

Голові разової спеціалізованої ради
Херсонського державного університету
доктору біологічних наук, професору
Івану МОЙСІЄНКО
вул. Шевченка, 14, м. Івано-Франківськ,
76018, Україна

ВІДГУК

офіційного опонента – АКУЛОВА Олександра Юрійовича, кандидата біологічних наук, доцента, доцента кафедри фізіології та біохімії рослин і мікроорганізмів, Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, Заслуженого працівника освіти України
на дисертаційну роботу МІШУСТІНА Руслана Ігоровича «Ентомофільні *Laboulbeniomycetes* України», представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність теми дисертаційної роботи

Дисертація Мішустіна Руслана Ігоровича присвячена вивченню різноманіття та поширення лабульбенієвих грибів на території України, а також особливостям їхньої взаємодії у системі паразит–господар. *Laboulbeniomycetes* — велика, своєрідна й водночас надзвичайно складна для дослідження група грибів, переважна більшість яких є ектопаразитами або коменсалами на членистоногих, насамперед на комах. Ці гриби характеризуються дрібними, малопомітними таломами, що колонізують тіла живих, активних комах. Їхнє дослідження ускладнюється необхідністю застосування спеціалізованих ентомологічних методів збору, а також точної ідентифікації комах-господарів, на яких вони розвиваються. У світовому масштабі лише невелика кількість фахівців займається цією групою, а в Україні *Laboulbeniomycetes* донині ніколи не були об'єктом глибоких цілеспрямованих досліджень.

Дисертаційна робота піднімає важливі питання закономірностей поширення цих грибів, їхньої субстратної спеціалізації, характеру взаємодії у системі паразит–господар та ролі в екосистемах. Попри багатий видовий склад і поширення ентомофільних грибів на території України, дотепер вони залишалися малодослідженими через свої мікроскопічні розміри, складність виявлення та ідентифікації, а також через відсутність фахівців у цій вузькій науковій галузі. Саме тому актуальність виконаного дослідження не викликає жодних сумнівів.

Наукова новизна і практична цінність дисертаційної роботи

Робота виконана на кафедрі ботаніки Херсонського державного університету в межах госпдоговірних тематик: «Ведення кадастру природно-заповідних територій та об'єктів природно-заповідного фонду» і «Картування оселищ європейського значення та вивчення стану популяцій видів флори і фауни, занесених до Бернської конвенції».

У результаті проведених досліджень дисертант виявив 135 видів лабульбенієвих грибів, що належать до 43 родів, 3 родин і 2 порядків, з яких 113

видів (або 83,7% від загального видового складу) виявилися новими для території України. Два види — *Distolomyces euxinus* W. Rossi & Mishustin та *Rhachomyces cimmeritei* W. Rossi & Mishustin — описані як нові для науки. Вперше для країни наведено 33 роди, 2 родини та 1 порядок.

Лабульбенієві гриби були виявлені на 184 видах членистоногих, що належать до 117 родів, 27 родин, 7 рядів та 2 класів. Встановлено, що найбільша кількість видів грибів (156) паразитує на представниках ряду Coleoptera. При цьому значна частина виявленого різноманіття приурочена до комах, які мешкають у прибережних біотопах.

Матеріали дисертації вже впроваджено в навчальний процес Херсонського державного університету під час викладання дисципліни «Мікологія». Вперше в Україні створено спеціалізовану мікотеку (547 постійних мікропрепаратів), яку внесено до гербарію кафедри ботаніки Херсонського державного університету (KHER-L). Окрім цього, автором розроблено власну методику виготовлення препаратувальних голок для роботи з мікроскопічними структурами лабульбенієвих грибів, а також уперше розроблено методику транспортування сланей ентомофільних грибів на предметному склі з лунками.

Робота Руслана Ігоровича Мішустіна значно розширює наші знання про різноманіття представників Laboulbeniomyces України, водночас виходячи за рамки суто регіональних досліджень. Отримані результати мають важливе значення для розуміння місця цієї групи грибів у глобальному масштабі, оскільки дозволяють уточнити загальні закономірності їхньої еволюції, екологічних взаємодій та біогеографічного поширення. Дослідження створює концептуальну та методичну основу для майбутніх робіт, спрямованих на глибше вивчення систем гриб–комаха як в Україні, так і за її межами.

