вегетативного міцелію 7 культур 7 видів

*Pholiota in vitro*, з указанням умов культивування та біологічних особливостей штамів.

Отримані результати можуть слугувати підґрунтям для подальшого використання досліджених видів грибів у фармакології та агровиробництві.

**Аналіз дисертаційної роботи.** Робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків та списку літератури (281 найменування, з них 257 англомовних). Загальний обсяг роботи складає 164 сторінок. Основна частина дисертації викладена на 135 сторінках, ілюстрована 12 таблицями, 46 рисунками та 2 додатками.

У **першому розділі** подано аналіз наявних даних щодо загальної характеристики видів роду *Pholiota*: систематичне положення, морфологічні особливості, поширення, біологічно активні речовини, значення для медицини та умови культивування. За результатами критичного аналізу літературних даних обґрунтовано актуальність теми та доцільність проведення досліджень дисертації.

**Другий розділ** включає умови проведення досліджень з висвітленням походження досліджуваних штамів видів роду *Pholiota*, методи виділення в чисту культуру та вивчення культурально-морфологічних характеристик, проведення молекулярно-генетичних досліджень, мікроморфології вегетативного міцелію за допомогою світлової та скануючої електронної мікроскопії, впливу умов культивування на ріст міцелію та накопичення біомаси, біосинтетичної активності, антимікробних, алелопатичних, антиоксидантних властивостей штамів.

За допомогою проведених досліджень із вивчення морфолого-культуральної характеристики та мікроскопічних структур вегетативного міцелію видів роду *Pholiota*, представлених у **розділі 3**, дисертантом проведено ідентифікацію штамів роду *Pholiota* із Колекції *IBK* із застосуванням молекулярно-генетичних методів досліджень. Отримано нуклеотидні послідовності для п'яти штамів досліджуваного роду, що депонуються в Колекції *IBK*.

Вперше проведено морфологічну характеристику восьми представників роду *Pholiota* та вивчено мікроструктури видів *P. alnicola*, *P. limonella*, *P. nameko* та *P. subochracea* у чистій культурі. Встановлена наявність секреторних гіф та вакуолізованого міцелію у чистій культурі у *P. populnea*, орнаментация гіф вегетативного міцелію у *P. subochracea*. Виявлено гіфальні кільця у *P. alnicola*, *P. limonella* та *P. subochracea*.

**Четвертий розділ** присвячено вивченню впливу умов культивування на ріст міцелію та накопичення біомаси 18 штамів восьми видів роду *Pholiota*. Отримані результати продемонстрували, що за даними радіальної

швидкості росту досліджувані штами видів роду *Pholiota* належать до повільно ростучих. Встановлена залежність їхньої швидкості росту від біологічних особливостей штаму та складу живильного середовища. Визначено граничні температури, після яких можливе відновлення росту досліджуваних штамів за оптимальних умов подальшого культивування. Продемонстровано, що рН живильного середовища в межах від 5,3 до 6,5 є оптимальним для отримання біомаси штамів роду *Pholiota*, при цьому відмічено зниження початкової кислотності середовища на 0,5-0,7 одиниць.

Отримані дані щодо умов поверхневого культивування видів роду *Pholiota* мають практичне значення для регулювати продуктивності синтезу біомаси, фізіологічних змін, накопичення метаболітів.

**П'ятий розділ** присвячено дослідженню біосинтетичної активності культур видів роду *Pholiota*. Встановлено, що за поверхневого культивування найбільше ендополісахаридів накопичували види *P. nameko* та *P. adiposa*, найменше – *P. subochracea*. Загалом отримані дані продемонстрували, що штами видів роду *Pholiota* не є високо продуктивними порівняно із іншими видами лікарських грибів.

Уперше виявлено здатність синтезувати тритерпенові кислоти ланостанового типу сімома видами роду *Pholiota*. Визначено кількість та продуктивність досліджуваних видів. Максимальний вміст тритерпенів в міцелії встановлений для видів *P. alnicola* та *P. subochracea*, найнижчий – для *P. limonella*. Найбільша продуктивність синтезу тритерпенових кислот ланостанового типу з урахуванням біомаси отримана для *P. aurivella* та *P. subochracea*, мінімальна – для видів *P. limonella*, *P. nameko* та *P. squarrosa*.

