

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Нціонального університету «Львівська політехніка» Гавриляк Вікторії Василівни на дисертаційну роботу **Яворської Наталки Йонівни** на тему **“Біологічно активні речовини пагонів лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum* L.) і їх вплив на мікробіоту та імунну систему”**, представлену до офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.002 Інституту біології тварин НААН, що утворена відповідно до наказу Міністерства освіти та науки України № 965 від 03.09.2021 р. з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 - «Біологія»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Дисертаційна робота Яворської Н. Й. присвячена комплексному вивченю вмісту біологічно активних речовин, антиоксидантної, антимікробної та імуномодулювальної активностей екстрактів пагонів лохини високорослої *Vaccinium corymbosum* L. різних сортів, які отримані мікроклональним розмноженням і вирощені в умовах Львівської області у різні стадії вегетації.

Відомо, що серед ягідних культур лохина високоросла (*Vaccinium corymbosum* L.) є однією з найдінніших, найрентабельніших, полівітамінних культур у світі. У структурі промислових садів України за оцінками фахівців її частка складає лише близько 0,12%. Це пов'язано з кількома причинами: з одного боку традиційна технологія вирощування садивного матеріалу, яка базується на основі стеблового живцювання, передбачає значні економічні витрати. З іншого, основними причинами, що стримують впровадження цієї культури у садівництві, є недостатнє вивчення її біологічних особливостей, сортового різноманіття та садивного матеріалу. Альтернативою традиційним технологіям вегетативного розмноження *V. corymbosum* може бути мікроклональне розмноження, що забезпечує отримання генетично ідентичного, однорідного, безвірусного посадкового матеріалу в достатніх кількостях для вирощування у промислових масштабах. Саме тому актуальним є пошук оптимальних умов мікроклонального розмноження, яке можна з успіхом використати у вирощуванні цієї культури.

Загальновідомо, що вирощують лохину в першу чергу заради ягід для безпосереднього споживання або на заморозку. Проте інші частини цієї рослини також можуть бути джерелом цінних біологічно активних речовин та мінеральних елементів. Беручи до уваги, що при вирощуванні лохини для збереження її продуктивності виконують обрізку пагонів, які найчастіше залишаються незатребуваними, особливої актуальності набуває ґрутове дослідження вмісту різноманітних біологічно активних речовин у екстрактах цих пагонах, а також вивчення їх можливих біологічних ефектів. Окрім того, такий підхід сприяє раціональному використанню цієї цінної культури.

Отже, виходячи з наведеного вище вважаю, що дисертаційна робота Яворської Наталки Йонівни на тему “Біологічно активні речовини пагонів лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum* L.) і їх вплив на мікробіоту та імунну систему” є актуальною і відповідає сучасним потребам науки і практики.

Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими програмами. Дослідження, представлені у дисертаційній роботі, є фрагментом науково-дослідних тем Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Синтез та перетворення нових фізіологічно активних речовин – похідних неконденсованих і конденсованих сульфур- та нітрогеновмісних гетероцикліческих систем, з використанням методів моделювання, вивчення фізико-хіміческих властивостей та проведення фармакологічного скринінгу одержаних сполук, дослідження різних видів дикорослих та культивованих рослин західного регіону України з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технології лікарських засобів нових складів та опрацювання сучасних методик фармацевтичного та токсикологічного аналізу» (№ держреєстрації 0116U004500) та Інституту біології тварин НААН України “З’ясувати біохімічні механізми формування імунної відповіді у тварин за умов зміни клімату та розробити способи підвищення адаптаційного потенціалу організму (№ держреєстрації ДР 0121U109377)”.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисерантка отримала такі наукові результати:

