

## РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу

Рябого Миколи Ігоровича на тему:

«Удосконалення біотехнологічних прийомів оздоровлення садивного матеріалу винограду», подану на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 203 «Садівництво та виноградарство» галузь знань 20 - «Аграрні науки та продовольство»

*Актуальність теми дисертаційного дослідження.* Виноградарство є однією з високорентабельних та економічно важливих галузей агропромислового комплексу України, зокрема її Південного регіону. Ефективність і довговічність промислових виноградників залежать від фітосанітарного стану та генетичної автентичності закладеного садивного матеріалу. Відповідно до сучасних міжнародних стандартів (OIV) та європейських вимог розсадництва, перехід на сертифіковане виробництво безвірусних саджанців категорій «базові» та «сертифіковані» є обов'язковою умовою. Найбільшу загрозу для продуктивності сучасних виноградників представляють хронічні захворювання винограду – хвороба скручування листя та бактеріальний рак. Вірус *GLRaV-3* призводять до зниження врожайності на 20–40%, погіршення цукристості, підвищення кислотності соку та катастрофічного зниження морозостійкості кущів. Бактеріальний рак вражає судинну систему ксилеми, активізуючись після зимових морозів чи механічних пошкоджень, що призводить до відмирання рукавів та загибелі цілих насаджень. Оскільки ефективних хімічних чи агротехнічних методів санації цих хвороб на промислових насадженнях не існує, єдиним шляхом запобігання їхнього поширення є закладання виноградних насаджень виключно здоровим сертифікованим садивним матеріалом. Це, актуалізує проблему обмеженості існуючих технологій та виводить на перший план необхідність удосконалення біотехнологічних протоколів. Проте наявні зарубіжні біотехнологічні протоколи оздоровлення виноградної лози через

культуру меристем *in vitro* є недосконалими (низька регенерація експлантів та фітотоксичність віруцидних препаратів), а в Україні подібні комплексні дослідження щодо оздоровлення винограду *in vitro* (культивування апікальних меристем з подальшою термо- або хіміотерапією чи навпаки) взагалі не проводилися. Це зумовлює гостру потребу в оптимізації поживних середовищ та створенні власних адаптованих схем оздоровлення винограду, особливо для технологічно цінних вітчизняних сортів винограду.

***Зв'язок дисертаційного дослідження з науковими програмами, темами.*** Представлені в дисертації наукові розробки були складовою частиною науково-дослідних робіт Національної академії аграрних наук України: «Дослідження масштабів ураженості виноградних насаджень Півдня України вірусними, фітоплазмовими і бактеріальними хворобами винограду, діагностика та створення системи оздоровлення від них при виробництві сертифікованого посадкового матеріалу» (номер державної реєстрації 0121U107838).

***Мета дисертаційного дослідження.*** Метою досліджень було вивчення поширення, шкідливості основних вірусних і бактеріальних хвороб винограду на півдні України та розробка науково обґрунтованих способів оздоровлення *in vitro*.

***Наукова новизна отриманих результатів*** полягає у тому, що вперше в Україні теоретично обґрунтовано та практично реалізовано комплексний підхід до елімінації хронічних патогенів винограду шляхом оптимізації біотехнологічних протоколів для стратегічних технічних сортів «Каберне Совін'йон» та «Одеський чорний». Зокрема, у роботі:

***Вперше:*** ідентифіковано 3-й вірус хвороби скручування листя виноградної лози методом ПЛР зі зворотною транскрипцією у режимі реального часу; проведено секвенування геному ізолятів агробактерій, виділених із виноградної лози на насадженнях Одеської області. Показано, що майже всі вони є вірулентними, генетично відрізняються між собою і, в основному, мають: октопінову Ті-плазмідну, яка відповідає за їхню

патогенність; розроблено протокол культивування апікальних меристем винограду та їх використання для оздоровлення мікроклонів від збудника хвороби скручування листя винограду; розроблено ефективний спосіб проведення хіміотерапії *in vitro* для ефективної елімінації мікроклонів винограду від *GLRaV-3*; доведено ефективність елімінації *GLRaV-3* шляхом комбінації різних способів оздоровлення винограду *in vitro*; визначено основні фактори впливу на ефективність оздоровлення винограду *in vitro*.

