

## ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертаційну роботу**  
**Решетник Катерини Сергіївни**  
**«Вплив лазерного опромінення міцелію на інтенсифікацію ростових**  
**параметрів деяких видів Basidiomycota»,**  
**представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук**  
**за спеціальністю 03.00.21 – мікологія**

Детальний аналіз тексту дисертаційної роботи Решетник Катерини Сергіївни «Вплив лазерного опромінення міцелію на інтенсифікацію ростових параметрів деяких видів Basidiomycota» та змісту положень, які дисертанткою винесено на захист, дає підстави зробити висновок про значну актуальність представленого рукопису та новизну висвітлених результатів.

**Актуальність дисертаційної роботи.** Станом на сьогодні активно зросли дослідження базидієвих грибів з огляду на досить широке їхнє використання, зокрема для виробництва продуктів харчування, ферментів, харчових добавок та фармацевтичних речовин. Крім того, останнім часом спостерігається значний інтерес до використання грибів або грибних екстрактів як дієтичних добавок. Гриби є величезним і водночас малореалізованим джерелом нових потужних фармацевтичних продуктів. Препарати грибного походження використовуються у сучасній клінічній практиці в таких країнах, як Японія, Китай, Корея та деяких інших. Крім того, гриби є невичерпним джерелом полісахаридів і полісахаридпротеїнових комплексів, які проявляють протиракові та імуностимулюючі властивості, що робить їх надзвичайно важливими для сучасної медицини. Враховуючи вищезазначене, дисертація Решетник К. С. є актуальною та оригінальною працею як за змістом, так і за напрямом.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконувалася на кафедрі ботаніки та екології Донецького національного університету імені Василя Стуса в рамках проектів: НДР № 0115U000090 «Одержання ферментних препаратів, підвищення

продуктивності базидіоміцетів за культивування на відходах в лабораторних та напівпромислових умовах», № 0117U002362 «Отримання антиоксидантів та розробка способів утилізації промислових відходів і біоіндикації на основі вивчення прооксидантно-антиоксидантної системи базидіоміцетів» та № 0120U102962 «Розробка способів підвищення продуктивності рослин і грибів за допомогою LED лазерних систем».

**Метою дисертаційної роботи** є дослідження біологічних особливостей штамів базидієвих грибів *Flammulina velutipes*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus ostreatus* та *Schizophyllum commune* у культурі за дії опромінення LED лазерами.

Для досягнення цієї мети дисертанткою вирішувалися такі завдання:

1) дослідити швидкість радіального росту та морфологічні особливості міцелію штамів базидієвих грибів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus* та *S. commune* за дії лазерного опромінення різною довжиною хвилі;

2) вивчити особливості накопичення біомаси досліджених штамів грибів в умовах використання LED лазерів для фотостимуляції вегетативного міцелію;

3) визначити ефективність використання опроміненого різною довжиною хвилі посівного міцелію досліджених штамів для отримання біомаси;

4) визначити ефективні режими фотостимуляції вегетативного міцелію та встановити тривалість збереження фотоіндукційних змін при поверхневому культивуванні міцелію досліджених штамів грибів;

5) визначити вплив лазерного опромінення міцелію різною довжиною хвилі на вміст білків, полісахаридів, каротиноїдів та активність ферментів у біомасі досліджених штамів грибів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Авторкою дисертаційної роботи отримано результати впливу опромінення LED лазерами довжиною хвилі 405 нм, 532 нм та 635 нм міцелію 5 штамів *F. velutipes*, 3 штамів *L. sulphureus*, 6 штамів *P. ostreatus* та 3 штамів *S. commune* на їхні біологічні особливості. Досліджено ростові параметри та морфологічні особливості