Обґрунтованість і достовірність наукових висновків

Метою дисертаційної роботи Мішустіна Руслана Ігоровича було встановлення та аналіз видового складу ентомофільних грибів класу Laboulbeniomyces на території України. Серед завдань дослідження передбачалися, зокрема, порівняння видового складу української лабульбеніомікоти з даними з інших добре досліджених європейських країн, аналіз таксономічних і екологічних особливостей комах-господарів, а також дослідження ареалогічної структури та розподілу грибів за основними біотопами.

Матеріальною основою дослідження стали зразки грибів, зібрані автором у 41 локалітеті протягом 2021–2024 років. Крім того, було залучено матеріали фондів колекцій Інституту зоології ім. І. Шмальгаузена НАН України (SZIK), Ужгородського національного університету та низки приватних колекцій, що дозволило додатково охопити 98 локалітетів майже з усіх адміністративних районів України.

Визначення зразків здійснювалися за допомогою світлової мікроскопії з використанням спеціалізованих ключів, каталогів і монографій. У складних випадках до визначення залучалися провідні міжнародні фахівці — В. Россі (Італія), А. Де Кессель (Бельгія), С. Сантамарія (Іспанія). Ідентифікацію таксонів комах-господарів проводили або підтверджували спеціалісти-ентомологи. Усі досліджені зразки були депоновані в гербарії (KHER).

Дисертаційна робота має чітку структуру, логічно відповідає поставленій меті та сформульованим завданням. Для їх виконання здобувач застосував адекватні для обраного об'єкта дослідження методи й забезпечив достатній обсяг фактичного матеріалу. Представлене дослідження є новим, унікальним і завершеним науковим проектом, що вирізняється чітким експериментальним дизайном і логічною побудовою. Зроблені у роботі висновки ґрунтуються на репрезентативній фактичній базі, а також на застосуванні сучасних методів збору та аналізу даних, що відповідають міжнародним стандартам.

Повнота викладення здобувачем основних результатів

Апробація результатів дисертаційної роботи Руслана Ігоровича Мішустіна повністю відповідає вимогам до здобувачів ступеня доктора філософії. Загалом дисертант має 13 публікацій, з яких 4 статті опубліковані у міжнародних рецензованих наукових журналах, індексованих у Web of Science та Scopus (зокрема Czech Mycology, Folia Cryptogamica Estonica, Cryptogamie, Mycologie), одна стаття – у науковому фаховому виданні України (Чорноморський ботанічний журнал), 7 публікацій – це тези доповідей на всеукраїнських і міжнародних наукових конференціях, а одна робота є науково-популярною публікацією, що висвітлює тему дослідження для ширшої аудиторії.

Результати досліджень доповідалися на Міжнародній конференції «Ужгородські ентомологічні читання» (2022, 2023 та 2024 рр.), Науково-практичній конференції «Актуальні проблеми вивчення ентомофауни західного регіону України», XV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біологічні дослідження – 2024», XV З'їзді Українського ботанічного товариства, а також на Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 25-річчю створення Ужанського національного природного парку.

Тематика публікацій охоплює всі аспекти, представлені у дисертаційній роботі: опис нових видів і нових знахідок *Laboulbeniomycetes*, морфологічні та анатомічні дослідження, аналіз зв'язків грибів з комахами-господарями, біогеографічні закономірності поширення. Здобувач детально характеризує таксони, а також здійснює всебічний аналіз їхньої ролі в екосистемах.

Особливої уваги заслуговує публікація, у якій описуються нові для науки види. Наявність серед співавторів міжнародно-визнаного експерта Вальтера Россі (W. Rossi) демонструє залучення дисертанта до міжнародної співпраці і підвищує наукову значущість отриманих результатів. Важливо, що публікації не є суто технічними або допоміжними — вони безпосередньо відображають зміст основних розділів дисертації та підтверджують виконання поставлених завдань.