Удосконалено: метод ПЛР для ідентифікації 3-го вірусу хвороби скручування листя та збудника бактеріального раку виноградної лози; склад поживного середовища для культивування апікальних меристем винограду; спосіб проведення термотерапії *in vitro* для ефективної елімінації винограду від *GLRaV-3*.

Набули подальшого розвитку: процес ідентифікації патогенних і непатогенних штамів агробактерій на основі типу Ti-плазмиди (октопінові і нопалінові) та фрагментів *virD2* і *virF* генів одночасно, що і обумовлює високу вірулентність; встановлення шкідливості 3-го вірусу хвороби скручування листя; визначення коефіцієнту елімінації *GLRaV-3* у культурі тканин і органів *in vitro* після різних способів оздоровлення; етапи культивування винограду в культурі тканин і органів *in vitro*.

**Практичне значення отриманих результатів дисертаційного дослідження** полягає в удосконаленні підходів до діагностики та оздоровлення винограду. Показано можливість одночасного виявлення збудників вірусних та бактеріальних хвороб винограду шляхом удосконалення ПЛР у реальному часі, підтверджено генетичну різноманітність агробактерій, асоційованих із бактеріальним раком виноградної лози. Розроблені підходи до оздоровлення винограду в культурі *in vitro* підвищують ефективність виробництва саджанців винограду категорії «сертифіковані» та впроваджені у виробничу практику ДП «ДГ «Таїровське» ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» НААН України. Результати також використовуються в освітньому процесі ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» НААН підготовки аспірантів за ОНП

«Виноградарство».

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем здійснено літературний пошук і комплексний аналіз наукових джерел за темою дисертаційного дослідження, сформульовано мету та завдання досліджень. Для отримання наукових результатів здобувачем особисто було розроблено схеми та закладено лабораторні досліди, виконано обробку і узагальнення даних дослідження, підготовлено публікації за матеріалами роботи. Обґрунтування та опрацювання висновків, тексту дисертації написані особисто здобувачем.

**Повнота викладення в опублікованих працях наукових положень, висновків, рекомендацій сформульованих у дисертаційному дослідженні.** За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 15 наукових праць, у тому числі: 5 статей у виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України, 1 стаття – у зарубіжному виданні, 1 стаття у іншому науковому виданні, 8 публікацій – матеріали і тези конференцій.

**Апробація результатів дисертаційного дослідження.** Основні результати дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на засіданнях вченої ради ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» НААН України (2022–2026 рр.), а також на міжнародних наукових конгресах, зокрема 20-му Конгресі Міжнародної ради з вивчення вірусних і вірусоподібних хвороб винограду (м. Салоніки, Греція, 2023).

Результати досліджень були представлені на міжнародних науково-практичних конференціях в Україні, Польщі та Чехії протягом 2024–2026 рр., серед яких конференції «Перспективи сучасної науки: теорія і практика», «Наука, інновації та глобальні рішення», «Інновації та сучасні технології для розвитку науки», «Новітні дослідження у розвитку науки та освіти» та інші.

Окремі положення роботи також доповідалися на XVI з'їзді Товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (м. Київ, 2025 рік).

**Наукові результати, сформульовані у дисертаційному дослідженні.** У вступі обґрунтовано актуальність теми, мету дослідження, завдання, наукову новизну, практичне значення досліджень, зв'язок роботи з науковими

програмами та публікації результатів досліджень.

У розділі 1 «Хронічні хвороби виноградної лози та методи її оздоровлення (огляд літератури)» проаналізовано сучасні дослідження щодо хронічних хвороб виноградної лози та методів її оздоровлення. У ньому проаналізовано вірусні та бактеріальні патогени винограду, зокрема вірус скручування листя (*GLD*) та бактеріальний рак, наведено їх етіологію, біологічні особливості, симптоматику, поширення та економічне значення. Окрему увагу приділено підходам до діагностики інфекцій винограду, включаючи серологічні, молекулярно-генетичні методи, біологічне індексування, секвенування та новітні технології аналізу. Висвітлено біотехнологічні підходи до оздоровлення виноградної лози в культурі *in vitro*, зокрема методи апікальних меристем, термотерапії та хіміотерапії, проаналізовано їх ефективність, обмеження та залежність від генотипу рослин і типу патогену. У цілому розділ завершується узагальненням того, що попри значний обсяг міжнародних досліджень, низка питань залишається недостатньо вивченою, дискусійною, зокрема щодо оптимізації протоколів оздоровлення для вітчизняних сортів винограду, оскільки в Україні такі дослідження не проводились. Це визначає актуальність подальших досліджень у цьому напрямку.

