**ВІДГУК**

офіційного опонента **Циганкової Вікторії Анатоліївни**

на дисертаційну роботу **Поєдинок Наталії Леонідівни** **«Біотехнологічні основи інтенсифікації культивування їстівних і лікарських макроміцетів за допомогою світла низької інтенсивності»**,

подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук

за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

**Актуальність теми.** Актуальним напрямком сучасної біотехнології є розробка нових інтенсивних екологічно чистих технологій культивування різних видів макроміцетів з метою отримання плодових тіл і біологічно активних сполук. Цей напрямок вимагає глибокого вивчення факторів, що регулюють функції грибного організму. До екологічно чистих факторів регуляції морфогенезу макроміцетів належить світло. Незважаючи на значний прогрес, який спостерігається в останні роки при вивченні фоторецепції і фотоморфогенезу грибів, і отриманий експериментальний матеріал, фундаментальні процеси практичного використання штучного світла в біотехнологіях культивування їстівних і лікарських макроміцетів залишаються недостатньо вивченими. Нові знання про фоточутливість на різних технологічних етапах культивування макроміцетів дозволять більш ефективно використовувати природний потенціал грибів, і знайдуть практичне застосування при створенні високоефективних біотехнологій. Вирішенню цієї актуальної для сучасної біотехнології проблеми і присвячена докторська дисертація Наталії Леонідівни Поєдинок.

Дисертаційна робота виконана в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України та ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» в межах 5 наукових тем і 6 грантів, відповідно яких проводились дослідження.

**Наукова новизна роботи** полягає в розробці нових оригінальних теоретичних підходів та методичних прийомів використання низькоінтенсивного світла в біотехнологіях вирощування їстівних і лікарських грибів, 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, урожайність плодових тіл та їх якість при твердофазному вирощуванні. Дисертантом експериментально доведено, що пусковий механізм індукованих низькоінтенсивним світлом біологічних реакцій, який існує в інших біологічних об’єктах різного рівня організації, належить і макроміцетам. Вперше виявлено, що основні зміни, спричинені короткочасним випромінюванням світлом низької інтенсивності у макроміцетів на різних стадіях онтогенезу, мають пролонговану дію та не потребують подальшої активізації світлом. 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 вида *Agaricus bisporus*, плодооутворення якого на всіх етапах відбувається за відсутності світла. Одержано науково обгрунтовані теоретичні та експериментальні результати досліджень фоточутливості макроміцетів до світла низької інтенсивності з різними спектральними, енергетичними, поляризаційними характеристиками, які доповнюють і розширюють наші уявлення про фундаментальні процеси фоторецепції макроміцетів.

**Практичне значення** отриманих дисертантом результатів не викликає сумнівів. Дисертантом опубліковано 3 патенти України на винаходи, 4 деклараційних патенти та 2 патенти на корисну модель. Розроблено методичні підходи, які реалізовані в нових засобах стимуляції ростової та біосинтетичної активності шляхом модифікації існуючих біотехнологій одержання біомаси, біологічно активних сполук та плодових тіл макроміцетів, що дозволяє скоротити терміни культивування й збільшити вихід цільового продукту.

**Повнота викладу основних наукових положень та висновків у опублікованих наукових працях.** За результатами досліджень опубліковано 73 наукові праці, включаючи 37 статей (з них 21 стаття опублікована у фахових виданнях). Особливу увагу звертає активна апробація здобувачем результатів дисертаційних досліджень на 26 міжнародних з'їздах і конгресах. Зміст опублікованих робіт та автореферат повністю відображають основні положення дисертації та її суть.

**Структура дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень та їх обговорення (6 розділів), заключення, висновків і списку використаних джерел літератури. Робота викладена на 387 сторінках машинописного тексту і містить 47 таблиць і 45 рисунків. Бібліографічний список складається із 673 літературних джерел.

**У вступі** вельми детально обґрунтовано актуальність теми, чітко сформульовано мету і завдання дослідження, наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, відмічено особистий внесок дисертанта у виконання роботи.

