

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Рябої Ірини Анатоліївни** «Молекулярно-біологічна характеристика вірусів малини й ожини та їх поширення в Поліссі та Лісостепу України», подану на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 203 Садівництво, плодоовочівництво та виноградарство (20 Аграрні науки та продовольство)

**Актуальність теми дисертаційного дослідження.** Для успішного функціонування схем сертифікації садивного матеріалу плодових і ягідних культур важливе розуміння наявності, поширення й характеристики вірусних патогенів на території України. Особливої уваги набуває питання контролю фітовірусологічного стану рослин, що використовують для тиражування садивного матеріалу, особливо коли мова йде про високі категорії (вихідні та базові клони).

Нині на території України виявлено віруси, які раніше не діагностували, що свідчить про зростаючий ризик вірусної інфекції в результаті міжнародного обігу садивним матеріалом. Зокрема, набуває значення вивчення вірусу плямистості листя малини (Raspberry leaf blotch virus, рід Emaravirus), вперше ідентифікованого у Великій Британії у 2012 році, а згодом виявленого і в Україні. Це перший емаравірус, зафіксований на малині на території країни.

З огляду на зростаючу економічну роль малини в Україні та активне нарощування її експорту, питання вірусологічного статусу цієї культури стає особливо актуальним. Тому проведення досліджень щодо поширення, молекулярно-генетичних характеристик вірусів малини й ожини, а також оцінки їх впливу на окремі сорти є вкрай важливим з погляду як науки, так і виробництва.

Дисертація є складовою частиною наукових програм за темами: 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, та їх новизна.** Наукові положення дисертаційної роботи в повній мірі обґрунтовано пріоритетністю досліджень, актуальністю наукової проблеми, доцільністю установлення рівня поширення вірусів і фітоплазми серед перевірених насаджень малини й ожини під час скринінгових досліджень, отримання молекулярно-генетичних характеристик українських ізолятів вірусів RBDV, виділених з рослин малини й ожини.

**Мета досліджень** вивчити видовий склад і поширення вірусів малини й ожини в Україні та дослідити молекулярно-біологічні властивості виділених ізолятів. Висунуті Рябою Іриною Анатоліївною наукові положення базуються на загальних принципах наукового пізнання теоретичного і практичного характеру і були виконані на основі лабораторних (імуноферментний аналіз, полімеразно-ланцюгова реакція в модифікаціях, електрофорез в агарозному гелі, сиквенування фрагментів нуклеїнової кислоти методом Сенгера), біоінформатичних (філогенетичний та рекомбінаційний аналізи); лабораторно-польових (візуальний огляд, оцінка посухостійкості, фізіологічних параметрів рослин, біохімічного складу плодів), статистичних.

Результати основних наукових положень автора дисертаційної роботи відображено в дванадцяти висновках. Зміст висновків в цілому наповнений цифровими даними, що вказує на високий рівень обґрунтування наукових положень, які винесені на захист.

**Новизна наукових результатів.** Ступінь наукової новизни результатів дисертаційної роботи Рябої Ірини Анатоліївни високий.

Уперше в Україні встановлено рівень поширення вірусів і фітоплазми серед перевірених насаджень малини й ожини під час скринінгових досліджень; отримано молекулярно-генетичні характеристики українських ізолятів вірусів RBDV виділених з рослин малини й ожини; досліджено антивірусну активність комплексних препаратів ацикловір, озельтамівір, римантадин і показано високу ефективність їхньої дії на елімінацію RBDV; проведено вивчення впливу вірусної інфекції на продуктивність сортів малини вітчизняної селекції та сортів, придатних до поширення в Україні; оцінено економічну ефективність вирощування малини на фоні вірусної інфекції.

**Практичне значення дисертаційної роботи:** відібрано вільні від вірусів клони малини й ожини, що рекомендовано для подальшого розмноження і закладання насаджень різних типів; до міжнародної бази даних GenBank внесено нуклеотидні послідовності гена білка оболонки вірусів RBDV і RLBV, ідентифікованих у дослідження. Отримані дані можуть бути використані для філогенетичного аналізу з метою порівняння ізолятів, що циркулюють як у Поліссі та Лісостепу України, так і в інших країнах; сформовано рекомендації щодо оптимізації процесу сертифікації садивного матеріалу малини й ожини. Запропоновано ввести зміни до ДСТУ 7185:2010 «Культури плодів та ягідні. Методи визначення фітовірусологічного статусу садивного матеріалу кущових ягідних культур» і ДСТУ 4720:2007 «Саджанці малини і ожини. Технічні умови», шляхом гармонізації та розширення панелі вірусів, що підлягають тестуванню; показано негативний вплив вірусів на урожайність та якість окремих сортів малини.