У розділі 2 «Матеріали, методи та умови проведення дослідження» міститься детальний опис матеріалів, методів та умов проведення дослідження, що забезпечує відтворюваність експериментів і наукову обґрунтованість отриманих результатів. Здобувачем комплексно використано польові, лабораторні та біотехнологічні методи, зокрема ІФА-ELISA, ПЛР у реальному часі, секвенування, а також підходи культури тканин і органів *in vitro*, що дозволило ефективно вирішити поставлені завдання щодо ідентифікації фітопатогенів і оздоровлення виноградних рослин. Наведені схеми досліджень є логічно структурованими, а обсяг експериментального матеріалу та застосовані методи статистичної обробки результатів є достатніми для забезпечення достовірності висновків.

У розділі 3 «Ідентифікація вірусу хвороби скручування листя та бактеріального раку виноградної лози» наведено результати фітосанітарної оцінки виноградних насаджень та ідентифікації збудників хронічних хвороб винограду, які обмежують продуктивність і довговічність насаджень, у т.ч. в умовах півдня України. Показано динаміку розвитку хвороб у багаторічних насадженнях та підтверджено їх значний негативний вплив на урожай ягід винограду та його технологічні показники. Застосування серологічних і молекулярно-генетичних методів дало змогу уточнити етіологію уражень, виявити латентні форми інфекції та підтвердити наявність вірусу скручування листя-3 і *Rhizobium radiobacter* у виробничих насадженнях. Отримані результати мають важливе значення для удосконалення системи фітосанітарного моніторингу, підвищення ефективності оздоровлення виноградних насаджень і виробництва сертифікованого садивного матеріалу для закладання промислових виноградників.

У розділі 4 «Оздоровлення винограду в культурі тканин і органів *in vitro*» наведено результати щодо біотехнологічних підходів до оздоровлення виноградної лози в культурі тканин і органів *in vitro*, зокрема з застосуванням апікальних меристем, термотерапії та хіміотерапії. Представлено комплексний аналіз впливу розміру експлантів і складу поживних середовищ на регенераційні процеси, приживлюваність та морфогенез мікропагонів винограду. Отримані результати переконливо показують залежність ефективності оздоровлення від поєднання біотехнологічних факторів, а також дозволяють обґрунтувати оптимальні умови отримання життєздатних мікроклонів винограду.

Важливим науково-практичним результатом розділу є встановлення ефективності комбінованих підходів до елімінації вірусу скручування листя винограду (*GLRaV-3*), зокрема поєднання термо- та хіміотерапії з культивуванням апікальних меристем, що забезпечує суттєве підвищення рівня оздоровлення рослин. Додатково показано вплив віруцидних препаратів на життєздатність і регенераційний потенціал експлантів, що має значення для

оптимізації протоколів хіміотерапії винограду. У цілому розділ містить логічно вибудовану експериментальну базу та статистично обґрунтовані висновки.

У розділі 5 «Економічна ефективність оздоровлення винограду в культурі тканин і органів *in vitro*» наведено економічне обґрунтування ефективності біотехнологічних методів оздоровлення виноградної лози в культурі тканин і органів *in vitro*. Проведено комплексну оцінку витрат і результативності різних технологічних підходів (апикальні меристеми, термотерапія, хіміотерапія та їх комбінації) з урахуванням виходу оздоровлених рослин, рівня елімінації вірусу та собівартості кінцевої продукції. Показано, що ключовим економічним чинником є ефективність санації, яка безпосередньо визначає кількість життєздатних мікроклонів і, відповідно, рівень економічної доцільності технологічного процесу. Встановлено, що найбільш економічно доцільними є комбіновані методи оздоровлення винограду, зокрема поєднання хіміотерапії (рибавірин + озельтамівір) з культивуванням апікальних меристем, які забезпечують найвищий рівень елімінації вірусу *GLRaV-3*, мінімальну собівартість одиниці продукції та максимальні показники прибутку і рентабельності (до 129,7–133,6 %). Натомість застосування тільки апікальних меристем без додаткових методів санації характеризується нижчою економічною ефективністю через менший вихід оздоровлених мікроклонів. Загалом результати, наведені в розділі, мають важливе наукове і практичне значення, оскільки підтверджують, що успішне оздоровлення мікроклонів винограду від вірусу скручування листя-3, створює передумови для впровадження сучасних біотехнологічних методів у систему сертифікації садивного матеріалу винограду.