**В** **огляді літератури** дисертант дуже детально аналізує сучасний стан 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. Детально проаналізовано основні досягнення й проблеми, що виникають при вивченні фотоморфогенезу й механізмів фоторецепції вищими грибами, роль джерел штучного світла в дослідженні грибів і фоторегуляції їх метаболізму, перспективи використання світла низької інтенсивності з різними спектральними, поляризаційними та енергетичними характеристиками для інтенсифікації та цілеспрямованої регуляції активності макроміцетів у біотехнологічних процесах.

У цілому в огляді літератури достатньо повно висвітлено наукові дані останніх років, які стосуються теми дисертації. Огляд свідчить про фундаментальні знання автором сучасного стану в даній галузі досліджень, спроможність дисертанта глибоко аналізувати опубліковані результати, здатність виділити і узагальнити головне з досить чималого масиву розрізнених літературних джерел, чітко викласти стан та перспективи досліджень. Важливо, що автором розглянуто та проаналізовано сучасні дані з проблем фотоморфогенезу і молекулярних механізмів фоторецепції грибами, на яких базується основна концепція дисертаційної роботи.

**У розділі 2 «Матеріали і методи досліджень»** детально наведено умови проведення досліджень і надано характеристику експериментального матеріалу. У дисертаційній роботі використано широкий спектр сучасних біологічних методів досліджень та статистичної обробки одержаних даних. Детально описані як традиційні методи досліджень, так і розроблені дисертантом спільно з фахівцями Інституту фізики НАН України модельні системи та умови проведення дослідів. Ці матеріали свідчать про вільне володіння дисертантом сучасними методами досліджень таких перспективних для біотехнології об’єктів, як макроміцети, і здібність до розробки нетрадиційних підходів та нових методів.

 **Розділ 3** присвячено розробці методики підготовки та фотоактивації посівного матеріалу макроміцетів. В результаті проведених досліджень автором визначена чутливість базидіоспор *Agaricus bisporus, Flammulina velutipes, Ganoderma applanatum, Ganoderma lucidum, Hericium erinaceus, Lentinus edodes* і *Pleurotus ostreatus* до світла різної довжини хвилі і когерентності в безперервному і імпульсному режимах. Встановлена доза опромінення, що викликає максимальну індукцію проростання спор і стимуляцію росту моноспорових ізолятів.

Оскільки відомо, що у деяких грибів змінюється чутливість на світло в процесі онтогенезу, важливим етапом досліджень, проведених автором, є визначення фази онтогенезу макроміцетів, на якій під впливом світла відбувалась максимальна стимуляція біологічної активності макроміцетів. Встановлено оптимальні режими активізації посівного матеріалу, що дозволяють знизити кількість його внесення у субстрат в 2 - 4 рази.

Незважаючи на деякі відмінності в чутливості вивчених дисертантом макроміцетів до світла низької інтенсивності виявлені чіткі закономірності їх реакцій на світлові впливи.

Нові для макроміцетів дані про можливість передачі викликаних світлом змін на стадії спор та протягом подальшого розвитку вегетативного міцелію послужили передумовою для проведення досліджень тривалості збереження фотоіндукованої активності посівного міцелію при зберіганні та пересівах.

**У** **четвертому розділі** дисертант на основі даних проведених експериментів доводить, що спосіб культивування і концентрація джерела вуглецю в живильному середовищі впливають на фотоіндуковану ростову активність макроміцетів; світло низької інтенсивності спричинює зміну трофіки макроміцетів, що виражається у збільшенні ефективності споживання глюкози на середовищах зі зниженим її вмістом.

Вельми місткий за об’ємом **розділ 5** присвячено розробці науково обґрунтованих методів інтенсифікації культивування їстівних і лікарських макроміцетів при поверхневому та глибинному культивуванні на рідких живильних середовищах.

В результаті проведених дисертантом досліджень фоточутливості макроміцетів до світла низької інтенсивності з різними характеристиками встановлені загальні закономірності та індивідуальні особливості їх реакцій на світлові впливи та визначено ефективні параметри світлової обробки, що дозволяють досягти найефективнішої стимуляції росту і цілеспрямовано регулювати біосинтетичну активність.

