

ВІДГУК
офіційного рецензента на дисертаційну роботу
Зайченко Тетяни Олександрівни
«Особливості росту та біосинтетичної активності штамів
***Fomitopsis betulina* в культурі *in vitro*»,**
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за
спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність обраної теми. Актуальність обумовлена зростаючим інтересом до медико-біологічного потенціалу базидієвих грибів, зокрема *Fomitopsis betulina*, який відомий своїми вираженими антимікробними, протипухлинними, антиоксидантними та імуномодулювальними властивостями. У більшості наукових публікацій, присвячених цьому виду, основна увага приділяється вивченню біологічної активності та морфофізіологічних характеристик плодових тіл, які, як відомо, значною мірою залежать від екологічних умов зростання, виду субстрату та індивідуальних властивостей окремих штамів. Однак питання штамоспецифічної варіабельності за умов *in vitro* культивування залишаються недостатньо дослідженими. Детальне вивчення морфофізіологічних параметрів росту та біосинтетичної активності різних штамів *F. betulina* в контрольованих умовах є необхідним кроком для розробки науково обґрунтованих протоколів вирощування, оптимізації біотехнологічних процесів та подальшої стандартизації отримання цільових метаболітів. Це, у свою чергу, відкриває перспективи для широкого використання *F. betulina* як джерела біологічно активних речовин у біотехнологічній, фармацевтичній, косметичній та інших галузях промисловості. Таким чином, проведення комплексного дослідження особливостей росту та біосинтетичної активності штамів *F. betulina* в культурі *in vitro* має вагоме теоретичне та практичне значення та актуалізує роботу Зайченко Т.О.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана авторкою в Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» (м. Київ) у межах

держбюджетних тем: «Штамоспецифічні особливості росту та синтезу метаболітів перспективних видів базидієвих грибів за різних умов культивування» (№ ДР 0112U000435, 2021–2023 рр.), «Скринінг базидієвих грибів з високою антиоксидантною активністю, перспективних для підвищення захисних сил організму людини» (№ ДР 0124U002425, 2024–2025 рр.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності. Структура роботи відповідає поставленій меті та завданням, що були реалізовані на основі сучасних методичних підходів. Було проведено значний об'єм експериментальної роботи з використанням актуальних методів біохімічного та морфофізіологічного аналізу. Висновки й наукові положення логічно сформульовані на основі результатів та є цілком обґрунтованими. У процесі виконання дослідження авторка опрацювала значний обсяг літературних джерел, що забезпечило ґрунтовну теоретичну базу для інтерпретації результатів. Проведене порівняння результатів з даними попередніх досліджень дозволило підтвердити окремі закономірності, виявити відмінності, запропонувати науково обґрунтовані пояснення. Усі результати статистично опрацьовано з використанням валідних методів, зокрема критерію Пірсона та шкали Коена, що забезпечує високу достовірність отриманих даних.

Наукова новизна. Наукова новизна роботи Т.О. Зайченко є очевидною. Уперше здійснено комплексне дослідження 22 штамів *Fomitopsis betulina*, з яких 11 були самостійно ізольовані авторкою. Проведено детальний порівняльний аналіз макроморфологічних характеристик штамів за умов твердофазного культивування на різних середовищах, включаючи показники швидкості росту, структури й кольору колоній, а також морфологічної мінливості. Уперше встановлено здатність штамів *F. betulina* до накопичення екзополісахаридів та фенольних сполук у культуральному середовищі, вивчено їхню антагоністичну активність проти ряду фітопатогенних та мікотоксигенних грибів. Визначено оптимальні умови культивування

перспективного штаму *F. betulina* 2777 для максимального накопичення біомаси, фенольних сполук та сполук з антиоксидантною активністю (температура, рН, джерела вуглецю та азоту, тривалість культивування). Встановлено кореляційні зв'язки між основними показниками біосинтетичної активності.

Практичне значення. Результати дисертаційного дослідження можна використовувати для досягнення «Цілей сталого розвитку України» до 2030 року: 3 (міцне здоров'я), 9 (інновації та інфраструктура), 12 (відповідальне споживання), 15 (збереження екосистем). До Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України передано 11 нових штамів *F. betulina*, що значно розширює генофонд біологічного ресурсу, визнаного Національним надбанням. Депонування нуклеотидної послідовності ITS-регіону рДНК одного зі штамів *Fomitopsis betulina* у міжнародній базі даних GenBank (реєстраційний номер PQ184655) сприятиме подальшій ідентифікації та таксономічній верифікації представників цього виду. Дані про оптимізацію умов культивування штамів *F. betulina* було впроваджено у виробничий процес підприємства «Царство грибів», що свідчить про високий потенціал результатів дослідження для комерційного застосування у грибному виробництві, біотехнологічній та фармацевтичній галузях.