«Висновки» складаються з 11 пунктів, базуються на аналізі експериментальних даних, обґрунтовані статистично, викладені логічно, послідовно та містять наукову новизну.

**«Практичні рекомендації по застосуванню результатів наукового**

дослідження» відображають комплекс організаційних, діагностичних і біотехнологічних заходів, спрямованих на виявлення, діагностику та ефективне оздоровлення винограду від вірусних і бактеріальних хвороб із застосуванням сучасних методів культури тканин і органів *in vitro*,

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень дисертації.** Загалом, всі заплановані дослідження виконано в повному обсязі. Одержані результати досліджень обґрунтовані, систематизовані, статистично опрацьовані. Описання, аналіз та узагальнення експериментального матеріалу виконані з урахуванням наявної наукової інформації. Усі розділи дисертації є повними, закінченими з обґрунтованими висновками, які витікають з результатів досліджень. Загальні висновки відображають експериментальні дані дисертації і свідчать про ретельний аналіз отриманих результатів.

Дисертацію написано українською мовою, аргументовано, логічно, доступно для сприйняття.

**Дотримання принципів академічної доброчесності.** Дисертація не містить порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації).

**Дискусійні положення дисертаційної роботи.**

1. В огляді літератури здобувач детально описує світові технології термотерапії та кріотерапії (заморожування меристем у рідкому азоті) як методів елімінації вірусів. Однак автор майже не приділив уваги методу електротерапії (дії слабкого електричного струму на експланти), який останнім часом активно позиціонується як менш енергоємна альтернатива класичній термотерапії. Чому цей напрямок залишився поза увагою аналізу?
2. У роботі досліджувалися червоноягідні сорти, але немає інформації щодо виявлення симптомів хвороби скручування листя і бактеріального раку на білоягідних сортах. Було б цікаво порівняти такі дослідження.
3. Ефективність оздоровлення рослин-регенерантів здобувач оцінював переважно на етапі отримання. Разом з тим не наведено результатів подальшого моніторингу оздоровлених рослин після адаптації або

висаджування, що дозволило б оцінити стабільність безвірусного статусу та довготривалий ефект застосованих методів.

4. У розділі 3 автор детально ідентифікує два хронічні патогени – 3-й вірус хвороби скручування листя та бактерію *Rhizobium radiobacter*. Проте у розділі чотири схеми оздоровлення (термотерапія та хіміотерапія) дослідження спрямовані виключно на елімінацію вірусу. Оздоровлення від бактеріального раку за допомогою антибіотиків чи інших агентів у роботі не наводиться. Чому здобувач обмежився тільки вірусною елімінацією?

**Загальний висновок.** Представлену роботу виконано на високому науково-методичному рівні, викладено науковим стилем, логічно, послідовно, чітко та зрозуміло. Дисертаційна робота є завершеною науковою працею, у якій наведено науково обґрунтовані результати досліджень, що дали змогу розв'язати конкретне наукове завдання щодо розроблення комплексу фітосанітарних і біотехнологічних заходів, спрямованих на виявлення, ідентифікацію та елімінацію вірусу скручування листя винограду 3 і збудника бактеріального раку винограду *Rhizobium radiobacter* у системі сертифікації садивного матеріалу, що має важливе значення для галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство». Науковий рівень дисертаційної роботи та публікацій за її темою дає підстави стверджувати, що здобувач набув необхідного рівня теоретичних знань, практичних умінь, навичок і компетентностей, які відповідають вимогам третього (освітньо-наукового) рівня вищої освіти за спеціальністю 203 «Садівництво та виноградарство». Вважаю, що дисертаційна робота Рябого Миколи Ігоровича «Удосконалення біотехнологічних прийомів оздоровлення садивного матеріалу винограду» є самостійною, завершеною науковою працею та повністю відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року №261 «Про затвердження Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», наказу Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2022 р. № 44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування

рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 203 «Садівництво та виноградарство» галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство».

Рецензент:

кандидат сільськогосподарських наук, доцент,  
завідувачка сектору підготовки наукових кадрів  
ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» НААН України \_\_\_\_\_

Ірина ІЩЕНКО