Вперше для макроміцетів встановлено перевагу використання низькоінтенсивного лазерного випромінювання порівняно з некогерентним світлом низької інтенсивності, а також імпульсного світла різної когерентності порівняно з безперервним світлом для стимуляції росту, антимікробної і ферментативної активності, синтезу меланіну і полісахаридів, що виражається в додатковому збільшенні ростових показників і виходу біологічно активних речовин. Встановлено, що при опроміненні посівного міцелію стимулююча активність когерентного світла низької інтенсивності на 5 – 40 % вище, ніж некогерентного.

Визначена висока ефективність використання лазерного світла із довжинами хвиль 488,0 та 632,8 нм для стимуляції синтезу у *Сordyceps militaris* поліненасиченої пальмітолеінової кислоти (підвищення у 6 - 7 разів у порівнянні з неопроміненим контролем) і у *Сordyceps sinensis* - мононенасиченої незамінної олеїнової кислоти (підвищення на 64 % у порівнянні з неопроміненим контролем), що має важливе практичне значення в галузі медицини і косметології.

Встановлено раніше невідомі тенденції змін вуглеводного складу полісахаридів під дією короткочасних світлових впливів у макроміцетів, що відносяться до аско- і базидіоміцетів. Ґрунтуючись на отриманих даних дисертантом висловлено гіпотезу про специфіку фоторецепторних систем макроміцетів цих таксонів.

**Шостий розділ,** якийпоряд з п’ятим розділом є основоположним в дисертації, присвячений розробці науково обґрунтованих методів і підходів для модифікації існуючих біотехнологій отримання плодових тіл. Продемонстровано перспективність фотоактивації посівного матеріалу промислово культивованих видів їстівних і лікарських грибів (*Pleurotus ostreatus, Lentinus edodes, Flammulina velutipes, Hericium erinaceus і Agaricus bisporus*).

Висока ефективність впровадження розроблених автором способів і підходів фотоактивації посівного матеріалу та його використання в технологіях культивування макроміцетів досягається за рахунок наступних фактів: значного скорочення термінів обростання субстрату й тривалості періоду плодоношення, що дозволяє скоротити витрати на підтримку мікроклімату приміщення й зменшити вірогідність інфікування субстратів сторонньою мікрофлорою; зменшення кількості опроміненого посівного міцелію при інокуляції дозволяє скоротити кількість зерна й трудовитрати на його приготування; збільшення врожайності плодових тіл та поліпшення їх якості і товарного виду сприяє підвищенню реалізаційної ціни плодових тіл.

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

Підсумовуючи, слід підкреслити, що у цілому експериментальний матеріал викладено чітко і логічно, результати достатньо оброблено за допомогою відповідних до поставлених завдань статистичних методів, підтверджено оригінальними і якісними ілюстраціями та фотографіями, лаконічними та чіткими схемами та таблицями. Автор ретельно і критично аналізує власні результати, робить в процесі їх опису коректні підсумки.

Зроблені дисертантом на основі отриманих експериментальних даних висновки є логічно обґрунтованими, вони викладені досить чітко і ясно, відповідають завданням і повністю висвітлюють наведені в дисертації результати досліджень.

Таким чином, аналіз матеріалів експериментальних досліджень, викладених у дисертаційній роботі Наталії Леонідівни Поєдинок, дозволяє погодитися з головним висновком цієї роботи, згідно якому автором розроблено новий напрямок використання штучного світла у біотехнологіях культивування їстівних та лікарських грибів на основі фундаментального і всебічного вивчення особливостей фоточутливості 12 видів і 27 штамів макроміцетів до світла низької інтенсивності з різними характеристиками.

В цілому, критичних зауважень, які б могли суттєво вплинути на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи у мене немає. Водночас, я хочу висловити декілька побажань і незначних зауважень:

1. Деякі розділи дисертації та автореферату є надто багатослівними, автор недостатньо попрацювала над лаконічністю викладу, що подекуди ускладнює сприйняття і розуміння викладеної думки автора.
2. Занадто деталізовано і розписано використані методи. На мій погляд, загальновідомі методи не потрібно описувати детально, а дати на них лише посилання, проте нажаль не наведено методику визначення загального вмісту вуглеводів.
3. У матеріалах і методах приріст біомаси бажано було б умовно виразити у відсотках до контролю.
4. Необхідно вказати частоту імпульсів у хвилинах або секундах на стор. 124 у розділі 3.