17 штамів 4 видів базидієвих грибів за дії лазерного опромінення в умовах різних енергетичних доз опромінення (25,05–102,5 мДж/см<sup>2</sup>). Показано, що максимальна швидкість радіального росту штамів *P. ostreatus* та *L. sulphureus* спостерігалася за дії лазерного опромінення довжиною хвилі 532 нм, штамів *F. velutipes* – 405 нм, а штамів *S. commune* – 635 нм, при цьому найефективнішою була енергетична доза опромінення 51,1 мДж/см<sup>2</sup>. Отримано результати щодо впливу концентрації глюкози на фотоіндуковану стимуляцію швидкості радіального росту міцелію. Для штамів видів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus* та *S. commune* встановлено, що використання фотоактивованого міцелію при культивуванні на живильному середовищі зі зниженою концентрацією глюкози (8 г/дм<sup>3</sup> та 6 г/дм<sup>3</sup>) сприяє зростанню фотостимулюючого ефекту. Досліджено вплив концентрації глюкози на фотоіндуковану стимуляцію накопичення біомаси міцелію штамів видів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus*, *S. commune*. Для культур *S. commune*, *L. sulphureus*, *F. velutipes* вперше встановлено, що використання опроміненого міцелію при культивуванні на середовищі зі зниженою концентрацією глюкози (8 г/дм<sup>3</sup> та 6 г/дм<sup>3</sup>) сприяє кращому відгуку міцелію на опромінення та дає змогу нівелювати негативний вплив, спричинений зменшенням кількості глюкози в середовищі. Уперше експериментально визначено, що стимулюючий ефект на ростові процеси вегетативного міцелію штамів видів *L. sulphureus* та *S. commune*, який досягається завдяки використанню LED лазерів з низькою енергетичною дозою опромінення (51,1 мДж/см<sup>2</sup>), зберігається протягом 24 годин. Для штамів *L. sulphureus* та *S. commune* вперше досліджено, що фотоактивація міцелію дає змогу знизити вміст посівного матеріалу в живильному середовищі в 1,4 раза без зниження кількості біомаси. Для видів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus*, *S. commune* вперше встановлено ефективність використання лазерного опромінення для збільшення вмісту білка в міцелії. Уперше встановлено стимулюючий ефект на синтез екзополісахаридів штамами *S. commune* та ендо- і екзополісахаридів штамами *F. velutipes*, *P. ostreatus* за дії лазерного опромінення. Уперше здійснено

дослідження впливу концентрації глюкози на вміст та продуктивність каротиноїдів міцелію *L. sulphureus* за дії лазерного опромінення. Показано, що використання фотоактивованого міцелію при культивуванні на середовищі зі зниженою концентрацією глюкози ( $8 \text{ г/дм}^3$  та  $6 \text{ г/дм}^3$ ) сприяє зростанню фотостимулюючого ефекту на накопичення каротиноїдів. Для видів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus* та *S. commune* вперше показано можливість інтенсифікації ферментативної активності за допомогою лазерного опромінення.

**Практичне значення одержаних результатів.** Дисертанткою розроблено способи фотоінтенсифікації ростових та біосинтетичних процесів їстівних та лікарських грибів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus* та *S. commune* за допомогою LED лазерів, які можуть використовуватися для отримання біологічно активних сполук та міцеліальної біомаси у біотехнологічних процесах, що захищено 6 деклараційними патентами України. Уперше встановлена можливість використання лазерного опромінення для регуляції ферментативної активності видів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus* та *S. commune*, що може бути використано під час культивування базидієвих грибів на середовищах різного складу для інтенсифікації процесів біоконверсії субстрату. Запропоновані ефективні режими лазерного опромінення міцелію штамів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus* та *S. commune* для збільшення кількості біомаси та вмісту біологічно активних речовин – полісахаридів і каротиноїдів. Результати досліджень використовуються під час викладання курсів «Біотехнологія» та «Біотехнологія грибів» на кафедрі ботаніки та екології факультету хімії, біології і біотехнологій Донецького національного університету імені Василя Стуса.