- вперше грунтовно вивчено біохімічні показники пагонів трьох сортів *V. corymbosum* L., а саме досліджено особливості накопичення основних груп БАР у пагонах сортів лохини у різні фази онтогенезу;
- вперше досліджено чутливість умовно-патогенних штамів низки бактерій та кандід до водних та водно-етанольних екстрактів з пагонів лохини високорослої. Показано, що антимікробна активність екстрактів пагонів сортів Блуджей, Блукроп, Еліот була різною і залежала від виду екстрагента, вмісту в екстрактах біологічно активних сполук та стадії збору рослинного матеріалу;
- встановлено особливості накопичення у пагонах лохини високорослої флавоноїдів, проантоціанідинів, дубильних сполук, аскорбінової, органічних і гідроксикорических кислот, хлорофілів, каротиноїдів, мінеральних елементів та арбутину на стадіях цвітіння, плодоношення, восени після плодоношення і в період підготовки до зимового спокою;
- розроблено оптимальні умови для субкультивування експлантів і розмноження *in vitro* лохини високорослої сортів Блуджей, Блукроп, Еліот.
- з'ясовано, що водні та водно-етанольні екстракти лохини високорослої суттєво впливали на В-клітинну та гуморальну ланки імунітету мурчаків.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено методику мікроклонального розмноження лохини високорослої *V. corymbosum* L. сортів

Блуджей, Блукроп, Еліот, підтверджену патентом на корисну модель № 142261 "Спосіб мікроклонального розмноження лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum* L.), що може забезпечити швидке отримання великої кількості безвірусного, генетично однорідного посадкового матеріалу для інтродукції.

Отримані дисертанткою результати розширяють існуючі дані щодо вмісту основних груп біологічно активних речовин та мінеральних елементів у пагонах *V. corymbosum* L. на різних стадіях вегетації рослин. Відомості про антиоксидантну, антибактерійну, імуномодулювальну та антиканцерозну активності екстрактів *V. corymbosum* L. можуть стати підґрунтям для використання пагонів лохини високорослої як джерела лікарської рослинної сировини.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедр ботаніки Львівського національного університету імені Івана Франка, фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, генетики, фізіології рослин і мікробіології ДВНЗ «Ужгородський національний університет».

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі. Усі узагальнення та висновки, наведені у дисертаційній роботі, ґрунтуються на матеріалах власних досліджень і відображають закономірності, які були виявлені шляхом аналізу отриманих авторкою результатів. Робота виконана на високому методичному рівні із застосуванням сучасних методів досліджень, які є адекватними до поставленої мети та визначених завдань.

Усі отримані результати опрацьовані статистично за допомогою відповідних методів математичної статистики. Ретельний аналіз отриманих результатів дав змогу дисертантці їх узагальнити та зробити висновки, як до окремих розділів, так і до роботи загалом. Усі висновки повністю відповідають змісту роботи.

Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. За результатами дисертації опубліковано 26 наукових праць, в тому числі 2 статті у періодичних наукових виданнях інших держав, які входять до Організації економічного співробітництва та розвитку та Європейського Союзу, 6 статей в наукових фахових виданнях України, 16 тез доповідей та матеріалів конференцій, один патент на корисну модель. Усі публікації повністю відображають основні результати дисертаційного дослідження. Зміст анотації є ідентичний до основних положень дисертації.

Основні положення дисертаційної роботи достатньо апробовані на міжнародних конференціях та конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота Яворської Н. Й. побудована традиційно, викладена на 202 сторінках (основна частина - 180 сторінок друкованого тексту) і включає вступ, огляд літератури, опис

матеріалів і методів досліджень, власні дослідження, аналіз і узагальнення одержаних результатів, висновки, список використаних джерел, який містить 347 найменувань (34 кирилицею і 313 латиницею) та додатки. Дисертація проілюстрована 42 таблицями та 13 рисунками.

Актуальність досліджуваної проблеми, зв'язок дисертаційної роботи з плановими темами, мета та завдання досліджень, наукова новизна та їх практичне значення, особистий внесок дисертантки, апробація результатів роботи, наявні публікації за темою дослідження викладені у *Вступі*.

Розділ 1 «Сучасний стан досліджень лохини високорослої *Vaccinium corymbosum* L. викладений на 25 сторінках (с. 30-55). У ньому дисертантка проаналізувала стан досліджуваної проблеми, ґрунтовно охарактеризувала дані літератури про основні групи біологічно активних сполук лохини високорослої *Vaccinium corymbosum* L. Значну увагу автор приділила антимікробній дії рослин та окремо біологічно активних речовин у їх складі, механізмам їх антибактеріальних та протигрибкових ефектів. Зроблено також акцент на впливі рослин на імунну систему ссавців.

