

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Круподьорової Тетяни Анатоліївни «Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales для створення біологічно активних добавок», представлену на здобуття наукового ступеню доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

Актуальність теми. Упродовж тисячоліть гриби слугували для людства цінним харчовим і лікувальним продуктом, який поряд з білками, амінокислотами, вітамінами, мінералами, незамінними у харчуванні, містить біологічно активні сполуки. Збір плодових тіл макроміцетів у природних умовах на сьогодні обмежений багатьма об'єктивними причинами, зокрема, скороченням локалітетів їх зростання, забрудненням довкілля тощо. Тому останнім часом підвищується зацікавленість у технологіях отримання міцеліальної біомаси культивованих грибів, яка володіє цінними властивостями, притаманними плодовим тілам грибів і є незабрудненою білковою субстанцією, складом і продуктивністю якої можна маніпулювати, додаючи корисні добавки в середовище культивування. Використання її в якості сировини для харчової промисловості й фармацевтики має великі перспективи. Отже, дослідження біологічних особливостей культивованих макроміцетів й визначення оптимальних умов для їхнього вирощування є **вельми актуальним** завданням, оскільки дозволяє не тільки отримати як фундаментальні відомості щодо специфіки вирощування представників різних класів грибного царства *in vitro*, але й слугує підґрунтям для розробки новітніх біотехнологій для створення цінних дієтичних або лікувальних препаратів. Розробці саме цього наукового напрямку присвячено дисертаційну роботу Тетяни Анатоліївни Круподьорової «Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales для створення біологічно активних добавок», високий ступінь **актуальності** якої не викликає сумніву.

Мету роботи сформульовано чітко, відповідно до преамбули. Для досягнення поставленої мети авторкою визначено конкретні завдання, які дозволили їй у повному обсязі дати відповіді на поставлені питання. Слід відзначити застосування широкого спектру адекватних сучасних **методів дослідження**, серед яких світлова та сканувальна електронна мікроскопія, молекулярно-біологічні (полімеразна ланцюгова реакція, секвенування),

біотехнологічні та мікологічні (культивування макроміцетів та мікроміцетів *in vitro*), мікробіологічні (встановлення антимікробної, противірусної активностей), біохімічні (екстрагування, вивчення метаболічних змін), хімічні (гравіметрія), фізико-хімічні (потенціометрія, УФ-спектрометрія), медико-біологічні (встановлення протипухлинної, ранозагоювальної активностей).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. В основу роботи покладено результати, отримані авторкою у відділі рослинних харчових продуктів та біофортифікації Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» в рамках виконання шести прикладних науково-дослідних робіт НДР впродовж 2009 – 2024 рр.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. Дисертанткою проведено коректну статистичну обробку результатів, їхня достовірність не викликає сумнівів. Сформульовані висновки цілком відповідають змісту роботи й одержаним результатам.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукові здобутки даної роботи характеризується високим ступенем новизни. Подібне масштабне комплексне дослідження значної кількості видів культивованих макроміцетів за широким спектром показників раніше не проводилося. Конкретні нові дані і встановлені для певних видів грибів характеристики наведені у відповідному розділі дисертаційної роботи (стор. 38-40) та автореферату (стор. 3-5). В цілому, авторкою запропоновано до захисту результати оригінальних експериментів, значна кількість яких виконувалася вперше.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертаційна робота Т.А. Круподьорової окрім високої теоретичної цінності становить значний практичний інтерес, оскільки містить інформацію, яка може бути використана в розробці сучасних біотехнологічних підходів до отримання й використання біологічно активних речовин, синтезованих макроміцетами в культурі. На особливу увагу заслуговують дослідження антибактеріальної активності екстрактів міцеліальної біомаси та культуральної рідини проти мікроорганізмів з критичної групи пріоритетних бактеріальних патогенів, для яких є актуальним пошук нових засобів антимікробної дії. Спираючись на отримані результати щодо біосинтетичної активності досліджених видів макроміцетів, дисертанткою були відібрані продуценти, антибактеріальна дія яких в деяких випадках

перевершувала вплив комерційних антибіотиків, що є підґрунтям для подальшого їх використання у новітніх фармакологічних технологіях.

Повнота викладу основних положень дисертації в опублікованих працях. За матеріалами дисертації опубліковано 63 наукових праці, з них 24 наукових статті – в рецензованих фахових виданнях, в тому числі 12 статей опубліковано у виданнях, що індексуються у міжнародній наукометричній базі даних Scopus (сім Q1–Q3, п'ять – Q4). Крім того, серед публікацій дисертантки 1 розділ у монографії та 6 патентів України на корисну модель, останнє підкреслює практичне значення роботи. Основні положення дисертації були представлені та обговорені в рамках роботи вітчизняних і міжнародних наукових конференцій, що відображено у 32 тезах доповідей. Матеріали дисертації достатньо повно відображено в опублікованих роботах. В цілому, кількість публікацій відповідає існуючим вимогам до докторських дисертацій.

