

ВІДГУК

офіційного опонента доктора технічних наук, професора **Стабнікова Віктора Петровича** на дисертаційну роботу **Круподьорової Тетяни Анатоліївни** на тему «**Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків *Agaricales* та *Polyporales* для створення біологічно активних добавок**», подану на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

Актуальність обраної теми дисертаційного дослідження. Сучасні дослідження у сфері біотехнології макроміцетів спрямовані на розробку наукових основ і технологій отримання міцелію їстівних та лікарських грибів, а також на ідентифікацію їхніх біологічно активних метаболітів із встановленою біологічною активністю. Серед доведених біологічних властивостей метаболітів виділяють антиоксидантну, гіпохолестеринемічну, гіпоглікемічну, антибактеріальну, протівірусну, протиракову, імуномодулюючу активність, а також їхню регуляторну дію на серцево-судинну систему.

Формування біологічно активних сполук у макроміцетів залежить від широкого спектра факторів, зокрема умов культивування та складу поживного середовища. Контрольовані зміни фізико-хімічних параметрів дозволяють впливати на інтенсивність росту міцеліальної біомаси грибів та регулювати продукцію цінних метаболітів. Важливим напрямом є дослідження механізмів біосинтезу та адаптаційних стратегій грибів у змінних умовах, що сприяє оптимізації процесів їхнього вирощування, включаючи можливість майбутнього промислового масштабування.

Для розширення можливостей біотехнологічного використання макроміцетів необхідно поглиблене вивчення їхніх фізіолого-біохімічних особливостей, механізмів метаболічної регуляції та впливу зовнішніх факторів на продуктивність грибів. Визначення оптимальних умов культивування та ефективних методів накопичення цільових біологічно активних метаболітів є ключовими завданнями для розробки ефективних технологій отримання міцеліальної біомаси макроміцетів та її подальшого застосування у харчових, біомедичних і фармацевтичних розробках. У цьому контексті дисертаційна

робота Круподьорової Тетяни Анатоліївни «Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales для створення біологічно активних добавок» є актуальною і має практичне значення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана в Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» у рамках прикладних науково-дослідних робіт відділу рослинних харчових продуктів та біофортифікації. Роботу виконано в межах держбюджетних тем: «Розроблення технології створення функціональних продуктів із харчовою добавкою на основі лікарських грибів» (№ державної реєстрації 0109U000473, 2009-2011 рр.), «Вивчення противірусної та протипухлинної активності лікарських грибів з метою створення функціональних продуктів харчування» (№ державної реєстрації 0112U000435, 2012-2014 рр.), «Вивчення антибактеріальної активності макроміцетів» (№ державної реєстрації 0115U002083, 2015-2017 рр.), «Забезпечення оптимальних умов культивування макроміцетів для покращення їх фізіологічної активності та підвищення приросту біомаси» (№ державної реєстрації 0118U003812, 2018-2020 рр.), «Штамоспецифічні особливості росту та синтезу метаболітів перспективних видів базидієвих грибів за різних умов культивування» (№ державної реєстрації 0112U000435, 2021-2023 рр.), «Скринінг базидієвих грибів з високою антиоксидантною активністю, перспективних для підвищення захисних сил організму людини» (№ державної реєстрації 0124U002425, 2024 р.).

Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, поданих у докторській дисертації та їх достовірність. Отримані автором результати досліджень є достатніми та належним чином проаналізованими. За результатами ознайомлення з дисертаційною роботою Круподьорової Т. А., встановлено, що вона є самостійною, завершеною науковою роботою, яка базується на великому обсягу оригінальних експериментальних дослідженнях.

Здобувач продемонстрував глибоке володіння різноманітними методологічними підходами, що підтверджується обґрунтованим вибором методик дослідження. Компетентна інтерпретація отриманих результатів

свідчить про їхнє досконале застосування, що забезпечило повне досягнення поставленої мети та завдань дослідження. Проведений аналіз та всебічне обговорення результатів дисертації засвідчують високий рівень наукової ерудиції здобувача. Ґрунтовний аналіз великого масиву наукової літератури, а також проведення численних експериментальних досліджень підтверджують високий рівень достовірності отриманих результатів. Ступінь обґрунтованості та вірогідності наукових висновків відповідає сучасним вимогам академічних досліджень, що забезпечує їх наукову цінність та практичну значущість. Висновки повністю розкривають отримані результати і є закономірним підсумком проведених досліджень.

