

ВІДГУК

офіційного опонента **Теслюка Віктора Васильовича** на дисертаційну роботу **Поєдинок Наталії Леонідівни «Біотехнологічні основи інтенсифікації культивування їстівних і лікарських макроміцетів за допомогою світла низької інтенсивності»**, поданої на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

1. Актуальність теми. Потреби промисловості в використанні грибною сировини в різних галузях фармацевтичній, ветеринарній, харчовій, агропромисловій спонукає вчених до розробки або удосконалення технологій культивування грибів. Вирішенню даної проблеми і розробці одного із методів присвячена робота здобувача Поєдинок Н.Л., яка полягає в фоторегуляції прискорення розвитку і біосинтетичної активності їстівних і лікарських макроміцетів в біотехнологіях глибинного та поверхневого культивування з використанням високоефективних джерел штучного світла. На сьогодні розроблена ціла низка біотехнологічних процесів з використанням фотоінтенсифікації та фоторегуляції розвитку рослин, які використовують як в оранжереях і тепличних господарствах, так при прискореному виведенні нових сортів, розмноженні цінного посівного матеріалу, при теоретичних дослідженнях в галузі фізіології рослин, біофізики і генетики. Однак, застосування штучного світла в промисловому грибовництві обмежена використанням люмінесцентних ламп, натрієвих ламп високого тиску, металогалогенних ламп, а при глибинному культивуванні практично не застосовується зовсім. Дослідження природного потенціалу макроміцетів здійснюється в межах часової, просторової та функціональної організації на основі аналізу розвитку зв'язків між усіма компонентами мікобіотехнологій. При цьому процеси формування і структуроутворення біомаси макроміцетів і цінних метаболітів, в яких механізми саморегуляції частково або майже повністю замінені на механізми штучної регуляції, практично не виявлені. Не дивлячись на значний прогрес у вивченні фоторецепції та фотоморфогенезу грибів, використання світла сильно ускладнюється неоднозначністю цього фактора для

різних грибів і різноманіттям ефектів його прояви. Тому актуальним є: розробка наукових основ використання низькоінтенсивного світла для модельного вивчення як об'єктів управління процесів біотехнологічного культивування цінних видів макроміцетів; дослідження по виявленню найбільш активних ділянок спектра, специфіки біологічних реакцій макроміцетів, що належать до різних систематичних і екологічних груп, на лазерне та імпульсне випромінювання. Відомо, що чутливість грибів до світла змінюється в процесі онтогенезу але практично відсутня інформація про час появи у них фоточутливості і її динаміки в процесі культивування. Нові знання про чутливість їстівних і лікарських макроміцетів до штучного світла на різних технологічних етапах культивування дозволять більш ефективно використовувати природний потенціал цих грибів, і знайдуть практичне застосування при створенні високоефективних біотехнологій. У зв'язку зі збільшенням антропогенного навантаження на навколишнє середовище сучасна наука і практика приділяє все більше уваги відтворенню в культурі різних видів макроміцетів та збереженню їх у спеціальних колекціях. Однак, при цьому виникають проблеми з пророщуванням спор. Важливим є виявлення факторів, що впливають на реалізацію фотоіндукованих змін у макроміцетів, тривалість й пролонгованість фотоіндукованих змін. Усе це в комплексі і визначає актуальність рецензованої роботи.

2. Ступінь достовірності сформульованих наукових положень та висновків дисертації

Наукові положення та висновки логічно впливають з фактичного матеріалу і носять об'єктивний характер, оскільки обґрунтовані результатами досліджень. У дисертаційній роботі Поєдинок Н.Л. використано великий обсяг експериментального мікологічного матеріалу: чисті культури і споровий матеріал 24 штамів з 11 видів, 10 родів, 4 порядків, 2 відділів *Ascomycota* и *Basidiomycota* з Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІВК). Для дослідження цього матеріалу автором застосовано сучасні методи: фотобіологічні з використанням

енергоефективних джерел штучного світла з контрольованими спектральними і енергетичними характеристиками, мікробіологічні і мікологічні, біохімічні, біотехнологічні та методи статистичного аналізу даних.

Дисертаційне дослідження виконане в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України в межах трьох наукових тем і 6 грантів, в ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», в межах двох наукових тем.

3. Наукова новизна роботи.

