

**ВІДГУК**  
**офіційного опонента**  
**кандидата біологічних наук, доцента,**  
**доцента кафедри біотехнології та безпеки життєдіяльності**  
**Українського державного університету науки і технологій**  
**ННІ «Український державний хіміко-технологічний університет»**  
**Кузнецової Ольги Віталіївни**  
**на дисертаційну роботу**  
**Атаманчук Аліси Русланівни**  
**«Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі»,**  
**подану на здобуття наукового ступеня**  
**доктора філософії з галузі знань**  
**09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»**

Дисертаційна робота присвячена дослідженню біологічних особливостей штамів видів роду *Xylaria* у культурі, зібраних на території України та депонованих до Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України: їх культурально-морфологічних та молекулярно-філогенетичних характеристик, особливостей росту за різних умов культивування, біосинтетичної активності, міжвидових взаємодій з іншими грибами, антиоксидантної та антибактеріальної дії екстрактів біомаси та культуральної рідини.

**Актуальність обраної теми.** Обрана тема дисертаційної роботи сучасна та актуальна. Зараз науковцями ведеться активний пошук нових джерел біологічно активних речовин, в тому числі, лікарського призначення, і макроміцети є перспективним об'єктом таких досліджень. Дана наукова робота відкриває практичні можливості з отримання та використання біологічно активних речовин дуже мало вивчених з цього боку грибів роду *Xylaria*, з'ясовує їхню філогенетичну приналежність, антиоксидантну та антибактеріальну активність та перспективність культивування як лікарських грибів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження виконувалося у відділі мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України відповідно до планів НДР за темою № 468 «Біологічна активність штамів Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ІВК» (№ державної реєстрації – 0120U101111).

**Структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 209 сторінках; обсяг основного тексту - 140 сторінок; ілюстративна частина - 56 рисунків та 13 таблиць. Складається із анотації (українською та англійською мовами), списку опублікованих праць, змісту, вступу, 6 розділів, висновків, списку використаних джерел і 3 додатків.

У вступі висвітлено актуальність теми, мету й завдання, наукову новизну, практичне значення, апробацію і особистий внесок здобувача.

У першому розділі проведено аналіз літературних відомостей щодо сучасного стану таксономічних, філогенетичних та екологічних досліджень представників роду *Xylaria*, а також досліджень цих грибів у культурі.

У другому розділі описані матеріали (об'єкти, живильні середовища) і обґрунтовано методи досліджень.

У третьому розділі представлена морфологічна характеристика та культуральні особливості досліджуваних штамів грибів роду *Xylaria* за культивування на агаризованих живильних середовищах різного складу.

У четвертому розділі проаналізовано результати молекулярно-генетичного дослідження з побудовою філогенетичних дерев.

У п'ятому розділі наведено дані антагоністичної активності досліджуваних штамів представників роду *Xylaria* щодо інших грибів (цвілевих, дріжджів, грибів-паразитів).

У шостому розділі здійснено аналіз біосинтетичної активності досліджуваних штамів грибів роду *Xylaria*: динаміки накопичення біомаси, ендо- та екзополісахаридів, фенолів, пігменту, а також даних щодо антиоксидантної та антибактеріальної активності біомаси та культуральної рідини при глибинному та поверхневому культивуванні на рідких живильних середовищах.

Висновки дисертаційного дослідження (загалом 12) доволі конкретно та стисло відображають основні результати виконаної наукової роботи.

**Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх новизна, повнота викладу в опублікованих працях.** Наукові положення і висновки є обґрунтованими, відображають основний вклад дисертанта і досягнення поставленої мети. Результати дисертаційного дослідження оприлюднені у 9 наукових працях (1 статті у виданні Scopus, 2 статтях у наукових фахових виданнях України, 1 статті у закордонному фаховому виданні, 5 матеріалах доповідей наукових конференцій).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Наукова новизна роботи є підтвердженою та значною і міститься у тому, що автором роботи вперше: проведено дослідження морфолого-культуральних характеристик 28 штамів 7 видів роду *Xylaria* з Колекції культур шапінкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН та визначена їхня філогенетична приналежність, з'ясовано комплекс культурально-морфологічних ознак вегетативного міцелію даних штамів, досліджено антагоністичну здатність досліджених штамів видів роду *Xylaria* щодо інших грибів, встановлено вміст та продуктивність синтезу пігменту меланіну та охарактеризовано його фізико-хімічні властивості, отримано відомості щодо динаміки синтезу ендо- та екзополісахаридів, фенольних сполук, визначена антиоксидантна та антибактеріальна активність екстрактів біомаси та культуральної рідини представників роду *Xylaria*.