**Повнота викладу матеріалу в наукових публікаціях, зарахованих за темою дисертації.** За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових праць, у тому числі три статті у фахових вітчизняних виданнях та одну — в зарубіжних.

**Оцінка змісту дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису об'єктів і методів досліджень, 5 розділів експериментальної частини, узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаної літератури, рекомендацій виробництву та додатка. Роботу викладено на 178 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 22 таблицями та 27 рисунками. Список використаних літературних джерел складається зі 330 найменувань, із них 294 латиницею.

Загальна характеристика роботи відповідає вимогам МОН України до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня доктора філософії за змістом, новими теоретичними і практичними розробками, що отримані в галузі сільськогосподарських наук зі спеціальності 203 Садівництво, плодоовочівництво і виноградарство.

**У вступі** висвітлено актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, мету і завдання досліджень, наукову новизну отриманих результатів та практичне значення одержаних результатів.

**У розділі 1** «Характеристика патогенів, які інфікують малину й ожину» детально описано поширення вірусів малини й ожини у світі та Україні, віруси, які передаються нематодами, попелицями, фітоплазми, деякі нетипові віруси.

**У розділі 2** «Умови, об'єкти та методика проведення досліджень» наведено місце проведення, об'єкти досліджень, схему досліду, методику досліджень.

Експериментальна частина дисертаційної роботи Рябої Ірини Анатоліївни, а саме розділи 3,4,5,6,7 представлено у динамічній послідовності.

**У розділі 3** «Фітовірусологічний скринінг насаджень малини й ожини» встановлено поширення 7 вірусів і фітоплазми, які інфікують малину й ожину в Поліссі та Лісостепу України. Доведено, що загальний рівень інфікованості тестованого матеріалу малини й ожини становив 26,5 %. Відзначено значну варіабельність поширення вірусних патогенів в регіонах України. Найбільш поширеним вірусом виявився RBDV, який домінує у Вінницькій (43,7 %) та Київській (42,8 %) областях. Високий рівень інфікування RBDV пояснюється ефективним передаванням через пилок. Встановлено вищі ризики поширення патогенів серед ремонтантних сортів малини, особливо RBDV (25,6 %). Виділено чисті клони 18 сортів малини, 5 — ожини.

**У Розділі 4.** «Молекулярно-генетична характеристика українських ізолятів rbdv та rlbv» встановлено, що український ізолят з ожини (KB-UA) був філогенетично віддаленим від українських ізолятів малини і утворив окрему гілку разом з ізолятом з Казахстану, що свідчить про можливу циркуляцію окремої лінії

RBDV серед ожини в Центральній і Східній Європі. Найбільшу спорідненість з українським ізолятом UA178-RLBV продемонстрували ізоляти із Сербії, з якими він мав 99 % ідентичності послідовностей. Тоді як ізолят UA117-RLBV характеризувався нижчим рівнем ідентичності 93-96 % — із сербськими й словацькими ізолятами.

У розділі 5 наведено результати вивчення впливу антивірусних препаратів: ацикловір, озельтамівір і римантадин для терапії RBDV на рослинах малини в культурі *in vitro*. Установлено, що навіть низькі концентрації віроцидів мали фітотоксичний ефект на експланти малини, при цьому терапевтичний ефект на RBDV був відсутній. При використанні ацикловіра в концентрації 60 мг/л отримано 42,8 % рослин, вільних від RBDV за результатами тестування.

У розділі 6 встановлено, що завдяки впливу RBDV водоутримувальна здатність листків малини знижується до 27,8–35,6 %, а водний дефіцит в інфікованих рослин зростає на 66 %. Доведено, що вміст зелених пігментів у листках малини під впливом RBDV знижується на 20,8–40,8 %. Під впливом вірусної інфекції продуктивність рослин знижується, що призводить до зменшення врожайності на 58–62 %. Описано зміни в біохімічному складі плодів малини, на які впливає RBDV. Виявлено зниження вмісту аскорбінової кислоти (на 7,7–9,6 %) в інфікованих рослин і статистично значуще падіння рівня загального цукру лише в сорту Брусвяна — на 11,8 %. Натомість титровані кислоти в інфікованих рослин цього сорту зростали на 50 %.

У розділі 7 наведено економічний аналіз, який вказує, що інфікування малини сортів Брусвяна, Зугана й Джоан Джей вірусним патогеном призводить до значного зниження врожайності, яке в середньому становить 60,8%. Встановлено суттєві економічні втрати у виробництві плодів: дохід від реалізації врожаю уражених рослин зменшився на 72,6–78,2 %, а прибуток — на 95,2–96 %. Вирощування сорту Джоан Джей виявилось збитковим (–6,4 тис. грн/га). Виявлено, що вірусне інфікування значно погіршує рентабельність вирощування малини, що підкреслює важливість посиленого фітосанітарного контролю та застосування комплексних заходів для захисту насаджень.

