

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Заступник директора Інституту ботаніки
ім. М.Г. Холодного НАН України
д.б.н., с.н.с. Оксана ВІНОГРАДОВА



_____ 2024 р.

ВИТЯГ

з протоколу № 3
розширеного засідання
відділу мікології

Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України

від 3 червня 2024 р.

ПРИСУТНІ: д.б.н., проф. Гелюта В.П. (головуючий), д.б.н., проф. Бісько Н.А., д.б.н., с.н.с. Придюк М.П., к.б.н., с.н.с. Андріанова Т.В., к.б.н., с.н.с. Гайова В.П., к.б.н., с.н.с. Тихоненко Ю.Я., к.б.н. Ломберг М.Л., к.б.н., с.н.с. Митропольська Н.Ю., к.б.н. Михайлова О.Б., к.б.н. Зикова М.О. (секретар засідання), к.б.н., м.н.с. Шевченко М.В., асп. Атаманчук А.Р., асп. Богославець О.М., асп. Бондарук С.В., асп. Кернер А.О. (відділ мікології), к.б.н. Нипорко С.О. (відділ фікології, ліхенології та бріології), д.б.н., с.н.с. Веденичова Н.П. (відділ фітогормонології), к.б.н., с.н.с. Круподьорова Т.А. (Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України), к.б.н., доц. Джаган В.В. (Київський національний університет ім. Тараса Шевченка).

Порядок денний:

1. Наукова доповідь Аліси Русланівни Атаманчук «Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі»

СЛУХАЛИ:

Наукову доповідь Аліси Русланівни Атаманчук «Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі» – апробація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія. Дисертаційна робота виконувалась у відділі мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

Науковий керівник: Бісько Ніна Анатоліївна, доктор біологічних наук, професор, головний науковий співробітник відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

Тема дисертації: «Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі», затверджена на засіданні вченої ради Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ, протокол № 18 від 21 грудня 2020 року.

УХВАЛИЛИ:

Затвердити висновок про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Аліси Русланівни Атаманчук «Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі».

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення
результатів дисертації
відділу мікології
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
Аліси Русланівни Атаманчук
на тему:

«Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі»,
поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 Біологія спеціальності 091 Біологія

Обґрунтування вибору теми дисертаційного дослідження.

Зважаючи на широкий спектр біологічної активності грибів роду *Xylaria* та їх потенційне використання у біотехнологічних цілях, з'ясування біологічних особливостей нових штамів видів роду *Xylaria* у культурі є актуальним. До початку нашого дослідження були відсутні відомості щодо продукції біологічно активних речовин штамми видів роду *Xylaria* українського походження. У той же час у сучасній науковій літературі зафіксовано, що серед метаболітів, синтезованих представниками роду *Xylaria*, виявлені різні класи сполук, такі як терпени та терпеноїди, стероїди, полісахариди, феноли тощо. Багато з цих речовин проявляють антибактеріальну, антифунгальну, цитотоксичну, антивірусну, антихолінестеразну та інші біологічні активності. З огляду на це, інтерес до представників роду *Xylaria* як продуцентів біологічно активних речовин для фармакологічних цілей зростає, а дослідження факторів, що впливають на ріст та метаболічну активність цих грибів *in vitro* є доцільним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами, планами. Робота виконана у відділі мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України та пов'язана з науково-дослідною темою відділу № 468 «Біологічна активність штамів Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ІВК (№ державної реєстрації – 0120U101111)» відповідно до планів НДР.

Мета і завдання дослідження.

Мета роботи – дослідити біологічні особливості штамів видів роду *Xylaria* за різних умов культивування. Для досягнення мети були поставлені такі **завдання**:

1. Виділити нові штамів видів роду *Xylaria* із природного матеріалу з різних географічних зон України і поповнити ними Колекцію культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного (ІБК).

2. Встановити особливості росту вегетативного міцелію виділених штамів, його морфологічні характеристики на живильних середовищах різного складу.

3. Із використанням методів молекулярної біології з'ясувати генетичну різноманітність штамів, виділених у культуру та підтвердити їхню видову приналежність.

4. Оцінити вплив підвищених температур на життєздатність міцелію штамів видів роду *Xylaria*.