**Аналіз дисертаційної роботи.** Робота складається з анотації, вступу, 5 розділів, висновків, списку літератури (344 посилання, з них 196 є іноземними) і 5 додатків. Загальний обсяг роботи складає 225 сторінок. Дисертаційна робота містить 50 рисунків та 4 таблиці. Структура та зміст дисертаційної роботи, стиль та мова написання, якість представлених ілюстрацій відповідають

чинним вимогам до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук.

В **анотації** подано узагальнений короткий виклад основного змісту дисертації, основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни та практичного значення. Наводиться список публікацій за темою представленої роботи із зазначенням особистого внеску дисертантки.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційного дослідження, сформульовано мету та завдання роботи, показано зв'язок роботи з науковими програмами та темами, вказано новизну та практичне значення отриманих результатів, представлено апробацію результатів дисертації, зазначено структуру та обсяг представленої роботи. Загалом, вступ має всі необхідні за вимогами пункти.

У **першому розділі** авторкою представлено сучасні дані щодо вмісту біологічно активних речовин та практичного використання базидієвих грибів *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus* та *S. commune*. Проаналізовано механізм впливу лазерного опромінення та подано загальну характеристику фоторецепторних систем грибів. Описано характер впливу світла на ріст та розвиток грибів та представлено досвід використання штучного світла під час культивування грибів. Узагальнення результатів сучасних досліджень за темою дисертаційної роботи дозволило авторці логічно обґрунтувати мету та вибрані об'єкти дослідження.

У **другому розділі** наведено список досліджених штамів видів *Flammulina velutipes*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus ostreatus* та *Schizophyllum commune*. У дисертаційній роботі використано досить багато методів дослідження: мікологічні, фізіолого-біохімічні та статистичні, що дає можливість говорити про підтвердження достовірності отриманих дисертанткою результатів. Використані у роботі методи дослідження є загальноприйнятими та сучасними.

Результати дослідження викладено в трьох розділах (3-5).

У **третьому розділі** подано результати впливу лазерного опромінення в умовах різних енергетичних доз опромінення (25,05–102,5 мДж/см<sup>2</sup>) на

швидкість радіального росту та морфологічні особливості міцелію досліджених грибів. Визначено, що опромінення довжиною хвилі 532 нм та 635 нм виявилось оптимальним для росту міцелію штамів *P. ostreatus*, 532 нм та 405 нм є оптимальними для росту міцелію штамів *L. sulphureus* та *F. velutipes*, а 635 нм і 405 нм – для *S. commune*. Особливих відмінностей у морфології міцелію колоній *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus*, *S. commune* за дії опромінення не було виявлено. Енергетична доза опромінення при цьому складала 51,1 мДж/см<sup>2</sup>. Встановлено, що використання фотоактивованого міцелію при культивуванні на середовищі зі зниженою концентрацією глюкози сприяє зростанню фотостимулюючого ефекту. Подано результати дослідження кількості біомаси міцелію за дії опромінення та визначено оптимальні режими опромінення (для штамів видів *F. velutipes*, *L. sulphureus* та *P. ostreatus* це довжина хвилі 532 нм, а для *S. commune* – 635 нм). Показано, що ефект фотоіндукованої стимуляції росту міцелію знижується з часом (через 24 години зберігання у видів *L. sulphureus*, *P. ostreatus*, *S. commune*, а *F. velutipes* – в перші 24 години після опромінення). Визначено, що фотоактивація міцелію дає змогу знизити (в 1,4 раза) кількість внесення інокулюму в середовище.