Розділ містить достатню кількість посилань на літературні джерела.

Розділ 2 «Матеріали і методи досліджень» (с. 56-72) містить детальну інформацію про загальну методологію експериментів, матеріали, методики та реактиви, які були використані при проведенні досліджень. Слід відзначити, що усі використані методи є адекватними для реалізації поставлених завдань. Статистична обробка отриманих результатів проведена з використанням відповідних критеріїв.

Результати власних досліджень представлені у **Розділі 3** і викладені на 79 сторінках (с. 73-152). У підрозділі 3.1 наведено дані щодо впливу оптимізованого живильного середовища на регенераційну здатність експлантів. Встановлено діючі концентрації регулятора росту 2iP у модифікованому живильному середовищі WPM для трьох сортів *V. corymbosum* L. Отже, авторка запропонувала оптимальні умови для субкультивування експлантів і розмноження *in vitro* визначених сортів *V. corymbosum*, що забезпечує одержання генетично однорідного, безвірусного садивного матеріалу.

У підрозділі 3.2 дисертантка детально аналізує основні групи БАР у екстрактах пагонів *V. corymbosum* сортів Блуджей, Блукроп та Еліот, які відрізняються за стадіями вегетації. Показано, що накопичення БАР у пагонах лохини високорослої суттєво залежить як від сорту, так і стадії вегетації. У екстрактах вміст різноманітних біологічно активних речовин також залежить від виду екстрагента. Дисертанткою досліджено вміст мінеральних елементів у пагонах та плодах лохини високорослої, а також і у ґрунтах, на яких вони зростали, що дало їй можливість зробити висновок про достатній рівень Mn, Zn та Cu у пагонах, що можна використати для компенсації нестачі мікроелементів.

У підрозділі 3.3 представлені експериментальні результати щодо вивчення антимікробної активності екстрактів пагонів *Vaccinium corymbosum* L. Було з'ясовано, що чутливість досліджуваних штамів

грампозитивних і грамнегативних бактерій, а також кандід до екстрактів пагонів лохини високорослої істотно залежить від сорту лохини, пори, в яку було зібрано пагони, а також виду екстрагенту. Характерно, що антибактерійна та антикандідозна активність екстрактів була найвищою при використанні водного етанолу з концентрацією 60-80 %.

Підрозділ 3.4 присвячений вивченю імунного статусу мурчаків за дії екстрактів пагонів *Vaccinium corymbosum* L. Дисеранткою встановлено зміни у імунологічному гомеостазі організму мурчаків за дії водно-етанольного та водного екстрактів пагонів *V. corymbosum*, які супроводжуються зсувами В-клітинної та гуморальної ланки імунітету.

У Розділі 4 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» (с. 156-159) автор узагальнила отримані результати, порівняла їх з літературними даними, що свідчить про її здатність фахово аналізувати та обґрунтовувати результати наукових досліджень.

За результатами дисертаційного дослідження зроблено 11 висновків, які базуються на статистичному аналізі та повністю відповідають отриманим результатам.

Список використаних джерел містить 347 публікацій, переважно опублікованих впродовж останніх 10 років, що свідчить про знання дисеранткою сучасної літератури за темою дисертаційного дослідження.

Дискусійні питання, зауваження і пропозиції.

Позитивно оцінюючи дисертаційну роботу загалом, слід відзначити деякі зауваження та побажання:

1. Вважаю, що некоректно говорити про дослідження впливу екстрактів лохини високорослої на мікробіоту, оскільки у дисертації представлені результати вивчення antimікробної активності різних екстрактів на деякі штами грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також кандіди. А мікробіота, як відомо, це полікомпонентна, строго збалансована екологічна система, представлена мікроорганізмами, що живуть в організмі людини чи тварин та виконують низку функцій.

