

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 диссертационного исследования. Проблемы экологии приобретает все большее значение в плане обеспечения качества жизни населения. Состояние водных экосистем оказывает существенное влияние на здоровье населения. Одним из важных факторов загрязнения водных экосистем являются сточные воды. Сточные воды являются источником биологических и химических компонентов, способных оказывать неблагоприятное воздействие на внешнюю среду. Автор сосредоточил свое внимание на изучении факторов антибиотикорезистентности и суммарной экотоксичности сточных вод. Данный подход Дарьи Андреевны Седовой позволил провести комплексную оценку потенциальной опасности сточных вод и оценить возможные их угрозы для экологии. Данное направление является приоритетным. Поэтому цель исследования – комплексная оценка микробных сообществ, содержания генов антибиотикорезистентности и интегронов, а также экотоксикологических характеристик сточных вод канализационных очистных сооружений (КОС) и поверхностных водоемов Ростовской области является актуальной и своевременной. При этом использованные в работе приемы и полученные результаты не ограничены рамками Ростовской области, а могут быть использованы в других регионах нашей страны при проведении аналогичных исследований.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций.

Работа проведена на высоком методическом уровне. Выбор методов исследования базировался на анализе современной научной литературы. Четыре положения, вынесенные на защиту, обоснованы большим объемом экспериментальных данных. Результаты работы опубликованы в 11 научных работах, причем три статьи – журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК, а одна – в журнале, индексируемом Web of Science и Scopus. Материалы диссертационной работы были представлены на 12 научных конференциях разного уровня, включая две международных «Экология родного края: проблемы и пути их решения» (Киров, 2024, 2025).

Научная новизна и практическая значимость работы.

Впервые в Ростовской области установлен таксономический состав микробиомов вод очистных сооружений на разных этапах очистки, определены основные функциональные таксоны активного ила, а также сезонные закономерности динамики. В результате проведенного метагеномного анализа нативных образцов из различных этапов очистки и изолированных бактерий выявлен широкий спектр генов антибиотикорезистентности и интеграз 1, 2, 3 классов. Впервые проведено изучение экотоксикологических эффектов сточных вод на разных этапах очистки, в том числе, для проб активного ила. Полученные результаты свидетельствуют о возможном участии сточных вод в механизмах сохранения и горизонтального переноса генов устойчивости к разным классам антибиотиков и формирования устойчивых видов бактерий.

Несомненное практическое значение имеет работа автора и использованию батареи из восьми цельноклеточных lux-биосенсоров с помощью которой впервые проведено биотестирование токсичности сточных вод на разных этапах очистки очистных сооружений Ростовской области. Данный прием может быть использован как в других регионах России, так и для анализа других объектов. Материалы работы используются при чтении лекций и проведении практических занятий в учебном процессе.

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из введения, глав, выводов, списка литературы, содержит приложения. Работа изложена на 160 страницах машинописного текста, содержит 3 таблицы, 22 рисунка и 18 приложений. Список использованной литературы включает 259 источников, в том числе 221 на иностранных языках.

Анализ диссертации по главам.

Первая глава диссертации посвящена обзору научной литературы по теме исследования (стр. 13 - 40). Обзор включает информацию по нескольким научным направлениям. Автор подробно рассматривает сточные воды как значимый антропогенный фактор воздействия на водные экосистемы, описывает их химический состав и кратко характеризует этапы их очистки. Подробно и с использованием нормативных документов произведен разбор эффективности очистки сточных вод и приведена информация о ежегодном объеме. Этот раздел завершается закономерным выводом о сохранении стабильно высокого уровня загрязнения водоемов области.

Следующий раздел обзора посвящен анализу структуры микробоценозов на разных этапах очистки сточных вод и факторам, определяющих их популяционную динамику. Приведены сведения показывающие, что структура микробных сообществ определяется совокупным действием абиотических (прежде всего температуры), биотических и антропогенных факторов.