5. Оцінити антагоністичну здатність штамів видів роду *Xylaria* щодо інших грибів.

6. Дослідити динаміку росту та синтезу ендо- та екзополісахаридів окремими штамми в умовах глибинного культивування.

7. Дослідити динаміку вмісту фенольних сполук у біомасі та культуральній рідині окремих штамів видів роду *Xylaria*.

8. Дослідити динаміку антиоксидантної активності біомаси та культуральної рідини окремих штамів видів роду *Xylaria*.

9. Встановити вміст і продуктивність синтезу меланінів окремими штамми видів роду *Xylaria*.

10. Оцінити антибактеріальну здатність біомаси та культуральної рідини окремих штамів видів роду *Xylaria*.

Об'єкт дослідження – чисті культури 28 штамів 7 видів роду *Xylaria*.

Предмет дослідження – біологічні особливості штамів видів роду *Xylaria* у культурі.

Основні методи дослідження – для культивування об'єктів дослідження використовували різні методи (стаціонарне, глибинне культивування), тривалість та живильні середовища різного складу, в залежності від завдання окремих експериментів. Морфологію колоній та мікроструктури міцелію досліджували за допомогою світлової та сканувальної електронної мікроскопії. Для молекулярно-генетичних досліджень гени, що кодуєть β-тубулін (TUB2), другу субодиницю РНК-полімерази II (RPB2) та внутрішній транскрибований спейсер ядерної рДНК (ITS) ампліфікували за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції з використанням загальноживаних праймерів. Якість та кількість ампліфікованої ДНК оцінювали за допомогою гелю елетрофорезу ДНК

в агарозному гелі. Секвенування проводили методом Сенгера. Філогенетичні дерева були побудовані в MEGA v. 1.1 за допомогою методів приєднання сусідів (Neighbour-Joining) і максимальної правдоподібності (Maximum Likelihood). Антагоністичну здатність міцеліальних культур визначали за допомогою тесту з подвійною культурою. Загальний вміст фенольних сполук оцінювали з використанням реактиву Фоліна-Чокальтеу. Антиоксидантну здатність досліджуваних екстрактів біомаси та культуральної рідини визначали за допомогою методу знешкодження вільних радикалів 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH). Екстракцію ендо- та екзополісахаридів із біомаси та культуральної рідини проводили загальноприйнятими методами. Екстракцію меланінів із біомаси проводили розчином луку з подальшим осадженням кислотою. Для підтвердження належності пігментів до меланінів застосовували комплексний підхід, що включав хімічні тести на розчинність, якісні реакції та спектрометричні дослідження (УФ- та Раман спектроскопію). Антибактеріальну активність визначали загальноприйнятим методом дифузії в агар. Кількісні результати, отримані при порівняльному вивченні штамів у всіх проведених експериментах, оброблено статистичними методами аналізу.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше проведено дослідження морфолого-культуральних характеристик 28 штамів 7 видів роду *Xylaria* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. У результаті експериментальних досліджень на живильних середовищах різного складу з'ясовано комплекс культурально-морфологічних ознак вегетативного міцелію, що мають таксономічне значення. Вперше досліджено антагоністичну здатність усіх штамів видів роду *Xylaria* з Колекції культур ІВК щодо інших грибів, у тому числі опортуністичних патогенів та мікофілів. Уперше встановлено вміст та продуктивність синтезу пігменту меланіну для 10 штамів *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. та охарактеризовано його фізико-хімічні властивості. Вперше отримано відомості щодо динаміки синтезу ендо- та екзополісахаридів у вегетативному міцелії 4 штамів 2 видів *Xylaria*. Вперше встановлено динаміку вмісту фенольних сполук та антиоксидантної активності екстрактів біомаси та культуральної рідини представників роду *Xylaria*. Визначено вплив розчинників для екстракції на зазначені показники. Проведено дослідження антимікробних властивостей екстрактів біомаси та культуральної рідини представників роду *Xylaria*, в результаті яких виявлено антибактеріальну активність екстрактів біомаси та культуральної рідини 10 штамів 5 видів роду *Xylaria* проти двох видів грам-позитивних та трьох видів грам-негативних мікроорганізмів.

