

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Бондарук Світлани Володимирівни

«Біотрансформація біологічно активних речовин чистими культурами базидієвих грибів», подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дисертаційної роботи зумовлена сучасними тенденціями ускладнення трансформації забруднювачів, які мають негативний вплив на живі організми. Цей вплив обумовлений як безпосередньою токсичною дією, так і акумуляцією їх на різних ланках трофічного ланцюга, внаслідок чого різко зростає концентрація небезпечних речовин у навколишньому середовищі.

Щороку в світі синтезуються тисячі нових сполук, деякі з яких залучаються до колообігу речовин у біосфері. Підраховано, що в навколишньому середовищі близько 6 млн. хімічних сполук, 90% з яких – синтетичного походження. Значна кількість з них є біологічно активними речовинами.

Надходження таких речовин у навколишнє середовище пов'язане передусім з антропогенним навантаженням на екосистеми – збільшенням об'ємів промислового виробництва, застосуванням екологічно небезпечних технологій у виробництві, накопиченням небезпечних токсичних відходів, хімізацією сільського господарства тощо. У навколишньому середовищі вони піддаються процесам перетворення, в результаті яких змінюються їх фізико-хімічні властивості, міграційна здатність, токсичність для живих організмів. В більшості випадків механізми саморегуляції екосистем виявляються недостатніми для повної трансформації біологічно активних речовин до нетоксичних сполук, що має негативні екологічні наслідки.

Враховуючи те, що лише для небагатьох видів дереворуйнівних базидіоміцетів проведено дослідження впливу їх міцелію на ксенобіотики і недостатню вивченість процесів біотрансформації біологічно активних речовин представниками цієї групи грибів вважаємо, що обрана тема є своєчасною, науково обґрунтованою та має як теоретичну, так і практичну значущість.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відділі мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України в межах наукових досліджень, що відповідають сучасним напрямкам розвитку мікології та екології і відповідає планам НДР за темами № 468 «Біологічна активність штамів колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ІВК (№ державної реєстрації – 0120U101111)» та № 492 «Наукові засади застосування чистих культур грибів колекції ІВК для біотрансформації синтетичних хімічних сполук та лікарської сировини рослинного походження (№ державної реєстрації – 0125U001329)».

Таким чином, дисертаційне дослідження відповідає актуальним завданням по дослідженню біохімічних властивостей базидієвих грибів та їх придатності у вирішенні практичних питань.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в тому, що на основі досліджень, виконаних особисто автором, уперше з'ясовано біотрансформаційний потенціалу дев'яти штамів (п'яти видів) базидієвих дереворуйнівних грибів з Колекції культур шапинкових грибів ІВК щодо широкого спектра ксенобіотиків (біциклічних амідів, дихлоранілінів, напроксену, диклофенаку та адамантану). Уперше встановлено, що основним шляхом біотрансформації досліджених ксенобіотиків міцелієм вказаних штамів грибів було гідроксилювання.

Теоретичне та практичне значення роботи полягає в суттєвому розширенні та поглибленні наукових уявлень про властивості міцелію дереворуйнівних базидієвих грибів, які можуть бути використані в

біотехнології для отримання цінних метаболітів із використанням міцелію або для біоремедіації навколишнього середовища від забруднювачів. Важливим здобутком у цьому плані зафіксовані шляхи біотрансформації досліджуваних сполук міцелієм базидієвих грибів.

Отримані результати доповнюють сучасні знання щодо методів культивування, зберігання міцелію певних штамів.

Практичне значення отриманих результатів важливе у використанні їх у біотехнологічних процесах, пов'язаних як з біотрансформацією, так і з більшим переліком завдань, метою яких може бути отримання біомаси досліджених штамів або цінних біологічно активних речовин.

Апробація результатів. Основні положення дисертації пройшли широку та різнопланову апробацію на високому науковому рівні. Основні положення роботи доповідалися та обговорювалися на міжнародних, всеукраїнських і регіональних наукових конференціях, що свідчить про їх актуальність, наукову новизну та отримання позитивної оцінки фахівців-міологів. У публікаційному аспекті С.В. Бондарук має необхідний для захисту науковий доробок, що включає 7 наукових праць, з них 2 статті в наукових виданнях, що індексовані у наукометричній базі даних Scopus, 1 стаття в наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України та 4 публікації у матеріалах і тезах конференцій.

Структура та зміст. Дисертаційна робота викладена на 210 сторінках, складається з анотації, списку опублікованих праць, змісту, основної частини, списку використаних джерел (368 найменувань) та двох додатків. Основна частина (127 сторінок) включає вступ, десять розділів і висновки, в яких послідовно висвітлено біотрансформації міцелієм *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma sichuanense*, *Laricifomes officinalis*, *Pleurotus ostreatus*, *Schizophyllum commune* таких біологічно активних речовин (ксенобіотики) як 2,6-дихлоранілін, 3,5-дихлоранілін, адамантан, адамантан-1-ол, адамантан-2-ол, диклофенак, напроксен, N-фенілциклогексанкарбоксамід, N-

циклогексилбензамід та N-циклопентилбензамід. Робота містить 32 рисунка, і 15 таблиць.

