

## **ВІДГУК**

офіційного опонента доктора біологічних наук Горового Леонтія Федоровича  
на дисертаційну роботу **Олега Валерійовича Федотова**

**«Біотехнологічні засади регулювання і використання прооксидантно-  
антиоксидантної активності базидієвих грибів»,**

висунуту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук  
за спеціальністю *03.00.20 – біотехнологія*

Дисертаційна робота О.В. Федотова є закінченою науковою працею в галузі біотехнології. Рукопис дисертаційної роботи оформлений у відповідності до вимог чинного законодавства України. Дисертація написана грамотною українською мовою, стиль викладення відповідає прийнятому в науковій літературі.

На захист дисертація представлена у формі рукопису. Вона побудована за традиційним планом, викладена на 325 сторінках, містить анотацію, зміст, вступ, огляд літератури, розділ «Матеріали і методи досліджень», результати експериментальних досліджень, викладені в розділах 3, 4, 5, 6, 7, 8 і 9, висновки, список використаних джерел, 6 додатків до дисертації, а також 23 таблиці і 38 рисунків. Основний зміст роботи викладено на 288 сторінках. Список використаних джерел містить 425 найменувань, з-поміж яких 245 – латиницею.

Сформульована автором мета роботи полягає в розробці наукових засад використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів для підвищення ефективності процесів їх біотехнологічного культивування. Завдання, які поставив перед собою автор для досягнення цієї мети, детально інформують про всі етапи дослідження:

– виділити та вивчити ростові характеристики штамів базидієвих грибів;

– встановити рівень та взаємозв'язок показників накопичення біомаси, перекисного окислення ліпідів і прооксидантної, антиоксидантної, оксидоредуктазної активностей в процесі культивування штамів;

– виявити ефективні фактори, що впливають на рівень перекисного окислення ліпідів; прооксидантної, антиоксидантної і оксидоредуктазної активностей в процесі культивування штамів;

– розробити методичні підходи регуляції перекисного окислення ліпідів та прооксидантної, антиоксидантної, оксидоредуктазної активностей в процесі культивування штамів;

– розробити методичні підходи використання показників прооксидантно-антиоксидантної системи для селекції та підвищення ефективності процесів біотехнологічного культивування штамів базидієвих грибів – продуцентів біологічно активних речовин;

– розробити методичні підходи інтенсифікації і оптимізувати схему біотехнології ферментних препаратів грибних оксидоредуктаз та визначити їх основні фізико-біохімічні характеристики;

– визначити вміст поліфенолів та пігментів – каротиноїдів і меланінів та провести відбір штамів перспективних продуцентів цих речовин;

– розробити та апробувати способи використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів в біотехнології.

Об'єктами дослідження обрано ферментативну і неферментативну складові прооксидантно-антиоксидантної системи 58 штамів 13 видів 9 родин базидієвих грибів порядків *Polyporales* та *Agaricales* в процесі їх біотехнологічного культивування. Предметом дослідження були особливості регуляції прооксидантно-антиоксидантної активності штамів базидієвих грибів з перспективою їх біотехнологічного використання.

Для виконання роботи О.В. Федотов використав широке коло методів дослідження, а саме: біотехнологічні, мікологічні, мікробіологічні, фізико-

біохімічні та статистичні; здійснено виділення, культивування та дослідження культурально-морфологічних і біосинтетичних характеристик штамів; спектрофотометричне визначення прооксидантної, антиоксидантної, каталазної і пероксидазної активності, вмісту малонового діальдегіду, поліфенолів і пігментів, водорозчинних білків та їх амінокислотного складу.

Актуальність теми роботи не викликає сумнівів. Базидієві гриби дійсно мають величезний потенціал в біотехнології, про що свідчить швидке зростання промислового виробництва та підвищений науковий інтерес до цих грибів.

Розділ 1, під назвою «Науково-практичні аспекти регулювання і використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів», є оглядом літератури за темою дисертаційної роботи О.В.Федотова, містить 5 підрозділів, які в певній мірі відповідають і обґрунтовують план власних експериментальних досліджень автора. В першому підрозділі дисертант викладає свої уявлення про сучасний стан та перспективи використання культур базидієвих грибів у біотехнології і аналізує основні напрямки їх практичного використання. Матеріал викладено логічно, що дає уявлення про загальний стан проблеми. Але, на наш погляд, в літературному огляді докторської дисертації є надлишок загальної інформації на рівні підручника (стор. 36-39, 50), бажано було би аналізувати проблеми біотехнології не взагалі, а з прив'язкою до базидієвих грибів. В огляді міститься багато інформації щодо мікроміцетів. На наш погляд, доцільніше було б навести аналогічні дані стосовно вищих грибів, наприклад такого модельного виду як *Schizophyllum commune* (стор. 46-47, 49).