Повнота викладу у фахових виданнях та апробація основних результатів. За матеріалами дисертаційного дослідження Зайченко Тетяною Олександрівною опубліковано 10 робіт, зокрема 2 статті в періодичних виданнях, індексованих у міжнародній наукометричній базі даних Scopus Q3, та 8 тезах доповідей на всеукраїнських та міжнародних конференціях, що свідчить про повноту апробації роботи. Публікації повністю розкривають основні результати дослідження, підкреслюючи їхню наукову новизну та практичну значущість.

Академічна доброчесність. Дисертаційне дослідження виконано з дотриманням принципів академічної доброчесності. Дисертаційна робота засвідчує наукову етику та відповідальність авторки, що виражається у належному оформленні посилань на першоджерела.

Оцінка структури, змісту та форми дисертації. Дисертаційна робота викладена на 197 сторінках машинописного тексту і складається з анотації, вступу, 6 розділів, узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 170 сторінок друкованого тексту. Робота містить 6 таблиць та 48 рисунків. Список використаних джерел містить 174 найменування, з яких 25 кирилицею та 149 латиницею.

Вступ дисертації містить усі обов'язкові структурні елементи. Зокрема, визначено актуальність обраної теми, мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, методи, наведено інформацію про наукову новизну, практичне значення, особистий внесок здобувача та апробацію роботи.

У **Розділі 1** представлено ґрунтовний аналітичний огляд наукової літератури, у якому висвітлено сучасні уявлення про філогенетичне положення, морфологічні характеристики та біоекологічні особливості *Fomitopsis betulina* (березової губки). Окрему увагу приділено аналізу терапевтичного потенціалу цього виду, зокрема спектру біологічно активних сполук, виявлених у плодових тілах і культурах міцелію, та їхній антибактеріальній, антиоксидантній, протизапальній та протипухлинній активності. Розглянуто основні біотехнологічні підходи до культивування *F. betulina*. Узагальнені дані підтверджують високий потенціал цього виду як джерела перспективних природних сполук.

У **Розділі 2** «Матеріали і методи» дисертаційної роботи обґрунтовано методичні підходи, які були застосовані для досягнення поставлених завдань. Використання культуральних, мікробіологічних, молекулярно-генетичних, спектрофотометричних та статистичних методів забезпечило всебічне

дослідження штамів *Fomitopsis betulina* та високий рівень наукової достовірності отриманих результатів.

У Розділі 3 «Морфологічна характеристика та культуральні особливості штамів *Fomitopsis betulina*» представлено результати комплексного дослідження морфологічних та культуральних особливостей штамів *F. betulina* в умовах *in vitro*. Виділення чистих культур із плодових тіл та чистоту отриманих ізолятів було підтверджено за морфологічними та за молекулярно-генетичними критеріями. Значну увагу приділено вивченню макроморфологічних ознак штамів *F. betulina*, оскільки фенотипові варіації можуть бути зумовлені як штамоспецифічними фізіолого-біохімічними характеристиками, так і впливом зовнішніх факторів, зокрема складу поживного середовища. Уперше детально описано морфологічні відмінності міцелію окремих штамів за умов культивування на різних твердих середовищах, що дозволило встановити характерні ознаки росту, колір, структуру поверхні колоній та їхню морфологічну мінливість. У ході дослідження було проаналізовано швидкість росту міцелію на різних типах агаризованих поживних середовищ, що дало змогу ідентифікувати найбільш сприятливі умови для росту в *in vitro* системах. Результати засвідчили наявність істотних відмінностей між штамами за темпами росту, що підтверджує значення індивідуальних фізіологічних властивостей ізолятів. Окремо розглянуто динаміку накопичення біомаси та приросту міцелію на різних рідких поживних середовищах. Отримані дані свідчать про значну варіабельність штамів щодо інтенсивності росту в досліджених умовах та дозволяють визначити сприятливі середовища для накопичення біомаси. Вперше проаналізовано здатність різних штамів березової губки продукувати ендополісахариди (ЕПС) на різних поживних середовищах і визначено найбільш оптимальні середовища для різних штамів. Співставлення отриманих результатів з літературними джерелами підтвердило релевантність проведених досліджень.

У **Розділі 4** «Антагоністична активність штамів *Fomitopsis betulina* відносно деяких мікро- та макроміцетів» досліджено антагоністичну взаємодію *F. betulina* з різними видами грибів, що займають різноманітні екологічні ніші та відіграють різну роль у житті людини – опортуністичними умовно-патогенними грибами (*Candida albicans*, *Pichia kudriavzevii*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*), фітопатогенними (*Microdochium nivale*, *Fusarium poae*), мікопатогенними (*Cladobotrium mycophilum*), пліснявими грибами (*Penicillium polonicum*), паразитичними макроміцетами (*Inonotus obliquus*, *Heterobasidion annosum*). *F. betulina* є і сапротрофним, і паразитичним, і лікарським грибом, однак наразі дуже мало інформації щодо його фунгістатичних властивостей. Автором було виявлено повну (100 %) антагоністичну активність досліджених штамів *F. betulina* відносно фітопатогену *M. nivale*, та часткову (59 %) – проти *F. poae*, а також 68,2 % пригнічення умовно-патогенних грибів *C. albicans* та 72,8 % – *P. kudriavzevii*. Загалом, ступінь антагоністичної дії 22 досліджених штамів *F. betulina* проти більшості тестованих грибів становив 69,2–84,6 %. Розділ містить якісний ілюстративний матеріал.