Анотація дисертації є змістовною та інформативною, відображає актуальність, мету, завдання, методи дослідження, основні наукові результати, їх новизну та практичне значення. Її зміст відповідає основним положенням наукової праці та дає цілісне уявлення про проведене дослідження.

У **вступі** дисертаційної роботи обґрунтовано актуальність теми дослідження, чітко сформульовано мету та основні завдання роботи, визначено об'єкт і предмет дослідження, наведено методи дослідження, наукову новину, теоретичне та практичне значення отриманих результатів. Вступ відповідає вимогам до структури дисертаційних робіт, відображає сучасний стан проблеми та окреслює напрями її рішення.

Розділ 1 «Теоретичні та практичні засади процесів біотрансформації у грибів» автор починає з розгляду сучасної інтерпретації терміну «біотрансформація» у порівнянні із суміжними поняттями. Далі автором аналізуються особливості процесів біотрансформації у різних груп організмів, окремо проведено обґрунтований аналіз наукових джерел, в яких висвітлюється роль грибних ферментів у біотрансформації ксенобіотиків і використання саме базидієвих грибів у біотрансформації різних типів ксенобіотиків. Загалом перший розділ, виконаний на належному науковому рівні, свідчить про обізнаність автора з сучасним станом дослідження та забезпечує достатню теоретичну основу для подальшого викладення матеріалу дисертації.

У **розділі 2** наведено характеристику штамів, використаних в експерименті та надано відомості про реактиви та склад середовищ, на яких вирощувався поверхневий та глибинний міцелій грибів. Для молекулярно-генетичних досліджень використано комплекс взаємодоповнюючих методів: виділення грибної ДНК та електрофорез в агарозному гелі, ампліфікація

фрагментів ДНК, очищення ПЛР-продуктів та секвенування, філогенетичний аналіз. Наведено матеріали, які були застосовані для кріоконсервації, обґрунтовано наведені інші методи дослідження.

Використаний комплекс методів є достатнім, сучасним і адекватним поставленій меті дослідження, що створює надійну основу для подальшого аналізу здатності грибів до біотрансформації. Загалом другий розділ виконаний на високому науково-методичному рівні. Автором представлено детальний опис матеріалу досліджень, використані сучасні та класичні методики, що забезпечує достовірність отриманих результатів.

Результати експериментів, наведених у **розділі 3** «Молекулярно-генетичні дослідження» дали змогу провести точну верифікацію культур 9 штамів 5 видів дереворуйнівних базидієвих грибів, які були використані у дослідженні. Оскільки колекція культур, зразки з якої були використані в експерименті, зберігається тривалий час, проведення таких досліджень є важливим. Відомо, що протягом тривалого зберігання живих культур можлива зміна морфологічних та культуральних ознак, що може ускладнювати правильне визначення таких культур. Аналіз наведений в цьому розділі має значення не тільки для виконання представленої роботи, але і для подальших досліджень, виконаних на базі колекції з використанням обстежених штамів.

Розділ 4 присвячений дослідженням накопичення міцеліальної біомаси обраних штамів видів базидієвих грибів. Пошук середовищ і їх компонентів для оптимального росту і накопичення біомаси грибами дає змогу підібрати найкращі умови для реалізації біотрансформаційних функцій обраних штамів.

У **розділі 5** «Кріозберігання міцелію дереворуйнівних базидієвих грибів» автор описав модифікацію та впровадження ефективних способів довготривалого зберігання міцелію досліджуваних штамів базидіоміцетів на зерновому та дерев'яних субстратах.

Розділ 6 «Біотрансформація циклічних амідів міцелієм дереворуйнівних базидієвих грибів» присвячений дослідженню здатності міцелію грибів до

біотрансформації біциклічного амід N-циклогексилбензаміду, N-фенілциклогексанкарбоксаміду та N-циклопентилбензаміду. Доведено, що найвищий рівень біодеградації N-циклогексилбензаміду має міцелій *F. pinicola* 361, який забезпечив ступінь розкладання сполуки на 91,8%.

У розділі 7 надаються результати досліджень біотрасформації дихлоранілінів міцелієм базидієвих грибів під час глибинного культивування. Отримані результати вперше повідомляють про властивість базидіоміцетів перетворювати досліджувані дихлораніліни на гідроксильовані метаболіти.

У розділі 8 «Біотрансформація активних фармацевтичних інгредієнтів міцелієм базидієвих грибів» автор висвітлює здатність міцелію обраних штамів грибів здійснювати деградацію активних фармацевтичних інгредієнтів: диклофенаку та напроксену.