Аналізуючи особливості базидієвих грибів, як об'єктів культивування, на наш погляд, не доцільно давати опис загальної схеми життєвого циклу грибів (стор. 53), які є в багатьох підручниках з ботаніки та мікології, достатньо вказати лише на їх специфіку, яка стосується теми дисертації.

Важливою частиною огляду літератури є інформація про природні антиоксиданти. Проте і в цій частині, на наш погляд, багато зайвого, а саме згадок про антиоксиданти вищих рослин. Такий виклад матеріалу був би виправданий при порівняльному аналізі властивостей антиоксидантів базидієвих грибів і представників інших груп організмів. Розділ містить багато загальних міркувань і декларативних заяв, наприклад, «пошук нових природних антиоксидантів грибного походження є актуальною і перспективною задачею сучасної біотехнології і мікофармакології, а результати цих досліджень дозволять знайти нові джерела антиоксидантів з метою їх впровадження у виробництво продуктів харчування, медичних препаратів і косметичних засобів» (стор. 74 та інш.). Більше уваги необхідно було приділити ферментним системам саме базидієвих грибів. Складається враження, що дисертант недостатньо знайомий навіть з широко відомими роботами по створенню препаратів з вищих грибів, наприклад, на стор. 69 написано «лікарські властивості *Inonotus obliquus* – чаги, що здавна використовується у народній медицині». Схоже, що автор не знає про ефективний медичний препарат бєфунгін з біомаси цього гриба, який створено ще в Радянському Союзі і який досі є у продажу в аптеках. Відносно меланінів у дисертанта невизначені погляди. В підрозділі 1.5 він пише: «низькомолекулярні сполуки – каротиноїди і меланіни» і на наступній сторінці читаємо: «меланіни – високомолекулярні пігменти».

Відмічені вище та інші помічені недоліки першого розділу дисертації привернули підвищену увагу до списку використаних джерел, який фактично є невід'ємною частиною огляду літератури. При аналізі цього списку впадає в очі майже повна відсутність посилань на сучасні наукові роботи - найбільша маса цитованих робіт відноситься до періоду 2003 – 2007 років – 31 посилання (кирилицею) і 1998 – 2007 роки – 126 посилань (латиницею). В той же час за останні 5 років 2013 -2017 дисертант використав лише 6 посилань кирилицею і 17 літературних джерел англійською мовою (не враховуючі власні публікації автора). Тому, на наш

погляд, не є переконливими чисельні оцінки автора стану наукових знань у вибраній ним області, наприклад: «сучасний стан», «дослідження грибів, проведені упродовж останніх років», «сучасний період розвитку мікології», «новітніх наукових даних», «останні десятиріччя ознаменувалися стрімким ... вивченням антиоксидантної активності грибів», «інтерес до питань перекисного окиснення ліпідів у біологічних мембранах різко зріс у самий останній час», «вперше виділені грибні ферментні препарати» (стор. 37 – 73, 76 та інші). Сучасний стан в огляді літературі не представлений. Необхідно зазначити, що саме в останнє десятиріччя відбувся справжній вибух інтересу до біотехнології базидієвих грибів, особливо в Китаї, США, Японії та інших країнах. Майже щороку проводяться великі міжнародні конференції, з'явилась безліч цікавих наукових публікацій, створена потужна індустрія по вирощуванню та переробці базидієвих грибів. На підставі цього складається враження, що шановний дисертант приділив недостатньо уваги підбору і аналізу сучасної наукової літератури за темою дисертаційних досліджень. Це ми вважаємо недоліком дисертаційної роботи О.В.Федотова. Сучасний інтернет дає широкі можливості доступу до новітньої наукової літератури.

Розділ 2, присвячений представленню матеріалів та методів досліджень, побудований логічно і добре структурований у відповідності зі змістом експериментальних розділів дисертаційної роботи. В розділі 2 надана детальна інформація про об'єкти і матеріал досліджень. Об'єктами дослідження були 58 штамів, що належать до 13 видів базидієвих грибів різних систематичних груп. Таким чином в роботі підібрано достатньо широке коло грибів ксилотрофів. Але штамове різноманіття вивчених видів грибів представлено нерівномірно. Більшість видів представлено єдиним штамом і лише 2 види *Pleurotus ostreatus* і *Flammulina velutipes* вивчались на багатьох штаммах. Як видно з описаних нижче експериментальних результатів дисертаційної роботи О.В.Федотова, і відомо з робіт інших

дослідників, фізіологічна активність і біохімічні показники різних штамів одного виду можуть відрізнятись в дуже широких межах. Тому характеризувати окремі види базидієвих грибів і робити висновки по результатам вивчення одного штаму нам здається не виправданим.