**Висновки та рекомендації виробництву** мають наукове значення. Вони підтверджують необхідність проведеного скринінгу насаджень, серологічної та молекулярної діагностики патогенів малини й ожини, а здійснений філогенетичний аналіз українських ізолятів, застосований метод хемотерапії для оздоровлення рослин малини в культурі *in vitro*, вивчений вплив вірусів на функціональний стан і продуктивність рослин сортів малини мають практичне значення.

### **Дискусійні положення та зауваження щодо дисертаційної роботи.**

В цілому позитивно оцінюючи дисертаційну роботу Рябої Ірини Анатоліївни, повноту методичної, теоретичної та прикладної основи досліджень, високий рівень актуальності та практичної значимості, вважаю за доцільне вказати на окремі недоліки та висловити побажання до їх усунення у подальшій науковій діяльності:

1. Назва дисертаційної роботи не в повній мірі розкриває зміст дисертації, оскільки було досліджено не лише молекулярно-біологічну характеристику вірусів малини й ожини та їх поширення в Поліссі та Лісостепу України, а й згідно викладеної наукової новизни проаналізовано та встановлено ефективність застосування антивірусних комплексних препаратів ацикловір, озельтамівір та римантадин для елімінації вірусу RBDV і досліджено вплив RBDV на продуктивність сортів малини за їх вирощування.

2. В тексті дисертації зустрічаються орфографічні і стилістичні помилки (сторінки: 3, 23, (24, 139 - ввести замість внести), 31, 57, 71, 76, (97 -віддаленим замість віддаленішим), (123- відмінностей замість відмітностей), 133, 137

3. Назву Розділу 1 «Характеристика патогенів, які інфікують малину й ожину» слід уточнити словами «можуть інфікувати», оскільки в розділі наведено характеристику нетипових вірусів скручування листя черешні, огіркової мозаїки.

4. У Розділі 1 відсутні літературні данні щодо впливу вірусів на продуктивність рослин малини та ожини.

5. В Розділі 2 відсутня характеристика ґрунтово-кліматичних умов впродовж досліджень.

6. При викладі методики досліджень впливу вірусної інфекції на функціональний стан рослин малини вказано (с.61), що проводилось вимірювання площі листової пластинки сортів малини, проте в результатах досліджень отримані показники відсутні.

7. Назва швейцарського ремонтантного сорту малини «Sugana» в тексті дисертації наведена як «Зугана» так і «Зюгана» (с.125, 126).

8. В таблиці 3.3 (с.79) слід вказати назви літніх та ремонтантних сортів малини, в яких поширені окремі віруси чи поєднати наведені показники з таблицею 3.2.

9. При аналізі даних таблиці 6.1 встановлено істотні відмінності між здоровими й інфікованими рослинами, проте не конкретизована на якому достовірному рівні існують відмінності.

10. На рис.6.1 наведено результати водного дефіциту листків малини під впливом RBDV. При проведенні аналізу дослідник лише констатує збільшення водного дефіциту не вказуючи статистично достовірний поріг впливу.

11. Підписи під Рис.6.3, 6.4, 6.5 слід доповнити словами «сортів малини»,

оскільки в дисертації вивчалась і культура ожина.

Проте, наведені недоліки, неточності у роботі та побажання не впливають на загальну позитивну оцінку виконаних досліджень, дисертаційної роботи Рябої Ірини Анатоліївни.

**Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.** Рукопис дисертаційної роботи Рябої Ірини Анатоліївни перевірено сервісом «Strike Plagiarism» на плагіат, яка показала, що оригінальний текст у документі становить 93,81 % оригінальності та 6,19 % схожості з іншими документами. Таким чином, дисертаційна робота Рябої Ірини Анатоліївни визначається самостійною оригінальною працею і не містить порушень академічної доброчесності.

**Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.**

Дисертаційна робота «Молекулярно-біологічна характеристика вірусів малини й ожини та їх поширення в Поліссі та Лісостепу України» за актуальністю теми, обґрунтованістю і достовірністю результатів досліджень, висновків і рекомендацій, їх новизною, теоретичною і практичною значимістю, вирішенням важливої наукової проблеми відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (Постанова Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44), а її автор **Ряба Ірина Анатоліївна** заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 203 Садівництво, плодовоовочівництво і виноградарство (галузь знань 20 Аграрні науки та продовольство).

**Офіційний опонент,**

доктор сільськогосподарських наук,  
професор кафедри плідівництва і виноградарства  
Уманського національного університету

Заморський В.В.

