

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу РЯБОЇ Ірини Анатоліївни «Молекулярно-біологічна характеристика вірусів малини й ожини та їх поширення в Поліссі та Лісостепу України», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 20-Аграрні науки та продовольство за спеціальністю 203-Садівництво, плодоовочівництво та виноградарство

**Актуальність теми дисертаційного дослідження.** Малина та ожина є економічно важливими ягідними культурами в Україні, проте їх врожайність значною мірою залежить від фітосанітарного стану, зокрема від наявності або відсутності вірусних інфекцій. Актуальність дослідження вірусів роду *Rubus* зумовлена необхідністю вивчення їхнього поширення, біологічних та молекулярних характеристик, а також впливу на врожайність. Ці знання мають велике значення як для фундаментальної науки, так і для аграрного сектору, адже дозволяють покращити продуктивність насаджень малини й ожини й уникнути швидкого розповсюдження патогенів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами.** Дисертація є складовою частиною науково-дослідних тем Інституту садівництва НААН: 19.01.02.01.Ф «Розроблення теоретичних основ систем розмноження і сертифікації садивного матеріалу плодових, ягідних і декоративних культур на безвірусній основі (0116U000653, 2016-2020); 14.00.03.03.Ф «Розроблення біотехнологічних основ створення, розмноження і контролю якості садивного матеріалу плодових і ягідних культур» (0121U108148, 2021-2025).

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Аналіз матеріалів, викладених в дисертації, показав, що автор чітко визначила мету роботи, задачі дослідження, наукову новизну отриманих результатів. Завдання, визначені автором для виконання роботи, логічно витікають із сформульованої мети дослідження та сприяють її досягненню. Об'єкт і предмет дослідження відповідають меті і завданням роботи. Наукові положення дисертаційної роботи в повній мірі обґрунтовано пріоритетністю досліджень, актуальністю наукової проблеми, доцільністю та

нагальною необхідністю вивчення вірусів малини й ожини. Наведено математичну обробку отриманих показників, що вказує на їх достовірність.

**Метою досліджень** було вивчення видового складу і поширення вірусів малини й ожини в Україні та дослідження молекулярно-біологічних властивостей виділених ізолятів. У процесі роботи виконувалися такі завдання: провести скринінгові дослідження насаджень рослин роду *Rubus* spp., відібрати візуально здорові та рослини із симптомами, характерними для інфікування вірусами та фітоплазмами; провести діагностику зразків малини й ожини на наявність вірусів й фітоплазм методами ІФА та ЗТ-ПЛР; вивчити генетичне різноманіття виділених ізолятів RBDV і RLBV; оцінити ефективність противірусних препаратів різного походження для елімінації RBDV в умовах культури *in vitro*; удосконалити підходи до сертифікації садивного матеріалу малини й ожини в Україні; дослідити вплив RBDV на функціональний стан і продуктивність рослин малини й ожини; провести економічне оцінювання шкідливості RBDV у насадженнях малини й ожини.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено широкий скринінг поширення 14 вірусів на насадженнях малини й ожини. Вперше виявлено вірус кущистої карликовості малини (RBDV) в зразках ожини та вірус хлорозу жилок малини (RVCV) у малині. Також проведено детальний молекулярно-генетичний аналіз ізолятів RBDV з обох досліджуваних культур, встановивши, що вони належать до S групи. Ці результати досліджень дають розуміння, чому вірус не вражає сорти з певною генетичною стійкістю. Крім того, вперше досліджено ефективність комплексних противірусних препаратів (ацикловір, озельтамівір, римантадин) як засобів елімінації RBDV в культурі *in vitro*, а також проаналізовано, вплив вірусної інфекції на продуктивність сортів малини вітчизняної селекції та сортів, придатних до поширення в Україні.

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримано вільні від вірусів клони малини й ожини для подальшого розмноження і закладання насаджень різних типів. Сформовано рекомендації щодо оптимізації процесу сертифікації садивного матеріалу малини й ожини. Запропоновано внести зміни до діючих стандартів з визначення фітовірусологічного статусу садивного матеріалу кущових ягідних культур.