Наукова новизна одержаних результатів відображена автором у наступних положеннях :

- вперше запропоновано високоефективні методи цілеспрямованої регуляції біосинтетичної активності макроміцетів і інтенсифікації технологічних етапів їхнього вирощування за допомогою світла низької інтенсивності різної когерентності та спектрального складу, що дозволяють індукувати проростання спор, скоротити терміни культивування, зменшити кількість посівного матеріалу при інокуляції субстратів, збільшити вихід біомаси та біологічно активних компонентів при глибинному культивуванні, а також збільшити урожайність плодових тіл та їх якість при твердофазному вирощуванні;

- вперше виявлено, що основні зміни, викликані короткочасним опроміненням світлом низької інтенсивності у макроміцетів на різних стадіях онтогенезу, мають пролонговану дію та не потребують подальшої активізації світлом. Це дозволило вперше розробити екологічно чисті та енергоекономічні методи інтенсифікації технологічних етапів культивування макроміцетів шляхом активації їх посівного матеріалу короткочасним світловим впливом.

- вперше встановлена тривалість збереження фотоіндукованої активності посівного міцелію та її динаміка при поступових пересівах і зберіганні. Виявлено, що реалізація фотостимулюючого ефекту залежить від способу культивування макроміцетів, концентрації джерел азоту й вуглецю у живильних середовищах. Встановлено, що короткочасне опромінювання

світлом низької інтенсивності викликає зміни трофіки макроміцетів, при цьому зростає ефективність використання джерела вуглецю, що в свою чергу підвищує їх фотоіндукційну ростову активність при культивуванні на середовищах із більш низькими концентраціями глюкози при глибинному культивуванні.

- вперше для *I. obliquus* розроблено й апробовано поживне середовище зі зниженим вмістом азоту для підвищення фотоіндукційного стимулюючого ефекту при одержанні меланіну, каталази, позаклітинної тирозинази та поліфенолоксидази, а також внутрішньоклітинної пероксидази. Виявлено достовірно значні зміни рівня активності ферментів *I. obliquus* після дії червоного та синього низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НІЛВ), зокрема тих, які каталізують синтез меланіну (поліфенолоксидази і тирозинази).

- вперше після опромінювання світлом низької інтенсивності в жирнокислотному профілі макроміцетів виявлені зміни, що полягають у зменшенні кількості ненасичених жирних кислот;

- вперше для макроміцетів встановлена достовірна перевага використання низькоінтенсивного лазерного випромінювання замість некогерентного світла низької інтенсивності та імпульсного світла різної когерентності порівняно із безперервним для стимуляції росту, антимікробної та ферментативної активності, синтезу меланіну й полісахаридів, яка виражається в додатковому збільшенні ростових показників і виходу біологічно активних речовин (10-150%).

- вперше експериментально доведено, що світло низької інтенсивності може виступати як стимулятор біологічної активності не тільки для грибів, які потребують освітлення на етапі формування плодових тіл, але і для виду *Agaricus bisporus* всі етапи плодоутворення якого проходять за відсутності світла.

Одержані нові, науково обґрунтовані теоретичні та експериментальні результати дослідження фоточутливості макроміцетів до світла низької інтенсивності з різними спектральними і енергетичними характеристиками, які

у сукупності доповнюють і розширюють наші уявлення про фундаментальні процеси фоторецепції макроміцетів.

4. Відповідність дисертації паспорту спеціальності

Сформульовані у роботі мета та задачі досліджень, висновки відповідають обраному напрямку наукових досліджень та спеціальності – 03.00.20 біотехнологія (біологічні науки).

5. Зв'язок роботи з науковими тематиками та планами

Робота виконувалась згідно планів комплексних тем науково-дослідницької роботи відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, зокрема, за темами «Біологічні властивості лікарських макроміцетів та шляхи біотехнологічного використання окремих видів в Україні» (№ д/р 0100U000062), «Фізіолого-морфологічна характеристика лікарських макроміцетів та їх біосинтетична активність у культурі» (№ д/р 0104U009743), «Біологічні властивості сапротрофних макроміцетів в культурі» (№ д/р 0110U001264) та в ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» з 2013 по 2015 р. у рамках наукових тем «Вивчення молекулярно-генетичних і клітинних механізмів стійкості рослин до абіотичних факторів для покращення їх адаптаційних якостей до несприятливих умов навколишнього середовища» (№ д/р 0112U001597) и «Вивчення антибактеріальної активності макроміцетів» (№ д/р 0115U002083).

