

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Седовой Дарьи Андреевны «Оценка микробиомов и содержания генов антибиотикорезистентности в водных экосистемах Ростовской области», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15 – Экология (биологические науки)

Актуальность темы диссертации. Проблема антибиотикорезистентности признана Всемирной организацией здравоохранения одной из наиболее серьезных угроз здоровью человека в XXI веке, а объекты окружающей среды, в первую очередь водные экосистемы, рассматриваются как важнейший резервуар распространения генов устойчивости к антибиотикам. Сточные воды канализационных очистных сооружений аккумулируют антибиотикорезистентные бактерии, поступающие из коммунальных, медицинских и промышленных источников, и являются одним из ключевых объектов отбора и горизонтального переноса генов устойчивости, в том числе за счет мобильных генетических элементов, маркерами которых служат гены интеграз. При этом до настоящего времени комплексные исследования, объединяющие метагеномное профилирование микробных сообществ, молекулярно-генетическую детекцию генов антибиотикорезистентности и интегронов, а также экотоксикологическую оценку сточных и поверхностных вод, для водных объектов Ростовской области не проводились, несмотря на выраженную антропогенную нагрузку на бассейн реки Дон в этом регионе.

В связи с этим тема диссертационного исследования Седовой Д.А., направленного на комплексную оценку микробиомов, содержания генов антибиотикорезистентности и экотоксикологических характеристик сточных вод очистных сооружений и поверхностных водоемов Ростовской области, является актуальной, имеет как теоретическое, так и прикладное значение для экологического мониторинга и решения задач санитарно-эпидемиологической безопасности региона.

Структура и содержание диссертации. Диссертация Седовой Д.А. состоит из введения, пяти глав, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы и приложений. Работа изложена на 160 страницах машинописного текста, содержит 3 таблицы, 22 рисунка и 18 приложений; список литературы включает 259 источников, из которых 221 – на иностранных языках.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и четыре задачи исследования, приведены защищаемые положения, охарактеризованы научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, отражены сведения о личном вкладе автора, апробации работы и публикациях. В главе 1 систематизированы и обобщены современные представления о сточных водах как антропогенном факторе воздействия на водные экосистемы, структуре микробиоценозов на разных этапах очистки сточных вод, механизмах и факторах горизонтального переноса генов антибиотикорезистентности, а также о методических подходах к экотоксикологическому мониторингу водных объектов. Обзор литературы выполнен на высоком уровне, с привлечением широкого круга отечественных и зарубежных источников, значительная часть которых опубликована в последние годы, что свидетельствует о владении диссертантом современным состоянием изучаемой проблемы.

В главе 2 приведена характеристика объектов исследования – сточных вод канализационных очистных сооружений ряда городов Ростовской области, а также поверхностных вод рек Дон и Темерник в акватории Ростова-на-Дону и Азова. Глава 3 содержит подробное описание использованных методов: таксономическое профилирование микробиомов посредством высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК; выделение и идентификация бактерий культуральными методами и MALDI-TOF масс-спектрометрией; количественная оценка генов антибиотикорезистентности и интегронов методом ПЦР в реальном времени; оценка экотоксичности с использованием батареи из восьми цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров; а также статистический анализ данных. Использованные методы полностью соответствуют поставленным задачам и современному уровню исследований в данной области.

Глава 4 представляет собой основной массив полученных результатов и включает данные метапрофилирования микробиомов очистных сооружений, содержания генов антибиотикорезистентности и интегронов в микробиомах очистных сооружений и водных объектов, результаты определения экотоксикологических эффектов сточных и поверхностных вод. Результаты также включают анализ статистических взаимосвязей между содержанием генов антибиотикорезистентности и интегронов. Завершает работу глава 5 с выводами, которые логично обобщают полученные результаты и полностью соответствуют поставленным цели и задачам исследования.

Следует отметить, что для решения поставленных задач диссертантом выполнен значительный объем разноплановых экспериментальных исследований, сочетающих методы молекулярной экологии, микробиологии, биоинформатики и экотоксикологического биотестирования, что свидетельствует о высокой квалификации автора как исследователя.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации не вызывает сомнений, поскольку для достижения цели диссертации и решения поставленных задач автор использовал комплексный подход, сочетающий современные молекулярно-генетические методы, методы биоинформатики и математической статистики. Результаты полностью отражены в таблицах, рисунках и приложениях, которые позволяют ориентироваться в представленном экспериментальном материале. Положения диссертации теоретически и экспериментально обоснованы, выводы логично суммируют полученные результаты. Достоверность и обоснованность полученных данных базируется на репрезентативном фактическом материале, корректной статистической обработке результатов с применением адекватных методов. Также подтверждается апробацией работы на многочисленных научных конференциях и печатными работами автора.