**Повнота викладу матеріалу в наукових публікаціях, зарахованих за темою дисертації.** Основні положення дисертації викладено в 7 наукових працях, серед них 4 статті, у тому числі три статті опубліковані у фахових вітчизняних виданнях та одна - в зарубіжному виданні.

**Оцінка змісту дисертації.** Дисертаційну роботу викладено на 179 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 22 таблицями та 27 рисунками. Список використаних літературних джерел складається зі 330 найменувань, із них 294 латиницею.

У **вступі** обґрунтовано актуальність обраної теми, окреслено зв'язок роботи з науковими програмами, сформульовано мету та завдання досліджень. Також наведено наукову новизну, практичне значення отриманих результатів, вказано особистий внесок здобувача та інформацію про апробацію й публікацію наукових результатів.

У **першому розділі «Характеристика патогенів, які інфікують малину й ожину»** на підставі використаних джерел наукової літератури авторка провела комплексний аналіз вірусів малини та ожини, зосередившись на їх характеристиках, шкодочинності, поширенні у світі та Україні, а також методах діагностики. Вона дійшла висновку, що вивчення цих вірусних патогенів є вкрай важливим, оскільки значна частина виявлених штамів становить серйозну загрозу як для європейського регіону, так і для України.

У **другому розділі «Умови, об'єкти та методика проведення досліджень»** наведено як серологічні так і молекулярні методи дослідження вірусів, а також методи вивчення дії антивірусних речовин та методи оцінки впливу вірусної інфекції на функціональний стан рослин.

**Третій розділ, присвячений «Фітовірусологічному скринінгу насаджень малини й ожини»**, містить послідовний виклад результатів досліджень, які включають значний обсяг експериментальних даних щодо виявлення видового складу вірусів у насадженнях малини й ожини в Поліссі та Лісостепу України. Моніторинг виявив загалом сім вірусів та фітоплазму, загальний рівень інфікування становив 26,5 %. Найбільший відсоток ураження рослинного матеріалу вірусами зафіксовано у Вінницькій - 59,3% та Київській областях - 54%.

На основі отриманих результатів обґрунтовано необхідність оновлення національних стандартів сертифікації садивного матеріалу відповідно до міжнародних вимог, а також наголошено на важливості включення до цих схем діагностики нового вірусу плямистості листя малини (RLBV) з метою забезпечення фітосанітарної безпеки насаджень малини.

У четвертому розділі «Молекулярно-генетична характеристика українських ізолятів вірусу кущистої карликовості та вірусу плямистості листя малини» проведено філогенетичний аналіз українських ізолятів RBDV та RLBV. Виявлено високу гомологію гену капсидного білка ізолятів RBDV з європейськими штамами, особливо серед ізолятів з Харківської, Київської та Вінницької областей (95,5–100%). Водночас ізолят виділений з ожини Житомирської області є генетично більш віддаленим, але утворив окрему гілку разом з ізолятом з Казахстану. Філогенетичний аналіз RLBV показав значну генетичну варіабельність серед українських ізолятів. Так, ізоляти з Київської та Вінницької областей мали лише 95,6 % ідентичності, а найбільшу спорідненість з одним з українських ізолятів виявив сербський штам.

У п'ятому розділі «Оздоровлення малини від вірусів в умовах культури *in vitro*» вивчено елімінацію вірусу RBDV на малині сорту Персея за допомогою методу хемотерапії *in vitro*. Було протестовано чотири препарати (рибавірин, ацикловір, озельтамівір, римантадин) у різних концентраціях. Рибавірин виявився найбільш фітотоксичним, пригнічуючи ріст пагонів та спричиняючи загибель частини рослин. Натомість, ацикловір дозволив успішно еліминувати вірус, причому найвищий відсоток оздоровлених рослин (42,8 %) отримано за концентрації 60 мг/л. Озельтамівір, у свою чергу, стимулював ріст пагонів.