Подальші матеріали цього розділу не викликають суттєвих зауважень. В роботі використані відомі методики експериментальних досліджень і обробки отриманих результатів.

Результати експериментальних досліджень дисертанта викладені в розділах 3 – 9. Вони починаються з порівняльного вивчення накопичення біомаси штамми за стандартних умов культивування і представлені на Рис. 3.2. Таке представлення результатів експериментів є компактним і наочним, але для наукової роботи не є найкращим. Воно не показує результатів статистичної обробки по кожному виду. Це зауваження стосується і всіх подальших розділів роботи. Більш правильним є представлення результатів в тексті роботи у вигляді таблиць, а діаграми можна було б винести в додаток, як це зробив дисертант в Додатку А, де міститься частина рисунків, що ілюструють дані деяких таблиць основного матеріалу.

В подальшому дисертант переходить до досліджень біотехнологічних процесів і розглядає можливості біоремедіації забруднених середовищ і розкладання відходів ряду галузей промисловості та сільського господарства з залученням ксилотрофних базидієвих грибів. Розглядається також вплив хімічних речовин на інтенсивність та можливість регуляції процесів.

Важливим розділом дисертаційної роботи можна вважати матеріали досліджень антиоксидантної активності міцеліальних культур базидієвих грибів і можливостей регуляції такої активності. Такі дослідження можуть мати великі перспективи широкого практичного застосування.

В розділі 7 дисертант приділив особливу увагу каталазним і пероксидазним ферментним комплексам і здійснив їх порівняльне вивчення

у відібраних штамів базидієвих грибів. Виконані дослідження дозволили виявити штами грибів, що характеризуються порівняно високою пероксидазною активністю як в міцелії, так і в культуральному фільтраті.

На наш погляд, оцінка дисертантом перспектив промислового використання каталаз і пероксидаз з базидієвих грибів є надто оптимістичною. Існують менш затратні технології виробництва цих ферментів. В той же час медичне використання їх є цілком виправданим.

Це стосується і міркувань стосовно поліфенольних сполук базидієвих грибів, яким присвячений 8 розділ дисертації. Ці сполуки дійсно мають комплекс цінних споживчих властивостей, але базидієві гриби значно поступаються мікроміцетам як за вмістом цих речовин, так і за швидкістю росту. Приклади цього наводить і сам дисертант в підрозділі 8.2. відносно каротиноїдів. Що до меланінів ми повністю погоджуємось з дисертантом відносно їх біологічної цінності, проте наші думки розходяться що до їх широкого практичного використання.

Заключний експериментальний розділ 9, названий «Розробка біотехнологічних способів використання прооксидантно-антиоксидантних властивостей базидієвих грибів», є логічним завершенням дисертаційної роботи. Автор дослідив антиоксидантну активність ферментних препаратів, отриманих з культур вивчених грибів, які були випробувані на молокозсідальну, пероксидазну та каталазну активності. Це цікаві наукові результати, на які можна спиратись при оцінці перспектив їх практичного використання. На жаль, шановний дисертант не розглядає ці питання і лише констатує, що ці дані «отримані нами для певних цілей» і не наводить в дисертації фізико-хімічні і технічні характеристики отриманих і вивчених ним ферментних препаратів.

В наступному підрозділі автор виклав свої результати і міркування стосовно розробки способу біоіндикації стану довкілля з використанням показників прооксидантно-антиоксидантної системи базидієвих грибів. На наш погляд, базидієві гриби не є зручним модельним об'єктом для

вирішення таких складних задач, і ця ідея потребує більш глибокого опрацювання.

Описана в підрозділі 9.3 розробка способу біоконверсії лігноцелюлозних відходів з використанням базидієвих грибів – продуцентів каротиноїдів, бачиться нам перспективною в практичному плані. Багато їстівних видів ксилотрофних грибів вирощуються в промислових масштабах на лігноцелюлозних субстратах для отримання плодових тіл. Після культивування грибів такі лігноцелюлозні субстрати збагачені грибним міцелієм, мають більш високу біодоступність і можуть використовуватись в якості кормових добавок та сировини для виділення біологічно активних речовин. Цей напрямок біотехнологічних робіт, на наш погляд, доцільно розвивати в Україні.

Розробка способу біодеструкції органічних сполук, що утворюються при окисненні аніліну з використанням базидієвих грибів – продуцентів пероксидаз і прооксидантних сполук, нам не здається перспективною. Це може мати науковий інтерес, але при промислової реалізації таких ідей суттєву перевагу мають мікрومیцети.