Аналіз тексту дисертації Т.А. Круподьорової дає підставу вважати, що виконана вагома, багаторічна, оригінальна робота, у якій отримані нові результати, важливі для поглиблення і розширення існуючих уявлень щодо закономірностей впливу умов культивування на біосинтетичні процеси та оптимальних параметрів для підвищення ефективності біомасоутворення й синтезу біологічно активних метаболітів перспективних макроміцетів, науково обґрунтовано основи створення дієтичних добавок з високою біологічною цінністю на основі біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales.

Дисертаційна робота викладена на 523 сторінках комп'ютерного тексту і складається з переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису об'єктів та методів досліджень, п'яти експериментальних розділів, узагальнення отриманих результатів, висновків, додатків і списку літератури, в якому налічується 685 джерел. Отримані результати представлені на 88 рисунках і в 54 таблицях.

Вступ до дисертації написано згідно вимог до цього розділу. В ньому обґрунтована актуальність теми, чітко визначені мета та завдання роботи, висвітлені найвагоміші аспекти наукової новизни та практичного значення отриманих результатів.

Огляд літератури (розділ 1) містить критичний аналіз результатів дослідження міцелію і культуральної рідини макроміцетів як об'єктів сучасної біотехнології. Головна увага приділена характеристиці

культивованих грибів та продукованих ними біологічно активних речовин (підрозділи 1.1 і 1.2), розглянуто сучасні засади вирощування міцелію *in vitro* й способи управління біосинтетичною активністю макроміцетів (підрозділ 1.3). Цікавою є інформація щодо світового ринку грибної продукції, яка підкреслює практичну значущість проведеної Т.А. Круподьоровою роботи (підрозділ 1.4). На підставі всебічної оцінки сучасного стану розробок в галузі культивування грибів окреслені окремі аспекти, що вимагають подальшого дослідження. Авторкою зроблено висновок про перспективність створення біоактивних препаратів з використанням міцелію та культуральної рідини макроміцетів. Все це лягло в основу обґрунтування мети та задач дисертаційної роботи.

У розділі 2 детально описано матеріали і методи дослідження. Подано інформацію щодо видів і штамів макроміцетів, використаних в роботі, висвітлено умови їхнього культивування у зв'язку з біосинтетичною активністю. Авторка наводить методики визначення ростових параметрів міцелію грибів та вмісту біологічно активних речовин, що ними продукуються (полісахаридів, фенольних сполук, екзоферментів, протеїну та амінокислот, жиру та жирнокислотного складу ліпідів), а також деталізує особливості аналізу антагоністичної, антибактеріальної, антиоксидантної, противірусної, протипухлинної та ранозагоювальної активностей досліджених макроміцетів.

Експериментальний доробок дисертації розглядається в розділах 3–8. Ці розділи насичені ілюстративним матеріалом, який дає багату фактичну інформацію з досліджуваних питань.

У розділі 3 Т.А. Круподьорова наводить результати вивчення швидкості росту міцелію *in vitro* та продуктивності накопичення біомаси, нею визначено найперспективніші в цьому відношенні види. Аналіз вмісту полісахаридів і фенольних сполук у міцеліальній біомасі та культуральній рідині виявив найбільш продуктивні за цими показниками види грибів. Важливе практичне значення мають дані щодо секреції грибами ферментів, що каталізують розщеплення різноманітних біологічних субстратів. Проведені авторкою узагальнення дозволили оцінити біотехнологічний потенціал тридцяти видів грибів, окреслити перспективи їхнього використання в промисловому виробництві.

У розділі 4 розглянуто біологічну активність досліджених грибів. Наведено результати вивчення сумісного культивування 30 видів макроміцетів з найпоширенішими патогенними мікроміцетами, а саме пліснявими грибами *Aspergillus niger* та *Penicillium polonicum*, збудниками

мукоромікозів *Mucor* sp., збудниками кандидозів *Pichia kudriavzevii* та *Candida albicans*. Взаємодія організмів варіювала від антагоністичного гальмування росту до спокійного наростання колоній. Проведений скринінг дозволив виявити види макроміцетів з високим антагоністичним індексом й оцінити їх потенціал щодо створення біофунгіцидних препаратів. Більш поглиблені дослідження було проведено для різних штамів *Pleurotus ostreatus*, кулінарного гриба, широко доступного в торговельній мережі України. Було встановлено його високу антагоністичну активність проти патогенних мікроміцетів. Дослідження впливу міцелію і культуральної рідини на патогенні бактерії *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* дозволили Т.А. Круподьоровій розділити досліджені макроміцети на 3 групи відповідно до їх антибактеріальної активності, виокремити вид *Fomitopsis betulina*, який повністю пригнічував ріст двох патогенів. В підрозділі 4.3 представлено результати вивчення антиоксидантної активності грибів, які засвідчили значний потенціал міцелію багатьох видів у цьому відношенні, особливо *Lentinula edodes* і *Fomitopsis pinicola*. Проведений корелятивний аналіз продемонстрував первинну роль фенолів міцеліальної біомаси як потужних природних антиоксидантів.