Фінансування роботи підтримано грантами «ДФФД-БРФФД-2005» «Фактори регуляції біосинтетичної активності лікарських грибів» (№ д/р 0105U006780), «ДФФД-БРФФД-2007» «*Cordyceps militaris* – новий об'єкт сучасної біотехнології: фізіологічно активні сполуки, механізми регуляції, біологічна дія» (№ д/р 0105U00678), «ДФФД-БРФФД-2009» «Біологічні особливості макроміцетів різних екологічних груп в чистій культурі» (№ д/р 0109U007524), «ДФФД-РФФД-2009» «Біологічні основи інтродукції макроміцетів в культуру» (№ д/р 0109U007523), грантом НАН України на виконання інноваційного проекту «Розробка та підготовка до впровадження

інтенсивної технології вирощування їстівних та лікарських грибів на основі енергоефективних систем штучного освітлення» (№ д/р 0111U003274) (2011 р.), грантом на виконання спільного українсько-білоруського науково-технічного проекту «Розробка біотехнологій інтенсифікації культивування цінних видів їстівних та лікарських грибів у промислових умовах Білорусі та України» (№ д/р 0112U006116) (2011-2013 р.).

6. Повнота висвітлення наукових положень, висновків та змісту дисертації в опублікованих працях

Результати досліджень викладено у 21 статті, що є науковими фаховими виданнями України, 1 розділ у монографії, у 3 патентах на винахід, 4 деклараційних патентах та 2 патентах на корисну модель, опубліковано 26 тез у матеріалах міжнародних і всеукраїнських з'їздів, конгресів і конференцій. Зміст автореферату повністю відповідає змісту й основним положенням дисертації.

7. Загальна структура роботи

Дисертаційна робота Поєдинок Н. Л. за своєю структурою відповідає вимогам до оформлення дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук. Робота складається зі вступу, 7 розділів, узагальнення, висновків та списку опрацьованих літературних джерел, який включає 673 найменування. Основний текст дисертації викладено на 387 сторінках, який містить 47 таблиць, 45 рисунків.

Автореферат відповідає змісту дисертації.

8. Аналіз роботи по розділах

У **Вступі** здобувачем сформульована мета досліджень визначені завдання роботи, обґрунтовує її наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, переконливо доводить їх актуальність.

У **першому розділі** автором проведено ретельний огляд сучасного стану і перспективи використання макроміцетів, як продуцентів харчової біомаси та біологічно активних речовин; головні принципи і сучасні біотехнологічні тенденції інтенсивного культивування їстівних і лікарських грибів; фактори

регуляції росту, біосинтетичної активності макроміцетів і методів їхньої інтенсифікації. Представлені основні досягнення й проблеми у вивченні фотоморфогенезу й механізмів фоторецепції вищими грибами, роль джерел штучного світла в дослідженні грибів і фоторегуляції їхнього метаболізму.

Огляд літератури написаний ґрунтовно із залученням значної кількості сучасних вітчизняних та іноземних наукових джерел з досліджуваної тематики. Наприкінці «Огляду літератури» автором зроблено короткий підсумок і обґрунтовано необхідність проведення досліджень, яким присвячена дисертаційна робота. Це, з нашої точки зору, важливо, оскільки дозволяє краще зрозуміти представлений у роботі експериментальний матеріал.

У другому розділі «Об'єкти і методи дослідження» дисертаційної роботи використано і детально викладено широкий спектр найсучасніших біологічних методів дослідження. Необхідно відмітити, що у цьому розділі систематизовано об'єкти досліджень, наведено програму і методику досліджень, охарактеризовано вихідний матеріал, усі проведені з ним маніпуляції та відповідні аналізи. Зокрема, коротко описано використані методи та підходи культивування макроміцетів, чітко викладено біохімічні, біотехнологічні та фотобіологічні методи та статистичної обробки одержаних даних. Підкреслено ті модифікації методів, які були застосовані автором для підвищення ефективності досліджень.

У третьому розділі «Підготовка та активація посівного матеріалу» автор характеризує: чутливість базидіоспор *A. bisporus*, *F. velutipes*, *G. applanatum*, *G. lucidum*, *H. erinaceus*, *L. edodes* і *P. ostreatus* до світла різної довжини хвилі і когерентності в безперервному і імпульсному режимах; визначає фази онтогенезу макроміцетів, на якій світловий вплив викликає максимальну стимуляцію їх біологічної активності та закономірності їх реакцій на світлові впливи.