Таким чином, публікаційний доробок Руслана Ігоровича Мішустіна є достатнім як за кількістю, так і за якістю, та повною мірою відображає зміст, наукову новизну й основні результати дисертаційного дослідження.

Оцінка мови, стилю та оформлення дисертації

Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку літератури, семи додатків і списку опублікованих праць автора. Обсяг основного тексту становить 158 сторінок друкованого тексту. Робота добре ілюстрована: містить п'ять таблиць та 79 оригінальних, високоякісних рисунків.

Список використаних джерел включає 194 найменування, з яких 11 кирилицею, а 183 — латиницею.

Рукопис написано літературною українською мовою чітко, зрозуміло та послідовно, з дотриманням наукового стилю. У тексті трапляються поодинокі механічні помилки, невдалі конструкції або русизми. Наприклад, на с. 12: «*Laboulbeniomycetes* – це оригінальна група грибів...» та «Субстратом для зростання *Percomycetales* та *Laboulbeniales* є членистоногі...», на с. 52: «...сверлилися лунки розміром біля 1 мм діаметром та 0,5 мм глибиною». Назва італійського міста Л'Аквіла у тексті помилково подається як «Л'Акуила», а прізвище вченого Scheloske коректно передавати українською як Шелоске, а не «Щолоске». Не дуже вдалим є формулювання: «Спори (аскоспори) продукуються лише в перитеціях», «Придатки ... є найбільш гіфоподібними структурами слані» (с. 28), «чоловічих гамет сперматозоїдного типу (спермації)» (с. 30). Замість терміна «безстатеві спори» коректніше використовувати формулювання «нестатеві спори». Фраза «за певних умов, взаємодія лабульбенієвого гриба та членистоногого-носія може носити симбіотичний характер» (с. 33) є невдалою з огляду на те, що і паразитизм, і мутуалізм є різновидами симбіозу. У деяких абзацах спостерігається надмірна насиченість інформацією, що дещо ускладнює сприйняття тексту.

Загалом ці недоліки мають технічний характер, не впливають на розуміння змісту й не знижують загального позитивного враження від роботи.

Аналіз змісту дисертації

Перший розділ присвячено огляду літератури та аналізу наявних даних про ентомофільні гриби класу *Laboulbeniomycetes*. У ньому узагальнено історію вивчення лабульбенієвих грибів у світі та в Україні, виокремлено основні етапи досліджень: дотакстерівський, такстерівський і сучасний молекулярний періоди. Окрема увага приділена історії вивчення цієї групи в Україні. На момент початку дисертаційного дослідження, за підрахунками самого дисертанта, для території України було відомо лише 22 види лабульбенієвих грибів. Цей розділ створює основу для подальшого аналізу, підкреслюючи масштаб прогалин у знаннях та актуальність проведеного дослідження.

Другий розділ дисертаційної роботи присвячено загальній характеристиці ентомофільних грибів класу *Laboulbeniomycetes*. У ньому систематизовано дані про морфологію таломів, механізми статевого розмноження, відмінності між одноклітинними й двоклітинними видами, особливості прикріплення до тіла господаря та значення окремих структур у таксономії. Окремий підрозділ розглядає взаємовідносини цих грибів з господарями, зокрема питання паразитизму та коменсалізму, а також специфічність розміщення таломів на певних ділянках тіла членистоногих. У розділі також узагальнено дані про шляхи передачі спор *Laboulbeniomycetes* між особинами господарів та умови, необхідні для збереження їхніх популяцій. Цей розділ формує теоретичне підґрунтя для розуміння екологічних і еволюційних особливостей досліджуваної групи грибів.

Серед недоліків другого розділу дисертації можна назвати доволі плутаний опис будови слані і етапів її розвитку. Дуже не вистачає узагальненої схеми життєвого циклу лабульбенієвих грибів.