В розділі 5 дисертанткою проаналізована можливість використання різноманітних відходів харчової промисловості та олійно-екстракційного виробництва як субстратів для культивування грибів та розглянуто потенціал макроміцетів до їхньої біоконверсії. Більшість видів грибів показала позитивні результати щодо утворення міцеліальної біомаси на відходах макаронних та борошномельних підприємств, хоча ступінь біоконверсії субстратів була видоспецифічним показником. Не менш перспективними в плані культивування грибів виявилися відходи та побічні продукти олійної екстракції. Дисертанткою встановлено адаптивність окремих видів макроміцетів до того чи іншого субстрату. Вищий рівень здатності до утилізації відходів, продемонстрований *Pleurotus ostreatus* та *Laetiporus sulphureus*, вказує на їх перспективність у біотехнологічних процесах. Для п'яти штамів їстівного гриба *P. ostreatus* проведено скринінг поживних середовищ культивування, оптимальним виявився шрот зародків пшениці та комбінації із двох субстратів. В цілому, матеріали цього розділу дають цінну інформацію щодо утилізації харчових і сільськогосподарських відходів та щодо використання їх у грибному виробництві.

В розділі 6 розглянуто перспективи використання побічного продукту після видобутку амарантової олії – CO₂-шроту амаранту – у культивуванні цінних лікарських грибів (*Ophiocordyceps sinensis*, *Pleurotus ostreatus* та *Schizophyllum commune*). Перш за все дисертантка провела комплексний біохімічний аналіз міцеліальної біомаси і культуральної рідини цих видів при вирощуванні на CO₂-шроті амаранту, який показав наявність 17 амінокислот, включаючи важливі незамінні, а також жирних кислот (в т.ч. омега-6 і омега-3). Продемонстровано високу здатність міцелію *P. ostreatus* поглинати важкі метали (свинець, ртуть, кадмій) і вплив на неї різних субстратів культивування, серед яких CO₂-шрот амаранту найефективніше підвищував сорбцію іонів кадмію. Крім того, культивування на цьому поживному середовищі позитивно позначилося на антибактеріальній активності грибів, яка була виявлена у 67 % досліджених видів. В цілому, зростання антибактеріальної активності становило 23,3 % у порівнянні з вирощуванням на глюкозо-пептон-дріжджовому середовищі. У 10 видів грибів, культивованих на CO₂-шроті амаранту, встановлено здатність нейтралізувати віруси грипу і герпесу *in vitro*, найбільший противірусний потенціал був притаманний *Trametes versicolor*. Інтрагастральне введення екстрактів міцелію цього гриба мишам з перещепленою карциномою Льюїса і перещепленою карциномою Герена спричиняло зменшення росту пухлин і зниження рівня летальності. Проте такий онкостатичний ефект залежав від тривалості використання грибного екстракту, що вказує на необхідність оптимізації режиму застосування і, відповідно, проведення більш детальних досліджень. Екстракти грибів *Ganoderma lucidum* та *Crinipellis schevczenkovi*, вирощених на CO₂-шроті амаранту, прискорювали загоєння ран у мишей. В цілому, результати досліджень, представлені в цьому розділі, доводять доцільність використання CO₂-шроту амаранту як субстрату для культивування грибів, який дозволяє отримувати міцеліальну біомасу з лікувальними й іншими цінними властивостями.

В розділі 7 Т.А. Круподьорова наводить результати визначення оптимальних умов для росту міцеліальної біомаси й антибактеріальної активності грибів *Lentinula edodes* і *Fomitopsis betulina*, які відомі потужними лікувальними властивостями. Авторка встановила залежність темпів росту міцелію від кислотності та складу живильного середовища, а також тривалості культивування. Ці ж параметри впливали на антибактеріальну активність міцелію і культуральної рідини, на підставі чого дисертантка зробила висновок про необхідність пошуку

збалансованості між ними для повної реалізації терапевтичного і технологічного потенціалів грибів. Було також отримано дані щодо можливості використання ультрафіолетового опромінення для підвищення антибактеріальної дії культуральної рідини *F. betulina*. Виявлено вирішальну роль якості поживного середовища у набутті антиоксидантної активності грибів *L. edodes* і *Fomitopsis pinicola*; важливими факторами були також температура і тривалість інкубації. Отримано значний фактологічний матеріал щодо морфології і мікроструктури міцелію *Hohenbuehelia tuxotricha* за різних умов культивування. Висока адаптивність й антимікробний вплив цього гриба продемонстрували його біотехнологічний потенціал. Дисертантка спостерігала позитивний вплив регуляторів росту рослин на нагромадження міцелію п'яти штамів *Pleurotus ostreatus*, охарактеризувала оптимальні умови для культивування *Pleurotus eryngii*.