Загальна характеристика дисертаційної роботи. Дисертаційна робота має типову структуру, що включає вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, результати власних експериментів (6 розділів), їх узагальнення, висновки, додатки та список використаних джерел. Особливої уваги заслуговує список використаних літературних джерел, що налічує 685 найменувань. Він відзначається не лише значним обсягом, але й високою науковою цінністю, оскільки переважна більшість становлять сучасні англомовні наукові статті, опубліковані в авторитетних міжнародних журналах і монографіях. Ілюстративний матеріал представлений 88 рисунками і графіками та 54 таблицями. Загальний обсяг дисертації становить 523 сторінки, з яких 367 сторінок основного тексту.

Здобувачу належить розробка концепції, формулювання робочих гіпотез, планування та організація експериментальної частини, а також всебічний аналіз отриманих даних, їх інтерпретація, наукове обґрунтування та формування узагальнених висновків.

Текст дисертації викладено академічною мовою, а всі її структурні частини органічно взаємопов'язані. Експериментальний матеріал представлено чітко, лаконічно та з дотриманням логічної послідовності. У процесі викладення результатів автор здійснює ґрунтовний і критичний аналіз отриманих даних, формулює коректні висновки та узагальнення. Обговорення результатів

проведено структуровано, аргументовано. Загальний рівень наукового дослідження є високим.

Зміст і структура дисертаційної роботи повністю відповідають поставленим завданням, а викладення основних результатів у процесі розв'язання наукової проблеми чітко узгоджується із сформульованими окремими завданнями дослідження, що відповідають паспорту спеціальності 03.00.20 – біотехнологія.

Наукова новизна одержаних результатів. Вивчено біосинтетичну активність 30 видів макроміцетів – представників порядків Agaricales, Hymenochaetales, Hymenochaetales, Pezizales, Polyporales та Russulales з метою створення біотехнологій отримання цінної міцеліальної біомаси як джерела біологічно активних метаболітів.

Встановлено біосинтетичну здатність видів *Auriporia aurea*, *Hohenbuehelia myxotricha*, *Oxyporus obducens* та *Pseudospongipellis litschaueri* до продукування міцеліальної біомаси, полісахаридів і фенольних сполук. Для видів *Fomitopsis pinicola* та *Lepista luscina* вперше визначено вміст фенольних сполук у міцелії.

Виявлено наявність позаклітинних ферментів: амілази – у *Hohenbuehelia myxotricha*, *Lepista luscina*, *Lyophyllum shimeji*, *Fomitopsis betulina*, *Pseudospongipellis litschaueri*; лакази – у *Auriporia aurea*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Hypsizygus marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *Oxyporus obducens*, *P. litschaueri*; ліпази – у *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *O. obducens*, *P. litschaueri*; уреазы – у *A. aurea*, *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *H. marmoreus*, *L. luscina*, *L. shimeji*, *Pleurotus djamor*, *P. litschaueri*; нітратредуктази – у *L. luscina*.

Встановлено антибактеріальну активність міцелію та культуральної рідини *C. schevczenkovi*, *H. myxotricha*, *O. obducens* і *P. litschaueri*; антиоксидантну активність міцелію та культуральної рідини *A. aurea*, *P. litschaueri* й *O. Obducens*, міцелію *Cyclocybe aegerita*, *Fomitopsis pinicola* та *L. luscina*; протівірусну активність – міцелію *A. aurea*, *F. velutipes*, *L. shimeji*, *P. eryngii* та *F. fomentarius*; протипухлинну активність міцелію виявлено у *A. aurea*, а ранозагоювальну – у *C. schevczenkovi*.