Висновки до 9 розділу дисертант починає з заяви: «Напіввиробничі і виробничі випробування способів практичного використання прооксидантно-антиоксидантної системи інтродукованих штамів базидієвих грибів в біотехнології: ...переконливо показали ефективність пропонованих методів і підходів». З тексту цього розділу не зрозуміло, що автор викладає результати саме «Напіввиробничих і виробничих випробувань ...». Інформація про умови таких випробувань в розділі 9 відсутня. На наш погляд, в розділі викладаються результати звичайних лабораторних досліджень.

Загальні висновки по дисертаційній роботі, на наш погляд, в основному відповідають результатам проведених досліджень і є обґрунтованими. При їх аналізі виникають деякі зауваження дискусійного характеру. Ми вважаємо, що в дисертаційній роботі недостатньо матеріалів



для ствердження, що «вперше розроблені біотехнології використання прооксидантно-антиоксидантної системи ... базидієвих грибів». Краще було би говорити про наукові обґрунтування для створення біотехнологій.

Висновок № 13 «Вперше розроблені та опрацьовані способи практичного використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів в біотехнології: отримані оксидоредуктази і рекомендовані продуценти антиоксидантів, проведена біоконверсія лігноцелюлозних відходів з використанням штамів – продуцентів каротиноїдів, біодеструкція органічних сполук – похідних аніліну і інші» також не базується на матеріалах, викладених в дисертації. Більш правильно було би розглядати виконані дослідження як пошукові.

Вілсносно ДОДАТКУ Б. «Розробка лабораторної ферментаційної установки для культивування базидієвих грибів». Дивує відношення дисертанта до цього фрагменту його роботи. В дисертації є лише коротка згадка про цю запатентовану розробку: «був випробуваний і глибинний метод вирощування штамів-продуцентів на удосконаленому ГПС в ферментерах (Додаток Б) [66]». На наш погляд, технологічна частина в дисертаційній роботі О.В.Федотова представлена слабо. В ній не вистачає саме розділу «Розробка лабораторної установки для культивування базидієвих грибів» з детальним описом, техніко-економічними показниками і прикладами отримання біомаси окремих штамів грибів. Але ця логічна і важлива частина роботи скинута в додаток лише в вигляді опису до патентної заявки.

Наукова новизна одержаних результатів. Ми можемо в основному погодитись з оцінкою наукової новизни дисертаційних досліджень, яку дає дисертант О.В.Федотов. Чисельні результати проведених експериментальних досліджень розширюють фундаментальні знання про біологічні і прооксидантно-антиоксидантні властивості та біосинтетичну активність ряду видів базидієвих грибів у культурі, створюючи наукові основи їх подальшого практичного використання.

Розроблені наукові засади біотехнології отримання і використання прооксидантно-антиоксидантної системи базидієвих грибів. Вперше комплексно вивчено та кількісно охарактеризовано прооксидантно-антиоксидантну систему 58 штамів 13 видів 9 родин відділу *Basidiomycota*. На основі отриманих даних простежено взаємозв'язок показників накопичення біомаси, перекисного окислення ліпідів та прооксидантної, антиоксидантної, оксидоредуктазної активностей в процесі культивування штамів базидієвих грибів в умовах періодичної поверхневої культури.

Вперше виявлено чинники культивування, які відкривають можливість регуляції синтезу прооксидантно-антиоксидантних речовин, активності ферментів і інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів. Розроблено науково обгрунтовані методичні підходи інтенсифікації біотехнології культивування біосинтетично активних штамів, що мають переваги перед відомими.

Практичне значення роботи полягає у створенні наукових засад біотехнологічного використання прооксидантно-антиоксидантних властивостей базидієвих грибів. Інтродуковано в культуру і депоновано у національн колекції культур шапинкових грибів 58 штамів, що належать до 13 видів базидієвих грибів.

Матеріали досліджень О.В.Федотова використані при підготовці підручника для студентів ВУЗів і були достатньо повно представлені в наукових публікаціях і апробовані на наукових конференціях. Новизна розробок, що мають перспективи практичного використання, захищена патентами України. Невеликі технічні помилки і деякі недоречності в тексті не зменшують цінності отриманих чисельних наукових результатів дисертаційної роботи О.В.Федотова.

Дисертаційна робота О.В.Федотова «Біотехнологічні засади регулювання і використання прооксидантно-антиоксидантної активності базидієвих грибів» оформлена належним чином і відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою

Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р., а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Доктор біологічних наук,  
головний науковий співробітник,  
радник директора Інституту  
клітинної біології та генетичної  
інженерії НАН України



Л.Ф.Горовий



Подпись Горового Л.Ф.  
Удостоверение Свистунюк С.В.  
Отделка про...