**Практичне значення одержаних результатів.** Поповнено Колекцію культур шапінкових 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; оформлено Паспорти визначених видів та штамів з рекомендаціями щодо зберігання вегетативного міцелію, умовами культивування та зазначеними біологічними особливостями. Результати виявленої біосинтетичної активності досліджених штамів видів роду *Xylaria* є дієвим підґрунтям для відбору штамів-продуцентів для отримання біологічно активних речовин і речовин лікарського призначення у біотехнології.

**Відсутність порушень академічної доброчесності.** Дисертаційна робота не містить порушень академічної доброчесності. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідні джерела.

**Відповідність теми дисертації профілю спеціальності.** Дисертаційна робота Атаманчук А.Р. відповідає стандарту галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Нижче наведено основні зауваження до змісту та оформлення і викладення роботи, а також питання, що виникли у ході ознайомлення з роботою.

### Зауваження щодо змісту дисертації.

1. «Стационарне культивування. Досліди проводили у колбах Ерленмеєра ємністю 500 мл, які містили 200 мл рідкого середовища ГПД» (С. 43)  
*Ком.: Якщо мова йде про культивування без перемішування на рідких живильних середовищах, то застосовується термін «поверхневе культивування на рідкому середовищі», оскільки і культивування на агаризованих середовищах теж можна назвати «стаціонарним».*
2. «Відфільтровану та висушену міцеліальну біомасу, отриману методом глибинного та стаціонарного культивування, подрібнювали до порошкоподібного стану. До грибної біомаси додавали розчинник у співвідношенні 1:5» (С.47).  
*Ком.: Не дуже зрозуміло з опису методу екстракції біомаси – яким способом руйнували клітинні стінки грибів для вилучення досліджуваних речовин. Якщо це був спосіб розтирання, то який із них був застосований – необхідно було це уточнити.*
3. «Строми, з яких було виділено міцеліальні культури, депоновано до Національного гербарію України» (С. 53), «наведені вище описи морфологічних ознак плодових тіл є стислими і включають основні характеристики» (С. 57)  
*Ком.: Строми і плодові тіла у аскоміцетів – це не ідентичні терміни.*
4. «Через тиждень культивування спостерігається поява радіально розташованих строматичних утворень ближче до периферії колоній» (С. 58)  
*Ком.: Не можна визначити на цьому етапі культивування без додаткового дослідження, що це саме строматичні утворення, а не склероції, наприклад.*
5. «внаслідок чого вони набувають темно-сірого забарвлення різних відтінків (R. L1 23k; L1 23i; L1 23b)» (С. 58)  
*Ком.: Позначення кольорів за міжнародною системою необхідно було відзначити у Матеріалах та методах.*
6. На стор. 58-66 наведений опис макроморфологічних особливостей міцеліальних колоній штамів видів *Xylaria*  
*Ком.: Для 10 штамів *X. longipes* наведений 1 загальний опис, для 4 штамів *X. huroxylon* - 1 опис, для 10 штамів *X. polymorpha* – 2 описи: якщо вони за макроморфологічними особливостями не відрізняються, можна би було навести рисунки колоній різних штамів, що дійсно би підтвердило ці описи.*
7. «Загалом найчастіше відмічалось обростання тест-культур грибів колоніями штамів видів роду *Xylaria*» (С. 104)  
*Ком.: На рис. 5.1 варіанти E, F, H та I, а також на рис. 5.3.1 варіанти C та D – навпаки, вказують, що тест-культури обростають колонії штамів видів *Xylaria*.*
8. «Міцелій усіх штамів видів роду *Xylaria* в нашому дослідженні частково або повністю обростав колонії *S. albicans* при сумісному культивуванні, що свідчить про агресивність щодо цього патогену. При цьому для усіх штамів *X. polymorpha*, окрім ІВК 2723, було відмічено зміну морфології колоній, що проявлялась у значному збільшенні продукції повітряних гіф при наростанні на колонію тест-культури» (С. 112-113)  
*Ком.: Оскільки живильне середовище ГПДА містить дріжджовий екстракт, можна би було в обговоренні вказати, що можливо гриб використовує *S. albicans* як додаткове джерело харчування і зміна морфології колоній пов'язана*

саме з цим фактором.