Четвертий розділ «Чинники, що визначають реалізацію фото стимулюючого ефекту в процесі культивування» присвячений розгляду впливу способу культивування і концентрація джерела вуглецю в живильному середовищі на фотоіндуковану ростову активність макроміцетів. В кінцевому

результаті детально розглянуто і підсумовано Чинники, що визначають реалізацію фотостимулюючого ефекту в процесі культивування.

П'ятий розділ присвячений розробці науково обґрунтованих методів інтенсифікації культивування їстівних і лікарських макроміцетів при поверхневому і глибинному культивуванні на рідких живильних середовищах. У цьому розділі розглянуто фоточутливість макроміцетів до світла низької інтенсивності з різними характеристиками і встановлені загальні закономірності та індивідуальні особливості їх реакцій на світлові впливи та визначено ефективні параметри світлової обробки, що дозволяють одержувати найбільшу стимуляцію росту і цілеспрямовано регулювати біосинтетичну активність.

У шостому розділі «Інтенсифікація технологічних процесів твердофазного культивування макроміцетів» продемонстровано перспективність фотоактивації посівного матеріалу промислово культивованих видів їстівних і лікарських грибів (*Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*, *Flammulina velutipes*, *Hericiium erinaceus* і *Agaricus bisporus*).

Сьомий розділ дисертації присвячений узагальненню та аналізу отриманих результатів, а також перспективам їх практичного використання в мікобіотехнологіях.

Позитивним, є те, що після подачі результатів дослідження за дисертаційною роботою автор проводить їхнє узагальнення. Наведений у роботі підсумок дозволяє виокремити найважливіші теоретичні та практичні результати дисертаційної роботи, а також ставить багато нових наукових напрямів, вирішення яких відкриває простір для подальших досліджень, як фундаментальних, так і практичних.

9. Зауваження щодо змісту дисертації

1. Стор. 14–17 дисертації: “Уперше...” вислів логічно подати одним блоком.
2. Перший розділ досить насичений і на мій погляд його обсяг необхідно було б систематизувати і зробити коротшим.

3. В кінці відсутній узагальнюючий висновок по розділу 1.
 4. Окремі методики досліджень загальновідомі визначення полісахаридів із наведеними формулами (масова доля) стор. 94, (концентрація робочого розчину) стор. 95 тому їх можна було б вилучити і обмежитися посиланнями.
 5. В авторефераті для кращого сприйняття його структуру необхідно вибудувати по розділах як у дисертації.
 6. Бажано було б в авторефераті деталізувати назву розділу 7, зокрема це стосується дуже цікавого питання практичного використання одержаних результатів.
 7. В роботі відзначається висока ефективність використання світла низької інтенсивності в сучасних мікобіотехнологіях для підвищення продуктивності процесу культивування, однак відсутні економічні розрахунки.
 8. На с. 285 - 303 наведено заключення по дисертаційній роботі. Воно дуже насичене описовим матеріалом. Доцільно було б узагальнюючу частину матеріалу привести у вигляді схем.
 9. Висновок 7 дисертації та автореферату обтяжливий. Певні його пункти доцільно було б перенести до відповідних заключень.
 10. Рекомендації виробництву можна було б подати більш розширено.
- Утім, викладені вище зауваження мають рекомендаційний характер і не впливають на загальне позитивне враження від роботи.

10. Загальний висновок

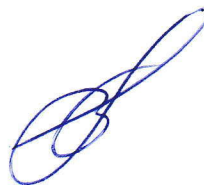
Загальний аналіз дисертаційної роботи Н. Л. Поєдинок свідчить, що вона є самостійним завершеним науковим дослідженням, обрана тема є актуальною, експериментальні дослідження виконані на належному методичному та науковому рівні, отримані дані є новими і мають важливе загальнотеоретичне та прикладне значення у біотехнологічній галузі.

Усе вищесказане дозволяє зробити висновок, що дисертаційна робота **Поєдинок Наталії Леонідівні ««БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ КУЛЬТИВУВАННЯ ЇСТІВНИХ І ЛІКАРСЬКИХ**

МАКРОМІЩЕТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ СВІТЛА НИЗЬКОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ», повністю відповідає вимогам п. 10 Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент,

Завідувач кафедри сільськогосподарських машин та системотехніки ім. акад. П.М. Василенка
Національного університету біоресурсів та природокористування України
доктор сільськогосподарських наук,
професор



В. В.Теслюк