Практичне значення отриманих результатів. Поповнено Колекцію культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України 26 штамми 7 видів роду *Xylaria*, які були виділені у чисті культури зі стром, зібраних на території України. За допомогою молекулярно-генетичних методів підтверджено видову приналежність 10 штамів 6 видів роду *Xylaria* з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) та депоновано відповідні нуклеотидні послідовності до міжнародної бази даних GenBank. Детально описано морфолого-культуральні характеристики вегетативного міцелію 7

видів роду *Xylaria*, які доповнюють критерії оцінки таксономічної приналежності штамів при зберіганні *in vitro*. Надано рекомендації щодо зберігання вегетативного міцелію культур видів *Xylaria in vitro*, вказано умови культивування та біологічні особливості штамів. Була виявлена антибактеріальна активність екстрактів біомаси та культуральної рідини 10 штамів 5 видів роду *Xylaria* проти мікроорганізмів з критичної групи пріоритетних бактеріальних патогенів, для яких, згідно з ВООЗ (Всесвітня організація охорони здоров'я), є актуальним пошук нових засобів антимікробної дії. Отримані результати щодо біосинтетичної активності досліджених штамів видів роду *Xylaria* можуть слугувати підґрунтям для відбору штамів-продуцентів та подальшого їх використання у біотехнології.

При виконанні роботи біоетичні норми не були порушені.

Особистий внесок здобувача. Робота є самостійним дослідженням дисертантки, якою було проаналізовано наукову літературу за темою дисертаційного дослідження, виконано експериментальну роботу, узагальнено, інтерпретовано та статистично оброблено одержані дані експериментів. Результати досліджень відображені у публікаціях та дисертації. Дисертаційна робота Аліси Русланівни Атаманчук є результатом самостійних досліджень і не містить елементів плагіату та запозичень. Використані результати та ідеї інших авторів мають відповідні посилання.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації були представлені та обговорені на засіданнях відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Міжнародній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Київ, 2021; Івано-Франківськ, 2023), науково-практичній конференції «Молодь та сучасні проблеми мікробіології і вірусології» (Київ, 2022), Міжнародній науково-практичній конференції «Біотехнологія XXI століття» (Київ, 2023) та Міжнародній науково-практичній конференції «Modern Approaches in the Study of the Plant Kingdom» (Баку, 2023).

Повнота викладення матеріалів в роботах, опублікованих автором. Результати дисертації опубліковані у 9 наукових працях, зокрема одній статті у виданні, що індексується у базі Scopus, двох статтях у наукових фахових виданнях України, одній статті у закордонному науковому фаховому виданні та п'яти матеріалах доповідей конференцій. Матеріали, опубліковані у співавторстві, мають пропорційний внесок здобувача. Права співавторів не порушені.

Список опублікованих праць за темою дисертації

Статті у наукових виданнях, що індексовані у наукометричних базах даних Web of Science та/або Scopus:

1. **Atamanchuk, A., & Bisko, N.** (2024). Isolation and characterisation of melanin pigment from mycelial cultures of *Xylaria polymorpha* (Ascomycota). *Ukrainian Botanical Journal*, 81(1), 8–15. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.01.008>

Статті у наукових фахових виданнях України:

2. **Atamanchuk, A., & Bisko, N.** (2023). Effect of extraction solvents on the phenolic content and antioxidant capacity in *Xylaria polymorpha* and *Xylaria longipes* strains. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 94(3), 5–9. <https://doi.org/10.17721/1728.2748.2023.94.5-9>

Внесок авторів: А.Р. Атаманчук – концептуалізація, одержання експериментальних даних та їх аналіз, написання оригінального рукопису; Н.А. Бісько – концептуалізація, методологія, редагування, фінальне затвердження рукопису.

3. **Atamanchuk, A., & Bisko, N.** (2023). Dynamics of the phenolic constituents and antioxidant activity in submerged cultures of *Xylaria* species. *Biotechnologia Acta*, 16(6), 82–87. <https://doi.org/10.15407/biotech16.06.082>

Внесок авторів: А.Р. Атаманчук – концептуалізація, методологія, одержання експериментальних даних та їх аналіз, написання оригінального рукопису; Н.А. Бісько – концептуалізація, редагування, фінальне затвердження рукопису.