Встановлено здатність досліджених макроміцетів пригнічувати ріст *Mucor* sp., *Penicillium polonicum*, *Pichia kudriavzevii* та штамів *Candida albicans* методом подвійних культур. Вперше показано, що спільне культивування *Lentinula edodes* з *Mucor* sp., *Pleurotus djamor* з *P. kudriavzevii*, *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta*, *Hericium erinaceus* з *C. albicans* та *H. erinaceus* з *P. polonicum* призводить до інтенсифікації виділення антимікотичних метаболітів у культуральне середовище. Вперше показано, що спільне культивування *Coprinus comatus* зі штамми *C. albicans* призводить до збільшення концентрації лакази у культуральному середовищі. Вперше продемонстровано індукцію формування псевдоміцелію у штамів *Candida albicans* в умовах сумісного культивування з певними видами макроміцетів.

Показано, що для збільшення виходу біомаси комерційних штамів *Pleurotus ostreatus* треба додавати синтетичні низькомолекулярні гетероциклічні сполуки – похідні піридину (Івін: N-оксид-2,6-диметилпіридину) та піримідину (Метіур: натрієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину, Каметур: калієва сіль 6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідину), відомі як регулятори росту рослин.

В роботі здійснено оцінку можливості використання 20 видів відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва як потенційних монокомпонентів для створення поживних середовищ, придатних для культивування міцелію, та доведено перспективність використання відходів макаронного, борошномельного та олійно-екстракційного виробництва як основи для отримання міцеліальної біомаси. Запропоновано використання відходу вуглекислотної екстракції насіння амаранту (CO₂-шрот амаранту) для отримання міцелію з цінними біологічними властивостями (антибактеріальною, противірусною, протипухлинною, ранозагоювальною, сорбційною).

Розроблено концептуальну схему створення дієтичних добавок на основі міцелію, яка може слугувати підґрунтям для створення інноваційних продуктів, призначених для профілактики та покращення загального стану здоров'я людини.

Визначено нуклеотидні послідовності ITS-ділянки кластеру рибосомальної

ДНК *Fomitopsis pinicola*. Ідентифіковані послідовності депоновано до міжнародної бази даних GenBank (реєстраційний номер зразка PQ 184654).

Наукова новизна підтверджується 6 патентами України на корисну модель.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані дані забезпечують основу для розробки інноваційних біотехнологій створення нової продукції з різноманітними біологічними властивостями, що може знайти застосування у харчовій, фармацевтичній, сільськогосподарській та інших галузях. Отримано патенти на корисну модель України композицій соусів на основі міцеліальної біомаси *Pleurotus ostreatus*, а також патенти України на корисну модель для культур *Hohenbuehelia myxotricha* та *Phellinus igniarius*, які є продуцентами антимікотичних і антибактеріальних метаболітів відповідно.

Застосування відходів харчової промисловості для створення поживних середовищ відкриває перспективи для оптимізації виробничих процесів, зниження собівартості виробництва, мінімізації кількості відходів та ефективного використання ресурсів, що матиме позитивний вплив на екологічну ситуацію. Отримано два патенти на корисну модель України щодо використання відходів макаронного виробництва та CO₂-шроту амаранту для культивування макроміцетів. Ефективність застосування CO₂-шроту амаранту для інтенсифікації росту міцелію *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii* та *Lyophyllum shimeji* підтверджена актом впровадження на комерційному підприємстві по вирощуванню грибів «Царство грибів» (м. Київ).

Запропонована концептуальна схема створення дієтичної добавки на основі комбінації міцелію макроміцетів *Fomitopsis pinicola*, *Pleurotus ostreatus* та *Trametes versicolor*.

Матеріали дисертаційної роботи інтегровані у навчальні дисципліни «Мікологія», «Мікробіологія з основами вірусології та імунології», «Основи фітотерапії», «Методологія та організація наукових досліджень» для студентів першого та другого рівнів вищої освіти, що навчаються за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія» (Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка).

Повнота викладення основних наукових результатів роботи та апробація дисертації в опублікованих працях. Основні результати дисертаційної роботи представлені у 63 публікаціях, з них 24 статті у рецензованих фахових виданнях, серед яких 12 статей індексовано у міжнародній наукометричній базі даних Scopus (сім Q1–Q3, п'ять –Q4), 7 статей представлено у виданнях, що входять до інших міжнародних наукометричних баз даних, 5 статей опубліковано у наукових фахових виданнях України; 1 розділ у монографії; 6 патентів України на корисну модель. Викладений у дисертації матеріал широко апробований на 32 міжнародних та всеукраїнських науково-практичних конференціях, симпозиумах і конгресах.