У **четвертому розділі** надаються результати щодо використання лазерного опромінення для збільшення кількості білка міцелію *F. velutipes*, *L. sulphureus*, *P. ostreatus*, *S. commune*, екзополісахаридів *S. commune* та ендо- і екзополісахаридів *F. velutipes*, *P. ostreatus*. Досліджено вплив концентрації глюкози на вміст та продуктивність каротиноїдів у міцелії *L. sulphureus* за дії лазерного опромінення. Досліджено, що використання фотоактивованого міцелію при культивуванні на середовищі зі зниженою на 20 % концентрацією глюкози (8 г/дм<sup>3</sup>) сприяє зростанню вмісту каротиноїдів та їх продуктивності відносно неопроміненого міцелію на середовищі з концентрацією глюкози 10 г/дм<sup>3</sup>. Для вищезазначених параметрів визначено оптимальну довжину хвилі опромінення (532 нм для *P. ostreatus*, *F. velutipes* та *L. sulphureus*, а 635 нм для *S. commune*).

У п'ятому розділі показано, що лазерне опромінення сприяє зростанню каталазної та пероксидазної активності культурального фільтрату та гомогенату міцелію досліджених штамів. Встановлено, що найбільший приріст обох видів активності для штамів *P. ostreatus* та *F. velutipes* відбувається у відповідь на опромінення довжиною хвилі 405 нм, штамів *L. sulphureus* – 532 нм, а для штамів *S. commune* – на опромінення довжиною хвилі 635 нм.

У висновках відображені основні результати дисертаційної роботи, які викладені зрозуміло, конкретно і послідовно.

У додатках до дисертаційної роботи наведено дані, що додатково доповнюють результати проведених досліджень, а також список публікацій авторки за темою роботи та відомості про апробацію результатів дисертації.

Детальний аналіз тексту дисертації свідчить про відсутність порушення автором вимог академічної доброчесності. У роботі наявні посилання на відповідні джерела інформації у разі використання ідей, розробок, тверджень, дотримано вимоги норм законодавства про авторське право. Зокрема, у рецензованій дисертації не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації.

**Зауважень** щодо наукової частини представленої дисертаційної роботи, які б негативно впливали на її оцінку, у мене немає. Але потребують відповіді деякі питання:

Вами подано детальний опис пристрою для опромінення, але немає інформації щодо потужності електродвигунів пристрою. Також немає даних щодо програмного забезпечення, яке відповідає за роботу пристрою та джерела електроенергії, яка використовується. Чи відома така інформація?

На початку розділу 4.1. Накопичення полісахаридів штамами *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes* та *Schizophyllum commune* під впливом лазерного опромінення вегетативного міцелію досить докладно подано історію дослідження та виділення полісахаридів з різних видів грибів. На мою думку, цю інформацію доцільно було б розмістити у літературному огляді в межах відповідного підрозділу. Це ж саме зауваження стосується розділу 4.2. Вплив

лазерного опромінення та концентрації глюкози на вміст каротиноїдів та продуктивність міцелію *Laetiporus sulphureus*.

Під час проведення дослідження Вами було використано чітко визначені довжини хвилі когерентного світла, а саме 405 нм, 532 нм та 635 нм. Чим зумовлений такий вибір? У роботі є поодинокі згадки про схожі дослідження для олійних культур. Чи проводились аналогічні дослідження для інших видів рослин? Чи є якась кореляція результатів дослідження порівняно з отриманими Вами результатами?

Вищезазначені дискусійні питання не впливають на загальну позитивну оцінку виконаного дисертаційного дослідження, не зменшують його наукову новизну та практичне значення та не знижують загального позитивного враження від роботи.

Вважаю, що дисертаційна робота Решетник Катерини Сергіївни «Вплив лазерного опромінення міцелію на інтенсифікацію ростових параметрів деяких видів Basidiomycota» є завершеною науковою працею і відповідає вимогам пп. 9, 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами), а її авторка заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.21 – мікологія.

Офіційний опонент:

кандидат біологічних наук, доцент,  
доцент кафедри фізіології,  
біохімії рослин та біоенергетики  
факультету захисту рослин, біотехнологій та екології  
Національного університету біоресурсів  
і природокористування України

О.А. Бойко