9. Таблиця 6.2.1 (С. 134)

**Ком.:** Коефіцієнт кореляції Пірсона позначається буквою *r* і необхідно було внести його у таблицю, інакше не зрозуміло, що саме за представлені цифри у стовпчиках під назвою «Екстракти біомаси» та «Екстракти культуральної рідини».

10. «Для визначення вмісту меланінів нами було обрано штами виду *X. polytrpha*, оскільки для них спостерігалась інтенсивна пігментація при культивуванні на агаризованому живильному середовищі та рідкому середовищі у стаціонарній культурі.» (С. 140)

**Ком.:** Було би дуже доречно доповнити цей факт рисунками з виглядом міцелію зазначеного виду гриба при поверхневому культивуванні на рідкому живильному середовищі («стаціонарному» культивуванні), оскільки відомо, що при умовах такого культивування макроміцети не завжди синтезують пігменти (і це ми бачимо на рис. 6.1.1 – агрегати міцелію при глибинному культивуванні практично безбарвні).

11. «За параметрами швидкості росту усі культури належали до повільно зростаючих.» (С. 154)

**Ком.:** У висновках необхідно вказати, саме які параметри середньої радіальної швидкості росту міцелію досліджених штамів видів роду *Xylaria* було отримано у ході наукового дослідження.

**Зауваження до оформлення та стилю викладення матеріалу.**

1. У роботі назви виду та роду виділені курсивом, а назви відділів, класів, підкласів, порядків та родин – не виділені: «Згідно з сучасною класифікацією, рід *Xylaria* належить до відділу Ascomycota, класу Sordariomycetes, підкласу Xylariomycetidae, порядку Xylariales, родини Xylariaceae».

**Ком.:** У наукових роботах прийнято всі латинські назви виділяти курсивом.

2. Нумерація деяких рисунків, таблиць та формул здійснена не за вимогами до дисертаційних робіт (3 та 4 цифрами): Рис. 3.1.1., таблиця 2.3.2.1., формула 2.5.1.1.

**Ком.:** Таблиці, рисунки та формули нумеруються 2 цифрами: перша цифра – це номер розділу, друга – номер рисунка, таблиці чи формули по порядку у цьому розділі.

3. Деякі посилання на літературні джерела не дуже зручно шукати у Списку використаних джерел.

**Ком.:** Наприклад, за текстом: «Віссер зі співавторами (2009) здійснили аналіз нуклеотидних послідовностей» (С. 27), а у Списку цей автор наведений у іноземних джерелах: 232. Visser, A. A., Ros, V. I. D., De Beer, Z. W., Debets, A. J. M., Hartog, E., Kuiper, T. W., Læssøe, T., Slippers, B., & Aanen, D. K. (2009).

4. При проведенні статистичного аналізу експериментальних даних зазначено посилання на літературне джерело: Молотов, А. С. (1965). *Элементы вариационной статистики*. Колос.

**Ком.:** треба використовувати більш новітні літературні джерела, наприклад: Атраментова Л.О., Утевська О.М. *Статистика для біологів*. Харків: Видавництво НТМТ 2014, 331 с.

5. Зауважень щодо стилю викладення матеріалу немає. Текст роботи добре сприймається, написаний науковою мовою, зрозумілий, граматичних помилок не зустрічається, дуже рідко – одиничні описки.

**Питання, що виникли під час ознайомлення з роботою.**

1. У списку використаних джерел деякі інформаційні матеріали наведені без зазначення міста видання, редакції, сторінок (С. 158).