Далее автор рассматривает микробоценозы сточных вод и поверхностных водоемов как резервуар возникновения и распространения антибиотикорезистентности бактерий. Указывается, что даже эффективно-функционирующие очистные сооружения не обеспечивают полного удаления генов антибиотикорезистентности.

Проведен анализ работ по мониторингу генов антибиотикорезистентности, охарактеризован спектр генов, источники и пути поступления в водные экосистемы. Подробно описаны механизмы горизонтального переноса, роль биопленок, тяжелых металлов. Интерес

представляет раздел посвященный экотоксикологическому мониторингу водных экосистем с использованием тест-системы на основе люминесцентных бактерий.

Глава два (стр 41-42) описывает объекты данного исследования которыми являлись микробные сообщества проб воды поверхностных водоемов, сточных вод и активного ила очистных сооружений. Описаны точки отбора проб, схема транспортировки, выделения культур. Более подробная информация представлена в приложении 1.

Глава три (стр. 43-57) посвящена описанию материалов и методов исследования. Подробно описаны методики экстракции и оценка качества метагеномной ДНК, амплификация гена 16S рРНК, секвенирования, биоинформационного анализа и статистической обработки данных секвенирования. Приведены методы выделения и идентификация бактерий, MALDI-TOF масс-спектрометрическая идентификации, количественной оценки содержания генов устойчивости к антибиотикам и интегронов методом ПЦР в реальном времени. Приведена структура праймеров. Подробно описана методика проведения и оценки экотоксичности проб воды с использованием батареи цельноклеточных бактериальных биосенсоров.

Глава четыре диссертации (стр. 58-99) описывает результаты исследования. В ходе проведения метапрофилирования микробиомов очистных сооружений канализации выявлено 426 видов 354 родов, 119 семейств 117 порядков 47 классов 24 типов бактерий. Результат совпадает с данными литературы. При этом пробы активного ила характеризовались более высоким уровнем микробного разнообразия, в отличие от неочищенных сточных вод. В целом результаты метапрофилирования подтвердили данные литературы о существовании глобально консервативного набора доминирующих типов и родов в бактериальных сообществах сточных вод.

В процессе изучения содержания генов антибиотикорезистентности и интегронов в микробиомах вод очистных сооружений установлено, что *intI1*, *tetO*, *aadA2*, *vanB*, *sul2*, *mecA*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{VIM}* обнаруживались в 100% исследуемых проб, что позволяет рассматривать данные структуры как

индикаторы антропогенного загрязнения. В совокупности полученный профиль подтверждает, что сточные воды являются резервуаром как генов антибиотикорезистентности, так и бактерий их содержащих.

Установлено, что ряд изолированных из сточных вод микроорганизмов – представители видов *C. freundii*, *S. enterica* и *E. coli* одновременно несли до 10 генов антибиотикорезистентности. Можно согласиться с выводом автора о том, что результаты подчеркивают необходимость комплексного подхода к мониторингу антибиотикорезистентности в сточных водах, включающего не только качественную и количественную оценку основных клинически-значимых для человека АРГ, но и учет биологических хозяев этих генов.

Далее автор изучил экотоксикологические эффекты очищенных сточных вод и вод поверхностных водоемов в местах сброса. Большинство проб сточных вод по показателю интегральной токсичности определены как нетоксичные. По показателям генотоксичности наибольшую токсичность наблюдали в пробах канализации г. Сальска, Аксая и Таганрога и очищенных сточных водах г. Аксая. Прооксидантные свойства сточных вод в большинстве случаев также характеризовались слабой токсичностью. Полученные результаты свидетельствуют, что для сточных вод и поверхностных водоемов в местах сброса Ростовской области в большей степени характерно содержание алкилирующих агентов, которые определяют среднюю генотоксичность исследуемых проб.