Научная и практическая значимость исследования. Полученные в диссертации результаты обладают несомненной научной новизной. Впервые для водных объектов Ростовской области установлен таксономический состав микробиомов очистных сооружений на разных этапах очистки и определены основные функциональные таксоны активного ила. Впервые выявлен широкий спектр генов антибиотикорезистентности и генов интеграз 1, 2 и 3 классов как в метагеномной ДНК проб воды, так и у культивируемых форм бактерий, изолированных из сточных вод и поверхностных водоемов бассейна реки Дон. Впервые определены экотоксикологические эффекты сточных вод на различных этапах очистки, включая пробы активного ила, с использованием батареи цельноклеточных lux-биосенсоров. Установленные статистически значимые взаимосвязи между генами интеграз и конкретными детерминантами резистентности вносят существенный вклад в понимание механизмов мобилизации и распространения антибиотикорезистентности в водных экосистемах.

Работа имеет выраженное практическое значение. Данные по экотоксичности сточных вод на разных этапах очистки могут быть использованы для выявления источников загрязнения, а сведения о распространении генов антибиотикорезистентности и интегронов в метагеномной ДНК и штаммах

условно-патогенных микроорганизмов представляют интерес для санитарных служб при организации мониторинга антибиотикорезистентности в Южном федеральном округе.

Материалы диссертации Седовой Д.А. уже используются при чтении лекций и проведении практических занятий по ряду дисциплин в Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского ЮФУ и в Институте живых систем ДГТУ.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.

Основным достоинством диссертации является комплексность примененного подхода, объединяющего метагеномное профилирование микробных сообществ, молекулярно-генетическую детекцию генов резистентности и интегронов и экотоксикологическое биотестирование в рамках единого исследования сточных и поверхностных вод одного региона.

Диссертация изложена логично и последовательно, хорошим научным языком, а представленный фактический материал полно и наглядно иллюстрирован таблицами, рисунками и картографическими схемами.

При высокой положительной оценке диссертационной работы в целом, имеется ряд вопросов к диссертанту.

1. Чем обусловлено отсутствие изменений в содержании генов бета-лактамаз на разных этапах очистки сточных вод, и можно ли на основании полученных данных сделать вывод о неэффективности применяемых технологий очистки в отношении элиминации этих генов?

2. Каковы, по мнению автора, основные причины более высокой частоты обнаружения генов *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{NDM}*, *mphA*, *bla_{CTX-M}* и *mecA* в акватории города Ростова-на-Дону по сравнению с городом Азовом?

3. Планируется ли в дальнейших исследованиях диссертанта прямое определение концентраций антибиотиков в исследуемых пробах воды для верификации выявленных взаимосвязей между содержанием генов интеграз и генов резистентности?

4. Возможно ли на основе полученных результатов предложить конкретные критерии для приоритетного мониторинга генов антибиотикорезистентности в водных объектах Ростовской области санитарно-эпидемиологическими службами?

Имеются ряд орфографических и стилистических ошибок, которые не являются значимыми в контексте содержания и не умаляют положительной оценки работы.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ, в том числе 4 статьи в изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК, из которых одна индексируется в базах данных Web of Science и Scopus, а также 11 работ в других рецензируемых изданиях и материалах научно-практических конференций. Результаты исследований неоднократно докладывались и обсуждались на всероссийских и международных конференциях, что подтверждает достаточную апробацию выполненной работы.

Заключение. Диссертация Седовой Дарьи Андреевны представляет собой самостоятельное и завершенное научное исследование, выполненное на высоком методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических, биоинформатических и экотоксикологических подходов. Диссертация Седовой Дарьи Андреевны на тему: «Оценка микробиомов и содержания генов антибиотикорезистентности в водных экосистемах Ростовской области» соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней в ЮФУ» (№62-ОД от 27.03.2026 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. А ее автор, Седова Дарья Андреевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки).

Официальный оппонент:

доктор биологических наук по специальностям:

03.00.16 – экология и 03.02.03 – микробиология,

профессор, заведующий кафедрой

«Экология и техносферная безопасность»

СГТУ имени Гагарина Ю.А. _____ Тихомирова Елена Ивановна

Подпись д.б.н. профессора Тихомировой Е.И. «Заверяю»

Ученый секретарь Ученого совета

СГТУ имени Гагарина Ю.А. _____ Потапова А.В.

04.09.2026 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.» (СГТУ имени Гагарина Ю.А.)

Почтовый адрес: 410054, г. Саратов, ул. Политехническая, 77, корпус 5. Телефон: (8452)-998530; 8-905-3230419; e-mail: tichomirova_ei@mail.ru.