Третій розділ дисертаційної роботи присвячено опису матеріалів та методів дослідження. У ньому детально викладено джерела дослідного матеріалу, зокрема зразки, зібрані автором, а також матеріали з фондових і приватних колекцій. Докладно описано методи збору комах, включаючи візуальний пошук, застосування різних типів пасток, просіювання та використання спеціалізованого обладнання. Окремі підрозділи присвячено камеральним методам, а саме первинному сортуванню матеріалу, відділенню грибів від комах, виготовленню постійних мікропрепаратів, визначенню таксонів комах і грибів, створенню мікотеки, а також системі зберігання зразків. Серед недоліків розділу варто відзначити відсутність опису програмного забезпечення та методів, що використовувалися для подальшого аналізу та візуалізації отриманих даних.

Четвертий розділ дисертаційної роботи присвячений таксономічній новизні та поширенню виявлених видів. Для кожного виду подано дані про комах-господарів, екологічні особливості, поширення у світі та на території України. Для видів, нових для науки, наводяться детальні морфологічні описи. Схема викладу матеріалу є уніфікованою: вказується наукова назва, номенклатурна характеристика, інформація про господарів, екологічні особливості, географічне поширення та конкретні українські локалітети. Важливою перевагою розділу є наявність якісних оригінальних фотографій таломів, які слугують надійним підтвердженням їх виявлення та цінним ілюстративним матеріалом для подальших досліджень.

П'ятий розділ дисертаційної роботи є основним аналітичним блоком, у якому узагальнено, систематизовано та всебічно проаналізовано видовий склад, систематичну структуру, зв'язки у системі паразит–господар, ареалогічні особливості та біотопічний розподіл ентомофільної лабульбеніомікоти України. На основі критичного аналізу літературних даних та власних знахідок автор сформував повний список виявлених видів, окреслив їхню таксономічну структуру та здійснив порівняльний аналіз із видовими складами інших європейських країн.

У цьому розділі докладно проаналізовано, на яких групах членистоногих паразитують лабульбенієві гриби, які ряди, родини та види є найбільш уражуваними, а також висвітлено їхню трофічну та екологічну спеціалізацію. Проведений ареалогічний аналіз дозволив виділити основні типи ареалів (європейські, євразійські, гемікосмополітні тощо) й показати, як українська лабульбеніомікота вписується в ширший біогеографічний контекст. Вперше представлено аналіз біотопічного розподілу видів за основними екосистемами України: прибережними, лісовими, степовими, антропогенними тощо, що дало змогу виявити екологічні закономірності та уподобання цієї малодослідженої групи грибів. Цей розділ ґрунтується на оригінальних даних, отриманих завдяки масштабним польовим і камеральним дослідженням, і є ключовим для обґрунтування наукової новизни та практичної цінності дисертаційної роботи.

Як зауваження до п'ятого розділу дисертації можна зазначити відсутність інформації про загальну кількість знахідок і відносну рясність кожного виду. Було б доцільно виділити види-домінанти та види-сінглетони (представлені лише однією знахідкою), проаналізувати розподіл видів за частотами їх виявлення, а також з використанням математичних моделей надати прогноз

потенційної загальної кількості видів лабульбенієвих грибів, які можуть бути виявлені на території України.

Порівняння видового складу лабульбеніомікоти України з іншими добре вивченими країнами Європи лише за критерієм «спільні / відмінні види» є занадто спрощеним. Значно інформативнішим було б застосування кластерного аналізу або побудова графа подібності на основі коефіцієнтів видової подібності, що дозволило б виявити структуру зв'язків і ступінь спорідненості мікобіот різних регіонів.

При дослідженні взаємодії паразит-хазяїн було б доцільно використати сучасні аналітичні і візуалізаційні методи, такі як теплові карти (heatmap), силові мережі (force-directed) або дендрограми, що могло б наочно показати структуру зв'язків, рівень спеціалізації та подібність між таксонами, а також значно підсилити аналітичну частину дослідження.