При изучении взаимосвязи между таксономическим составом, содержанием генов антибиотикорезистентности и интегров в микробиомах сточных вод не выявлено статистически значимых ассоциаций между характеристиками бактериальных сообществ и содержанием целевых генов. Хотя в ряде случаев ген устойчивости к сульфаниламидам (*sul2*) имел сильную положительную значимую корреляцию с *intI2*, а также почти идеальная корреляция выявлена между *intI1* и *bla_{OXA-48}*. Полученные результаты подчеркивают, что в тотальной ДНК объектов окружающей среды в отличие от чистых культур, взаимосвязи могут быть более сложными и включать отрицательные значимые корреляции.

В процессе изучения содержания генов антибиотикорезистентности и интегронов в микробиомах воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова обнаружено мозаичное распределение указанных детерминант в зависимости от места отбора проб при этом наиболее часто выявлялись интегроны 1 и 3 классов. В целом полученные данные свидетельствовали о повсеместном распространении исследуемых генов антибиотикорезистентности в пробах воды р. Дон и р. Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова.

Результаты определения генотоксичности и прооксидантных параметров проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону в целом показали низкую токсичность, однако сравнение интегральной токсичности проб из двух акваторий показало статистически значимое превышение токсичности в Азове по сравнению с Ростовом-на-Дону. Полученные результаты подчеркивают, что водные штаммы условно-патогенных бактерий являются бактериями-хозяевами как для генов антибиотикорезистентности, так и для мобильных генетических элементов.

Четыре вывода обоснованы фактическим материалом и обосновывают положения, выносимые на защиту. Работа написана хорошим литературным языком, легко читается, иллюстративный материал нагляден.

К работе имеются некоторые вопросы и замечания:

Автор использует классификацию источников сточных вод на «коммунальных, коммерческих, медицинских и промышленных объектов». На взгляд рецензента не вполне обосновано выделение коммерческих объектов, как источников сточных вод. Вряд ли сточные воды коммерческих объектов существенно отличаются от вод коммунальных, медицинских или промышленных объектов.

2. В разделе научная новизна автор пишет «впервые установлен таксономический состав микробиомов очистных сооружений на разных этапах очистки на Юге России». Но, фактический материал работы содержит информацию только об объектах Ростовской области.

В числе показателей степени очистки сточных вод приводятся органолептические показатели (запах, привкус, мутность, цветность). Показатель привкуса вряд ли применим для сточных вод, он используется в случае оценки качества питьевой воды.

В обширном и обстоятельном обзоре литературы, посвященном различным аспектам проблемы, автор крайне мало внимания уделил описанию трех типов интергаз (*intI1*, *intI2*, *intI3*), хотя в положении 2 выносимом на защиту и в выводе 2 говорится об их обнаружении в сточных водах.

Большой интерес вызывает заявление автора, что бактерии активно используют эти вещества порядка 2 миллиардов лет (стр.29). К сожалению, это положение не подкреплено литературными ссылками.

Отмеченные замечания ни в коей мере не подвергают сомнению достоверность результатов и выводов рассматриваемой диссертации и носят исключительно рекомендательный характер.

Общее заключение.

Диссертация Седовой Дарьи Андреевны является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. Полученные результаты, сделанные выводы и сформулированные положения научно обоснованы, достоверны, подтверждены значительным фактическим материалом и его статистической обработкой, имеют существенную научную значимость и практическую ценность. Работа написана грамотным научным языком, хорошо иллюстрирована и соответствует уровню требований, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автореферат диссертации достаточно полно отражает содержание диссертации.

Результаты исследования представлены на российских и международных научных конференциях. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, включая 3 статьи в рецензируемых научных изданиях ВАК и одна в издании входящем в базу данных международных индексов научного цитирования Scopus.

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).

Отзыв подготовлен:

Водопьянов Сергей Олегович

Доктор медицинских наук по специальности

03.00.07 - Микробиология,

Главный научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций,

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,

г. Ростов-на-Дону, 344002 ул. М. Горького, д.117/40,

8-903-402-11-63, e-mail:serge100v@gmail.com

21 сентября 2026 г.



Подпись

Подпись Водопьянова С.О. ЗАВЕРЯЮ

Директор ФКУЗ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт»

Роспотребнадзора РФ.

Гаевская Н.Е.