2. У Розділі 2 вказано, що живильне середовище WPM модифікували регулятором росту 2iP (різні концентрації), зеатином, аденоінгемісульфатом (40 мг/л і 80 мг/л), хелатним залізом Sequesrtine 138 (50 мг/л і 100 мг/л), проте у розділі 3, де представлено результати дослідження (Табл. 3.2., с. 75) вказано лише, як змінюється концентрація регулятора росту. Тому незрозуміло, чи впливали якимось чином різні концентрації цих складників у живильному середовищі на коефіцієнти розмноження та висоту мікропагонів *Vaccinium corymbosum* L.

3. Чому для фітохімічного скринінгу БАР були обрані саме 60 % водно-етанольні екстракти пагонів лохини високорослої.

4. У таблиці 3.7 (с. 83) представлені результати антиоксидантної активності екстрактів пагонів *V. corymbosum* L. сорту Еліот, які були зібрані у періоди цвітіння, плодоношення та підготовки до зимового спокою, проте не наведені результати для періоду збору пагонів восени після плодоношення. Чи

це просто упущення авторки, чи були якісь об'єктивні причини, чому для цього періоду не визначали антиоксидантну активність екстрактів?

5. Вважаю, що при аналізі антимікробної активності отриманих екстрактів коректніше говорити про чутливість мікроорганізмів до них, враховуючи той факт, що висока чутливість мікроорганізмів характерна при ДЗЗР більше 25 мм, помірна – при ДЗЗР 15-25 мм, низька - при ДЗЗР 11-15 мм, а нечутливість мікроорганізмів спостерігається при ДЗЗР менше 10 мм.

6. У роботі зустрічаються технічні помилки, невдалі вирази, орфографічні та стилістичніogrіхи.

При рецензуванні роботи виникли наступні запитання дискусійного характеру:

- Чим зумовлені такі суттєві відмінності у вмісті деяких мінеральних елементів (Cu, Co, Cr, Mn) у пагонах *V. corymbosum* L. різних сортів та як впливає стадія вегетації лохини високорослої на накопичення мінеральних елементів?

- У підрозділі 3.4 представлено результати досліджень щодо впливу екстракту пагонів лохини високорослої сорту Еліот на імунний статус мурчаків. У зв'язку з цим хотілося б почути думку дисертації, як будуть екстракти різних сортів лохини впливати на імунну систему тварин і який механізм цієї дії?

- Відомо, що для вирощування лохини високорослої переважно використовують насіння. Враховуючи отримані Вами результати щодо мікроклонального розмноження, чи можете Ви оцінити, який метод є економічно вигіднішим, чи прорахувалася собівартість методу мікроклонального розмноження лохини.

Вказані вище зауваження та запитання носять здебільшого рекомендаційний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Яворської Н. Й.

Висновок. Підсумовуючи проведений аналіз та оцінку роботи Яворської Н. Й. на тему “**Біологічно активні речовини пагонів лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum* L.) і їх вплив на мікробіоту та імунну систему**” необхідно відзначити, що дисертація є самостійною завершеною працею, в якій викладені нові експериментальні дані про вміст БАР у екстрактах пагонів лохини високорослої, оцінено протимікробний потенціал цих екстрактів, а також їх вплив на імунний статус лабораторних тварин. Отримані авторкою результати мають практичний потенціал і можуть бути використані при вирощуванні лохини високорослої, а також як лікарської рослинної сировини.

Враховуючи все вище сказане, вважаю, що дисертаційна робота “**Біологічно активні речовини пагонів лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum* L.) і їх вплив на мікробіоту та імунну систему**” є завершеною науковою працею, яка за актуальністю обраної теми, науковою новизною, практичною значимістю, обсягом виконаних досліджень, достовірністю отриманих результатів, повнотою публікацій повною мірою відповідає вимогам «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора

філософії», затвердженого Постановою КМУ № 167 від 6 березня 2019 року (зі змінами, затвердженими постановою КМУ № 979 від 21 жовтня 2020 р.), а її авторка, Яворська Наталка Йонівна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент:

професор кафедри технологій біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»,
доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

В. В. Гавриляк

Підпис Гавриляк В.В. засвідчує
Вчений секретар Національного університету
«Львівська політехніка»

Р. Б. Брилинський