У шостому розділі «Вплив вірусної інфекції на функціональний стан рослин малини» дослідження показали, що RBDV значно погіршує фізіологічні показники рослин малини: водоутримуюча здатність листків зменшилася на 27,8–35,6%; фотосинтетичні пігменти (хлорофіл а і b) зменшилися на 18–30%; втрата врожаю досягла 58–62% залежно від сорту; частка товарних (першосортних) плодів знизилася до 14–17,6%, а в деяких сортах - до нуля; кількість ягід зменшилася на 50–61%. Вірусна інфекція призвела до змін біохімічного складу плодів: вміст

аскорбінової кислоти зменшився на 9,6 %, загальний вміст цукру зменшився на 11,8%, а титрована кислотність і вміст антоціанів значно збільшилися.

**У сьомому розділі** дослідження економічної ефективності вирощування малини показало, що використання інфікованих вірусом рослин у насадженнях призводить до зниження рентабельності. Для сортів Брусвяна та Зугана цей показник становив 11,2–11,9%, а культивування рослин сорту Джоан Джей виявилось збитковим (–3,7 %).

**Висновки та рекомендації виробництву** мають відповідне наукове і практичне обґрунтування щодо фітовірусологічного стану насаджень малини й ожини в Поліссі та Лісостепу України, які спрямовані на усунення подальшого поширення вірусів.

#### **Зауваження щодо змісту дисертації та дискусійні питання**

1. При зазначені таксономічного положення вірусу потрібно використовувати біноміальні назви видів вірусів, так, як з 2021 року Міжнародний комітет з таксономії вірусів (ICTV) схвалив єдину систему офіційних назв вірусів, яка відповідає біноміальному формату «рід-вид» з латинізованими епітетами видів або без них.
2. Чому філогенетичний аналіз українських ізолятів RBDV показав їхню ідентичність— за амінокислотними послідовностями вище (98,96 %), ніж за за нуклеотидними (98 %)?
3. Чим обґрунтований вибір генів для молекулярної діагностики, чому для RBDV і RVCV це ген CP, а для RLBV це ген NP?
4. Чому ацикловір, який є специфічним антивірусний препарат проти герпес вірусів, був обраний для хіміотерапії РНК-вмісних вірусів рослин?
5. На основі яких даних підбирали дози антивірусних препаратів?
6. Яке значення має дослідження фітомікоплазм при вивченні вірусних захворювань малини та ожини?
7. На Рис. 3.7. та Рис. 3.8. не підписані вісі координат.
8. Не коректна назва «покривний білок» - вірна назва «капсидний білок».
9. Не вірно вжитий термін «амінокислотні послідовності нуклеокапсидного фрагменту», коректна назва «амінокислотні послідовності білка нуклеокапсиду»

10. Фітоплазми— це не безклітинні бактерії, а бактерії, які не мають клітинної стінки.

Однак, ці зауваження не впливають на теоретичну і практичну цінність дисертаційної роботи, а окремі запитання мають дискусійний характер.

**Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.** Рукопис дисертаційної роботи Рябої Ірини Анатоліївни перевірено системою «StrikePlagiarism» на плагіат. Рівень оригінальності тексту становить 93,81 % та 6,19 % схожості з іншими документами. У результаті технічної експертизи дисертаційної роботи РЯБОЇ Ірини Анатоліївни «Молекулярно-біологічна характеристика вірусів малини й ожини та їх поширення в Поліссі та Лісостепу України», не виявлено співпадінь тексту, що можуть свідчити про прямі значні запозичення без вказування авторства. Тому можна стверджувати, що перевірений документ загалом не містить некоректних запозичень, що дозволяє вважати його оригінальним і не містить порушень академічної доброчесності.

**Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.**

Враховуючи викладене вище, вважаю, що за актуальністю, ступенем новизни, обґрунтованістю, науковою та практичною цінністю здобутих результатів дисертація Рябої Ірини Анатоліївни на тему «Молекулярно-біологічна характеристика вірусів малини й ожини та їх поширення в Поліссі та Лісостепу України» 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 січня 2022 року, а її автор Ряба Ірина Анатоліївна заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 203 «Садівництво, плодоовочівництво та виноградарство» галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство».

Офіційний опонент —

доктор біологічних наук, професор кафедри вірусології

ННЦ «Інститут біології та медицини»

Київського національного університету

імені Тараса Шевченка