Розділ 8 містить результати фармако-технологічних досліджень суміші висушеного міцелію *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* та *Fomitopsis pinicola* з метою створення на їх основі дієтичної добавки у формі гранул. Ця суміш продемонструвала високий вміст фенольних сполук і значний рівень антиоксидантної активності. Т.А. Круподьорова вивчила вплив ряду наповнювачів на сипучість міцеліального порошку і виокремила оптимальні – моногідрат лактози і маніт із додаванням монокристалічної целюлози. Авторка розробила технологічну блок-схему одержання капсул із сумішшю міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola* в умовах, адаптованих до промислового виробництва.

Розділ 9 є узагальненням отриманих результатів дослідження 30 видів макроміцетів *in vitro*. В роботі запропоновано комплексний підхід до розробки наукових основ використання грибів у біотехнологіях. Зокрема, обґрунтовано перспективність використання макроміцетів порядків *Agaricales* та *Polyporales* як джерела біологічно активних метаболітів із різними терапевтичними властивостями. Авторкою запропоновано концептуальну схему створення дієтичних добавок на основі макроміцетів.

Проаналізувавши закономірності, виявлені в ході проведених досліджень, дисертантка сформулювала 11 експериментально та теоретично обґрунтованих **висновків**, які відповідають меті та завданням дослідження. Їхня достовірність ґрунтується на адекватних методичних підходах і підтверджується відповідними показниками статистичного аналізу.

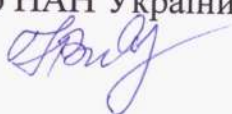
Зауваження до дисертаційної роботи. Представлена робота в цілому не має суттєвих недоліків. Водночас, є окремі зауваження до викладення матеріалу. В тексті присутні окремі недоречності, в першій половині роботи неодноразово зустрічаються неузгодження родів і відмінків. Є невдалі вирази, наприклад, «врожай полісахаридів» (стор. 142). На стор.128 дисертантка наводить умовний розподіл грибів на групи за Chang & Wasser, 2017, проте багато їстівних грибів серед досліджених в роботі видів є водночас і лікарськими, а представлений розподіл далі в дисертації більше не використовується, отже його можна було б не згадувати. В методичній частині є посилання на публікацію Pluzhnyk et al., 2025, але мало ймовірно, що саме ця методика використовувалася, адже дисертація виконувалася раніше 2025 року. На рис. 3.1 (стор. 139) не зрозуміло, чому кількість ендopolісахаридів подана у відсотках, а екзopolісахаридів – в г/л. В підрозділі 7.5 для підкріплення твердження про стимулюючий вплив регуляторів росту рослин на ріст міцелію авторці слід було розрахувати відсоток приросту біомаси, що було б більш переконливо. В розділі 8 (стор. 379-380) варто було б обґрунтувати співвідношення міцелію *T. versicolor*, *P. ostreatus* та *F. pinicola* 2:0.5:0.5 у суміші для приготування капсул, оскільки основні показники (вміст фенольних сполук й антиоксидантна активність) відрізняються не значно. Не зрозуміло, чому результати вивчення кореляції між антиоксидантною активністю *F. pinicola* і вмістом фенолів представлено як в розділі 4, так і в розділі 7.

В цілому, дисертаційна робота Т.А. Круподьорової є завершеною науковою працею науково-прикладного типу, в якій отримані нові експериментальні та теоретичні результати, що в сукупності є суттєвим внеском в розвиток мікології і біотехнології. Аналіз роботи свідчить, що висновки автора обґрунтовані експериментальними дослідженнями, чіткі, логічні і достовірні. Сформульовані дисертанткою ідеї мають суттєві перспективи подальшого розвитку і впровадження.

Загальний висновок. Дисертаційна робота «**Біотехнологічні основи одержання біомаси макроміцетів порядків Agaricales та Polyporales для створення біологічно активних добавок**» є закінченою науково-дослідною роботою, в якій представлено значний за обсягом і змістом фактичний матеріал. Робота 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 авторка – **Тетяна Анатоліївна Круподьорова** заслуговує на присудження їй наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент пров. наук. співробітник
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
докт. біол. наук., с.н.с.


Н.П. Веденичова



Підпис
Засвідчую
Відділ кадрів

Веденичова Н.П.
кош