Статті у закордонних наукових фахових виданнях

1. **Atamanchuk, A., & Bisko, N.** (2022). Cultural and morphological characteristics of wood-inhabiting *Xylaria* species from Ukraine. *Plant & Fungal Research*, 5(2), 11–19. <https://doi.org/10.30546/2664-5297.2022.2.11>

Публікації у матеріалах доповідей наукових конференцій

1. **Атаманчук, А.** (2021). Антагоністичні властивості *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. проти *Aspergillus niger* Tiegh., *Mucor racemosus* Fresen. та *Penicillium polonicum* K.W. Zaleski. «Актуальні проблеми ботаніки та екології»: матеріали міжнародної конференції молодих учених (с. 55).
2. **Atamanchuk, A., & Bisko, N.** (2022). Dynamics of biomass and exopolysaccharides production by *Xylaria polymorpha* in submerged culture. “Youth and modern problems of microbiology and virology”: materials of the IV young scientists conference (p.6).
3. **Atamanchuk, A.** (2023). Antioxidant activity of biomass extracts of *Xylaria longipes* Nitschke strains under submerged conditions. “Biotechnology of the 21st century”: materials of the 17th International scientific and practical conference (pp. 32–34).
4. **Atamanchuk A., & Bisko, N.** (2023). Growth of *Xylaria polymorpha* in submerged culture. on “Modern approaches in the study of the plant kingdom”: materials of the international scientific-practical conference dedicated to the “Year of Heydar Aliyev”(pp. 114–115).

5. Атаманчук, А. (2023). Культурально-морфологічна характеристика та антагоністичні властивості *Xylaria carpophila* (Pers.) Fr (Pers.) Fr. «Актуальні проблеми ботаніки та екології»: матеріали міжнародної конференції молодих учених (с. 47).

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень і рекомендацій. Наукові положення дисертації добре обґрунтовані. Обсяг даних, методичний рівень дослідження та теоретичні узагальнення, що лежать в основі дисертаційної роботи, забезпечують високий рівень достовірності та обґрунтованості наукових положень, підтверджуючи висновки автора.

Відповідність змісту дисертації спеціальності, за якою вона подається до захисту. За змістом дисертаційна робота Аліси Русланівни Атаманчук «Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі» повністю відповідає спеціальності 091 Біологія, оскільки ґрунтується на дослідженні різних аспектів біології грибів роду *Xylaria*, зокрема їх біосинтетичних, антимікробних, філогенетичних, культурально-морфологічних характеристиках. У роботі представлено нові наукові та практично значущі результати, які стосуються одного з сучасних напрямків біології, зокрема експериментальної мікології.

Оцінка мови та стилю дисертації. Дисертація виконана фаховою українською мовою, текстове подання матеріалу відповідає стилю науково-дослідної літератури.

2. Констатувати, що дисертаційна робота Аліси Русланівни Атаманчук «Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі» за актуальністю, ступенем наукової новизни, обґрунтованістю, науковою та практичною цінністю здобутих результатів відповідає галузі знань 09 Біологія спеціальності 091 Біологія та 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 3 травня 2024 р. № 507), 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 від 12 січня 2022 р. № 44 (у редакції постанови Кабінету Міністрів України від 3 травня 2024 р. № 507).

3. Рекомендувати дисертацію Аліси Русланівни Атаманчук «Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі» до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

4. Рекомендувати вченій раді Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України затвердити склад разової спеціалізованої вченої ради:

Голова ради:

ГЕЛЮТА Василь Петрович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

Рецензенти:

ВЕДЕНИЧОВА Ніна Петрівна, доктор біологічних наук, провідний науковий співробітник відділу фітогормонології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

ГАЙОВА Віра Павлівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

Офіційні опоненти:

КУЗНЕЦОВА Ольга Віталіївна, кандидат біологічних наук, доцент кафедри біотехнології та безпеки життєдіяльності Українського державного університету науки і технологій, Навчально-наукового інституту «Український державний хіміко-технологічний університет».

КРАСІНЬКО Вікторія Олегівна, кандидат біологічних наук, доцент кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій МОН України.

Головуючий на засіданні,
зав. відділу
мікології, д.б.н., проф.



Василь ГЕЛЮТА

Секретар
відділу мікології,
к.б.н.



Марія ЗИКОВА