*За якою системою складався Список використаних джерел?*

2. «У лунки в гелі для електрофорезу вносили 5 мкл розчину з ДНК та 1 мкл реагенту CSL-Runsafe» (С. 40); «Ампліфікацію проводили у реакційній суміші: 12,5 мкл реагенту DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Scientific, США), 0,5 мкл кожного праймера, 1 мкл ДНК та 10,5 мкл води, з використанням термоциклера» (С. 41)

*За допомогою яких приладів вимірювали такі маленькі об'єми реактивів - 0,5 та 1 мкл?*

3. «Для приготування препаратів використовували вегетативний міцелій у фазі активного росту (5–7 діб) та після тривалого культивування (30 діб). Зразки для світлової мікроскопії готували з використанням дистильованої води або 10% КОН.» (С. 45).

*а) Як саме готувались тимчасові препарати грибного міцелію для світлової мікроскопії?*

*б) Як відбирались зразки вегетативного міцелію?*

4. «Строми з'являються після тижня культивування, вони циліндричні, розгалужені на верхівках» (С. 60)

*Чи змінювались умови культивування штамів грибів роду *Xylaria* на агаризованих живильних середовищах, де було виявлено утворення стромальних структур та поява забарвлення міцелію, наприклад, температури культивування та освітлення?*

5. «Міцеліальні колонії на середовищах ГПДА та МЕА були подібними: білі, оксамитово-повстисті, край колоній нитчастий. Через 7–14 діб культивування з'являється пігментація, утворюється темно-сіре (R. L1, 23k) кільце навколо точки інокуляції» (С.61).

*Чи дійсно за результатами молекулярно-генетичного аналізу всі зібрані та досліджені штами були окремими штамами і не було співпадінь, якщо за культурально-морфологічними ознаками вони практично не відрізнялись у межах виду?*

6. На рис. 6.2.1 – 6.2.8 наведено дані щодо динаміки вмісту фенольних сполук у біомасі та культуральній рідині штамів видів *X. polymorpha* (2 штами) та *X. longipes* (2 штами).

*Чим пояснюється зниження кількості фенольних сполук у біомасі та культуральній рідині досліджених штамів *X. polymorpha* на 5-ту добу культивування, а потім її підвищення? Чи не вважаєте, що більш достовірними є показники кількості фенолів у культуральній рідині?*

7. «Рис. 6.1.5. Динаміка рН при культивуванні штамів видів *X. polymorpha* та *X. longipes* при глибинному культивуванні на середовищі ГПД за температури  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ » (С. 125); «Табл. 6.4.1. Кількісні показники меланіногенезу штамів *X. polymorpha* за умов стаціонарного культивування протягом 30 діб на рідкому живильному середовищі ГПД за температури  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ » (С. 141).

*Як можна пояснити, що при культивуванні на рідких живильних середовищах штамів *X. polymorpha* при глибинному культивуванні відбувається закислення культуральної рідини, а при поверхневому (стаціонарному) – її залуження?*

**Оцінка наукового рівня дисертації, наукових публікацій здобувача, рівня оволодіння науковою методологією.**

Дисертаційна робота Атаманчук Аліси Русланівни на тему «Біологічні особливості видів роду *Xylaria* Hill ex Schrank у культурі» є цілісним, актуальним та завершеним науковим дослідженням, що створено на основі значного об'єму самостійно проведених та проаналізованих наукових експериментів.

Наукові публікації Атаманчук А.Р. відзначаються високим фаховим рівнем. У наукових публікаціях висвітлено основні результати проведених досліджень.

Рівень виконання поставлених наукових завдань є високим і відповідає визначеній меті. Здобувач добре володіє методологією наукових досліджень.

**Висновок.**

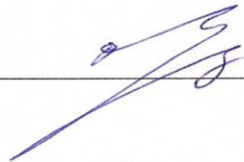
Робота повністю відповідає вимогам наказу МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12.01.2017 р. (зі змінами) та постанові Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» № 44 від 12 січня 2022 року (в редакції постанови Кабінету Міністрів України від 3 травня 2024 року, № 507).

Здобувач Атаманчук Аліса Русланівна заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

28.08.2024

**Офіційний опонент:**

кандидат біологічних наук, доцент  
кафедри біотехнології та БЖД  
УДУНТ ННІ «Український державний  
хіміко-технологічний університет»



Ольга КУЗНЕЦОВА

*Згідно з рішенням кафедри біотехнології та БЖД  
кафедри біотехнології та БЖД  
УДУНТ ННІ «Український державний  
хіміко-технологічний університет»*