Показано, що досліджувані штами роду *Pholiota* відрізняються за рівнем продукування фенольних сполук, найбільший вміст яких екстраговано із біомаси, ніж із культуральної рідини.

Вперше досліджено активність екстрактів, отриманих з біомаси і культуральної рідини та тритерпенових кислот ланостанового типу досліджуваних видів роду *Pholiota* по відношенню до тест-культур бактерій (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) та грибів (*Aspergillus niger*, *Mucor globosus*, *Penicillium polonicum*). Встановлена висока антифунгальна дія екстракту з культуральної рідини виду *P. adiposa*.

Дослідження алелопатичної активності біомаси видів роду *Pholiota* продемонструвало відсутність дії на проростання насіння та ріст проростків *Lepidium sativum* та *Cucumis sativus*, натомість виявило різний вплив на розвиток коренів та проростків рослин. Визначено, що біомаса видів *P. adiposa*, *P. nameko* та *P. subochracea* пригнічує розвиток та змінює морфологію проростків обох тест-рослин на рівні понад 50%.

Вивчено антиоксидантну активність екстрактів біомаси та культуральної рідини досліджуваних штамів *P. adiposa*, *P. alnicola*, *P. aurivella*, *P. limonella*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. subochracea*, встановлено її величину та межі варіювання. Найбільш активними виявились екстракти з культуральної рідини, в яких антиоксидантна дія знаходилась в межах від 65% до 83%.

Висновки та практичне значення роботи є результатами проведених досліджень та чітко сформульовані.

Поряд з більшістю позитивних сторін дисертаційної роботи в ній зустрічається ряд стилістичних помилок, дискусійних суджень та неточностей.

В тексті роботи зустрічаються помилки у назві полімерази, яка має бути Таq-полімеразою замість Таg (стор. 49); у латинській назві гриба *Penicillium polonicum*, який зазначається як *P. pollonicum* (рис. 5.4.1 та в тексті на сторінці 114); повтори (на стор. 95 останній абзац повторюється в першому стор. 96); використання повної назви роду *Pholiota* під час зазначення його кількох видів одночасно (рис. 3.2.1. та 3.2.2 на стор. 68-69, рис. 3.2.5 на стор. 73).

На рис. 5.4.1. сторінка 114 було б доцільно помістити фотографії контрольних чашок тест-культур грибів із внесеним у лунку розчинником, який використовувався для екстракції.

Потребують відповіді питання:

У розділі 4 під час досліджень впливу умов культивування на ріст міцелію та накопичення біомаси вивчали 18 штамів восьми видів роду *Pholiota*, тоді як у розділі 5 біосинтетична активність визначалась лише для 7 штамів семи видів. Чим це було обумовлено?

Для отримання яких біологічно активних речовин види роду *Pholiota* є найбільш перспективними в порівнянні із іншими макроміцетами?

Який вид роду *Pholiota* із Колекції *IBK* є найбільш цінним і за якими біосинтетичними властивостями?

Незважаючи на висловлені зауваження, дисертаційна робота заслуговує високої оцінки. Результати досліджень, отримані Регедою Л.В. мають наукову новизну та важливе практичне значення. Вони повністю відображені у висновках і не мають розбіжностей із висновками дисертації. Анотація відображає основний зміст дисертаційної роботи, не містить положень чи ідей, що не наведені в основному тексті.

Матеріали дисертації повністю висвітлені в опублікованих автором наукових працях (8 публікацій, 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 фахових видань України і 4 публікації у матеріалах доповідей наукових конференцій).

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. Для всіх публікацій у співавторстві чітко зазначено особистий внесок дисертанта.

Таким чином, дисертаційна робота «Біологічні особливості видів роду *Pholiota* (Fr.) P. Kumm. у культурі» є завершеною науковою працею і відповідає вимогам «Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 06.03.2019 р., а її автор – Регеда Любов Володимирівна заслуговує присвоєння їй наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент:

кандидат біологічних наук,  
старший науковий співробітник,  
доцент кафедри фітопатології  
ім. акад. В.Ф. Пересипкіна  
Національного університету біоресурсів  
і природокористування України

Н.М. Волощук