Розділ 9 присвячений здатності міцелію базидієвих грибів до біотрансформації адамантану. Найефективнішим у перетворенні адамантану на адамантанол виявився міцелій штаму *L. officinalis* 2498.

Треба відмітити, що досліджуючи здатність до трансформації речовин наведених в трьох попередніх розділах, автор також зосередився і на шляхах біотрансформації досліджених ксенобіотиків,

У розділі 10 автор зосередився на всебічному аналізі отриманих результатів. **Хоча у назві розділу і були зазначені практичні рекомендації, однак відокремити їх з тексту важко.**

Автор наводить 8 висновків. В них відображені основні постулати, які автор виносить на захист дисертації. Висновки є логічними, обґрунтованими та повністю відповідають поставленими завданням. Отримані результати поглиблюють уявлення про здатність базидієвих грибів до розкладання ряду речовин та формують науково обґрунтовану основу для розроблення ефективних препаратів для здійснення біотрансформації.

Зауваження та рекомендації:

1. Дуже важко говорити про новизну досліджень автора, оскільки, навіть в розділі, де автор висвітлює новизну матеріалу, часто використовує такі вислови, як «уперше **проведено** дослідження..», «це перше **повідомлення**..». Це скоріше про те, що він вперше робив і про що повідомляв, а не про результат: що ж нового він відкрив, описав, встановив. Здебільшого і висновки мають такий же недолік.
2. В описі практичного значення результатів є речення: «Встановлено скорочення тривалості глибинного культивування досліджених штамів *L. officinalis* удвічі порівно із стандартною процедурою їх глибинного культивування». За рахунок чого відбулось скорочення – це головне досягнення!!!!
3. Автором вказано, що для дослідження відібрані види, що росли на хвойних породах дерев, однак, розуміючи, що більшість з них здатні рости і на листяних породах, не зрозуміло за яким принципом відбирались саме ці види і чи враховувався цей принцип при аналізі отриманих результатів.
4. Відсутнє обгрунтоване пояснення відбору біологічно активних речовин для дослідження.
5. На нашу думку, варто було б розділ 5 «Кріозберігання міцелію дереворуйнівних базидієвих грибів» розмістити наприкінці основного тексту, оскільки він віддаляє читача від основного об'єкту – біотрансформації.
6. Висновок № 3 «Визначивши закономірності динаміки накопичення міцеліальної біомаси обраних штамів в умовах глибинного культивування, встановлено оптимальний для внесення ксенобіотиків для дослідження процесу біотрансформації» незрозумілий. Встановлено оптимальний що.... ???

7. На нашу думку, автору доцільно було б в окремому висновку акцентувати увагу на метаболітах, вперше отриманих в результаті грибної біотрансформації у вашому дослідженні.
8. Вважаю, що спостереження, наведене у розділі 10 : «Відзначено, що кисле рН культуральної рідини в процесі росту міцелію штаму *F. pinicola* 361 може сприяти утворенню більшої кількості гідроксильованих метаболітів або перешкоджати їх подальшій біодеградації, порівняно із міцелієм решти штамів, оскільки лише для цього штаму встановлено утворення гідроксильованих метаболітів для усіх тестованих ксенобіотиків. Це свідчить про перспективність і необхідність продовження детального дослідження впливу показника рН культуральної рідини на процес біотрансформації ксенобіотиків штамми видів базидієвих грибів» заслуговує на місце у висновках, оскільки є дуже важливим для подальшої роботи із залученням базидієвих грибів до біотрансформациї.
9. Автор має чималі здобутки, але результати роботи висвітлені тільки у вітчизняних роботах, хоча отримані дані могли б бути представлені і в закордонних журналах.

Підкреслимо, що ці зауваження і побажання не є такими, які б нівелювали рівень дисертаційної роботи і загалом враження про неї.

Висновок щодо відповідності вимогам і рекомендації. Дисертаційна робота Бондарук Світлани Володимирівни на тему «Біотрансформація біологічно активних речовин чистими культурами базидієвих грибів» є цілісним, актуальним та завершеним науковим дослідженням, що зроблено на основі значного експериментального матеріалу. Методичний рівень, наявність результатів, що відповідають критерію “наукова новизна”, об’єм і структура роботи дозволяють рахувати її відповідною вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах), затвердженого постановою Кабінету

Міністрів України від 23 березня 2016 р. № 261 (у редакції постанови Кабінету Міністрів України від 8 квітня 2026 р. № 426), та Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 р. (у редакції постанови Кабінету Міністрів України від 3 травня 2024 р. №507).

Вважаю, що Бондарук Світлана Володимирівна заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

В.о. директора

Державної установи

«Інститут еволюційної екології НАН України»

д.б.н., проф.

Марина СУХОМЛИН