Загальним зауваженням до змістової частини дисертації є недостатньо глибокий математичний аналіз отриманих даних, хоча обсяг і якість первинного матеріалу цілком дозволяють його провести. Водночас це зауваження не знижує загального позитивного враження від роботи й радше є побажанням для подальших досліджень автора.

Висновки дисертаційної роботи Руслана Ігоровича Мішустіна включають 6 пунктів, які є логічними, обґрунтованими та впливають із самого змісту проведеного дослідження. Аналіз висновків свідчить, що поставлені завдання виконані в повному обсязі, а загальна мета дослідження досягнута. Висновки демонструють глибоке розуміння здобувачем проблематики, а також його внесок у розвиток систематики та біогеографії *Laboulbeniomycetes* в Україні.

Загалом робота справляє позитивне враження, відзначається логічною структурою, послідовністю викладу та взаємозв'язком розділів, а наявні окремі недоліки не впливають на її високу наукову оцінку.

В якості наукової дискусії хотілося б отримати від дисертанта відповіді на наступні запитання:

1. У роботі зазначено, що лабульбенієві гриби можуть бути як ектопаразитами, так і коменсалами. У чому полягає принципова різниця між цими стратегіями живлення, і якими методами можна визначити тип живлення конкретного виду?
2. Чим можна пояснити, що господарями більшості лабульбенієвих грибів є переважно хижі комахи, які населяють прибережні біотопи?
3. Що відомо про еволюційне походження та період виникнення лабульбенієвих грибів? Які інші групи сумчастих грибів є з ними найбільш спорідненими?
4. Якою, на вашу думку, є еволюційна доцільність наявності окремих чоловічих і жіночих таломів у лабульбенієвих грибів, з огляду на те, що у більшості видів сумчастих талом поєднує обидва типи гаметангіїв, а самозапліднення виключається за рахунок генетичної несумісності?
5. Чи коректно говорити про субстратну спеціалізацію або належність до певного типу ареалу для рідкісних чи недостатньо досліджених видів, відомих лише за поодинокими знахідками на окремих видах комах у певних регіонах?

6. Для більшості грибів основним маркером для молекулярної ідентифікації є ген ITS. Чому ж у випадку лабульбенієвих грибів перевага надається послідовностям SSU?
7. На сьогодні у базі GenBank представлені послідовності маркерних генів менш ніж для 5 % видів лабульбенієвих грибів. Які чинники стримують активізацію таких досліджень, і які методи консервації зразків слід застосовувати, щоб зберегти їх придатними для молекулярно-генетичного аналізу протягом тривалого часу?

Висновок опонента

Дисертаційна робота Мішустіна Руслана Ігоровича є першим цілеспрямованим дослідженням лабульбенієвих грибів в Україні та містить нові, оригінальні та важливі дані про їх різноманіття, поширення та субстратну спеціалізацію. Аналіз тексту дисертації свідчить про відсутність порушення автором вимог академічної доброчесності. У роботі наявні посилання на відповідні джерела інформації у разі використання ідей, розробок, тверджень, дотримано вимоги норм законодавства про авторське право. У рецензованій дисертації не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації.

Анотація у повній мірі відображає зміст роботи. Вона не містить положень чи ідей, які не наведені в основному тексті дисертації.

На підставі проведеного аналізу можна зробити висновок, що за своєю актуальністю, обсягом виконаних досліджень, теоретичною і практичною цінністю, науковою новизною, достовірністю отриманих результатів, обґрунтованістю висновків та оформленням дисертаційна робота Мішустіна Руслана Ігоровича «Ентомофільні Laboulbeniomycetes України» є завершеним науковим дослідженням, яке 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 від 12 січня 2022 р. № 44 (редакція від 01.01.2024 р.). Дисертація оформлена згідно з вимогами Наказу МОН України від 12.01.2017 р. № 40 (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки № 759 від 31.05.2019 р.).

Вважаю, що Мішустін Руслан Ігорович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Офіційний опонент

Заслужений працівник освіти України,
кандидат біологічних наук, доцент
кафедри фізіології та біохімії рослин
і мікроорганізмів, Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна

Олександр АКУЛОВ