У **Розділі 5** «Біосинтетична активність штамів *Fomitopsis betulina*» досліджено антибактеріальну та антиоксидантну активність, вміст фенольних сполук в екстрактах культуральної рідини (КР) та міцеліальної маси (ММ) *F. betulina*. Виявлено високу антибактеріальну активність екстрактів КР і ММ усіх штамів *F. betulina* щодо збудників нозокоміальних інфекцій (*Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), що актуально при зростанні резистентності бактерій до антибіотиків. Значна антиоксидантна активність, але порівняно низький вихід фенольних сполук спонукали до необхідності оптимізації методів культивування *in vitro* та екстракції.

У **Розділі 6** «Оптимізація умов культивування штаму *Fomitopsis betulina* ІВК 2777 з метою підвищення рівня антиоксидантної активності та загального вмісту фенольних сполук» аргументовано вибір перспективних штамів та

представлено етапи подальших досліджень: досліджено вплив різних екстрагентів на антиоксидантну активність екстракту відібраного штаму та вміст фенольних сполук, визначено вплив умов культивування на накопичення біомаси міцелію, антиоксидантну активність екстракту міцеліальної маси та вміст у ньому фенольних сполук. Охарактеризовано вплив складу середовищ та екстрагентів на біосинтетичну активність *F. betulina*. Встановлено, що найвищі значення вмісту фенольних сполук і антиоксидантної активності спостерігалися в метанольних та етанольних екстрактах. Дослідження впливу різних джерел вуглецю показало, що найбільше накопичення біомаси відбувалося на середовищі з мальтозою, тоді як максимальний вміст фенольних сполук і антиоксидантна активність спостерігалися при використанні ксилози. Установлено високу адаптивну здатність штаму *F. betulina* 2777 до різних джерел азоту.

Розділ «Узагальнення результатів дослідження» охоплює всі ключові складові дисертаційної роботи: від обґрунтування актуальності обраного наукового напрямку, отримання та ідентифікації ізолятів, морфологічного аналізу та вивчення фізіолого-біохімічних характеристик штамів *Fomitopsis betulina* до експериментальної оптимізації умов культивування й оцінки біосинтетичної активності перспективного штаму. На основі цього розділу можна об'єктивно оцінити рівень наукової новизни та прикладної цінності отриманих результатів, що підтверджує успішне досягнення поставлених у дослідженні цілей і завдань.

Сформульовані у дисертації **висновки** є чіткими, логічно послідовними та повністю відповідають поставленій меті й завданням дослідження. Вони узагальнюють отримані експериментальні результати та демонструють високий рівень опрацювання матеріалу.

Запитання та побажання щодо змісту дисертаційної роботи. У процесі вивчення рукопису дисертаційної роботи виникло кілька запитань, що потребують додаткового роз'яснення.

- 1) Які відомі на сьогодні механізми антибактеріальної, антиоксидантної та антагоністичної активності *Fomitopsis betulina*?
- 2) Чи розглядаєте Ви можливість використання відходів харчової або технічної промисловості як субстратів для комерційного культивування *F. betulina*?
- 3) Чи можна порівняти інтенсивність антибактеріального впливу щодо досліджуваних бактеріальних штамів та концентрацію діючих речовин в екстрактах *F. betulina* з ефективністю референтних антибіотиків?
- 4) Зважаючи на те, що метод дуальної культури не дозволяє кількісно оцінити антагоністичну активність, чи не доцільно було б, за частотою проявів реакцій взаємодій, здійснити ранжування досліджених видів грибів – від найбільш чутливих до найменш чутливих до впливу *F. betulina*?
- 5) Чому для визначення оптимальних умов культивування *F. betulina* 2777 для найбільш високого виходу фенольних сполук, біомаси міцелію та антиоксидантної активності було обрано саме екстракти міцелію, а не культуральної рідини, адже Вами було показано, що антиоксидантна активність та вміст фенольних сполук екстрактів культуральної рідини деяких штамів були вищими, ніж екстрактів міцеліальної маси?

Зазначені запитання та зауваження мають дискусійний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Загальний висновок рецензента. Дисертаційна робота Зайченко Тетяни Олександрівни «Особливості росту та біосинтетичної активності штамів *Fomitopsis betulina* в культурі *in vitro*» є завершеним дослідженням, що вирізняється новизною, практичною значущістю та високим науковим рівнем. Робота відповідає вимогам «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 № 44 від 12.01.2022 із змінами, та наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а її авторка, Зайченко Тетяна Олександрівна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії доктора філософії (PhD) зі спеціальності 091 – «Біологія» (галузь знань – 09 «Біологія»).

Рецензент дисертації,
к.б.н, н.с. відділу клітинної біології
та біотехнології
ДУ «Інститут харчової біотехнології
та геноміки НАН України»

Анастасія БУЗІАШВІЛІ