Робота не містить порушень академічної доброчесності. У роботі належним чином оформлено посилання на використані ідеї, результати та тексти інших авторів відповідно до вимог законодавства про авторське право. Ознак академічного плагіату, фабрикації чи фальсифікації не виявлено. Для всіх публікацій, виконаних у співавторстві, чітко зазначено особистий внесок дисертанта. Біоетичні норми під час проведення досліджень дотримані.

Ідентичність реферату та основних положень дисертації. Дисертацію та реферат оформлено відповідно до вимог МОН України. Реферат представлений у науковому стилі літературною мовою. Він повністю відображає зміст, структуру та ключові положення дисертації, а його зміст відповідає основним аспектам дослідження та стисло їх висвітлює. Реферат ідентичний основним положенням дисертації, а сама дисертація та реферат оформлені відповідно до вимог МОН України.

Зауваження до дисертаційної роботи

Не зважаючи на загальну позитивну оцінку дисертації слід зазначити наступні зауваження:

1. У тексті дисертації є окремі невдалі словосполучення та стилістичні помилки.

Підпис під рисунком 8: «Вплив рідких середовищ на основі відходів на накопичення міцеліальної біомаси...»

«Найвищий показник продуктивності фенольних сполук...»

«...шрот зародків пшениці продемонстрував найкращі показники росту для всіх досліджуваних штамів *P. ostreatus*»

Вміст екзоферментів макроміцетів.

2. Загальне зауваження щодо підписів до рисунків: підписи часто не надають повної інформації про те, що саме зображено.

Підпис під рисунком 3.3. У підписі немає вказівки, що мається на увазі під цифрами 2, 3, 4 та 5.

Підпис до рисунків 3.4; 3.5. Немає повного пояснення щодо фотографій.

Підпис до рисунків 4.13, 5.8, 5.9. Немає вказівки що позначають латинські літери.

3. При поданні результатів статистичної обробці даних не зрозуміло, серед яких груп проводили аналіз достовірності відмінностей. Це стосується Таблиць 3.1; 3.2.

4. У таблиці 6.7 слід було представити отримані середні значення вмісту жирних кислот у міцелії та культуральної рідини грибів із зазначенням відповідних похибок, що забезпечує наукову коректність поданих даних.

5. У розділі 7 переважно використовується термін «джерело азоту», проте в окремих місцях зустрічається «джерело нітрогену» (таблиця 7.9, 7.10). Для узгодженості термінології варто дотримуватися єдиного варіанту вживання.

6. Як стимулятор росту *Pleurotus ostreatus* запропановано використання N-оксид-2,6-диметилпіридину, який належить до 3 класу небезпеки для людини. Ця речовина використовується як стимулятор росту рослин, але використовувати його як стимулятор росту при культивуванні грибів в рідкому середовищі для подальшого застосування як дієтична добавка навряд чи доцільно.

7. Здобувачем встановлено наявність ферментів, причому для значної кількості видів. Було б доцільно відобразити ці результати у висновках, щоб підкреслити їхню новизну та наукову значущість.

Зазначені зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку роботи та не знижують її наукової значущості й практичної цінності.

Відповідність докторської дисертації встановленим вимогам і загальні висновки. Дисертаційна робота Круподьорової Тетяни Анатоліївни є

завершеним науковим дослідженням, що містить оригінальні результати і є важливим внеском у розвиток сучасної біотехнології грибів. Представлена на розгляд дисертаційна робота вирішує конкретне науково-практичне завдання, містить достовірні та актуальні наукові положення, які не були представлені до захисту раніше.

За актуальністю, обсягом виконаних досліджень, новизною, обґрунтованими науковими результатами, визначенням перспективних практичних напрямів і повнотою представлення дисертаційна робота Круподьорової Тетяни Анатоліївни «Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales для створення біологічно активних добавок» повністю відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій» та вимогам пунктів 7–9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 року та МОН України щодо докторських дисертацій, а її автор, Круподьорова Тетяна Анатоліївна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент
доктор технічних наук, професор,
завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології Національного
університету харчових технологій


Віктор СТАБНІКОВ



завіряю
секретар Г. М. М...
Г. П. М...