



## ВІДГУК

### офіційного опонента на дисертаційну роботу

Савенко Маріанни Вікторівни «Антропогенне навантаження на мікробіоту водних екосистем в умовах Закарпаття», представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.16 – Екологія

**Актуальність теми дисертації.** Дисертаційна робота Маріанни Вікторівни Савенко присвячена дослідженню екологічного стану поверхневих вод річки Уж за показниками складу мікробних ценозів, рівнем токсикантів та антибіотикорезистентності мікроорганізмів.

Безперечно, нагальними для України є сучасні дослідження водних екосистем, які піддаються значному антропогенному тиску і забрудненням різної природи. Відомо, що значна кількість фармацевтичних препаратів і антибіотиків, які використовуються для лікування людей, також масово застосовуються і у тваринництві на постійній основі (як стимулятори росту сільськогосподарських тварин і птахів). Лікувальні препарати і харчові добавки потрапляють в ґрунти і водне середовище, вони слабко піддаються біодеструкції. Залишки фармацевтичних препаратів накопичуються в живих організмах і обумовлюють зростання антибіотикостійкості мікроорганізмів та розповсюдження генів резистентності в екосистемах. На сьогодні, ВОЗ визнає антибіотикорезистентність однією з головних загроз здоров'ю людства. Європейський Союз оголосив фармацевтичні залишки з потенційним забрудненням води та ґрунту «пріоритетними речовинами» для боротьби з забрудненням довкілля (*Downs et al., 2016*), причому в Євросоюзі використання антибіотиків, що стимулюють ріст худоби, заборонено.

Отже, зазначене вище свідчить на користь того, що дисертаційна робота Маріанни Вікторівни Савенко, яка розглядає наукові питання антибіотикорезистентності водних мікроорганізмів, є актуальною і має **наукову новизну**.

Висновок щодо актуальності роботи дисертантки підтверджується її зв'язком з тематикою науково-дослідної роботи кафедри генетики, фізіології рослин і мікробіології біологічного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет» «Дослідження генетичних та фізіологічно-біохімічних механізмів адаптації біологічних систем різного рівня організації в умовах антропогенного навантаження» (№ 0115U003902, 2014–2019 р.), в якій Маріанна Вікторівна була виконавцем.

*Мета* дисертаційного дослідження Маріанни Вікторівни Савенко полягає у дослідженні рівня забруднення річки Уж за гідрохімічними показниками та визначені складу і антибіотикорезистентності мікроорганізмів екосистем річки Уж в умовах різного рівня токсичного навантаження. Чітко сформульовані *мета* та *задачі* дисертації дозволили Маріанні Вікторівні досягти переконливих та достовірних результатів, які мають значну *наукову цінність*.

### **Мета роботи Савенко Маріанни Вікторівни досягнута.**

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків, рекомендацій.** Наукові положення та висновки щодо складу мікробних угруповань поверхневих вод транскордонної річки Уж, виявлення значного поширення умовно-патогенних бактерій з високим ступенем антибіотикорезистентності, встановлення залежності між антибіотикорезистентністю мікрообоценозів та рівнем токсичного забруднення водних екосистем є наслідком різnobічних наукових досліджень, виконаних авторкою при вирішенні задач, поставлених в роботі.

Основним чинником, який визначає достовірність отриманих теоретичних та практичних розробок, є використання різноманітних методів визначення хімічних токсикантів у зразках води, мікробіологічних показників стану мікрообоценозу води та донних відкладів, антибіотичної активності мікробних популяцій, а також методів молекулярно-генетичних досліджень. Також автором зібрано достатньо великий обсяг матеріалу, який було коректно статистично оброблено із застосуванням класичних та сучасних математичних методів.

Рукопис дисертації написаний з використанням фахової термінології. Текст є цілісним і має сенсову завершеність. Результати дослідження та наукові положення дисертації достатньо повно представлені у 18 наукових працях, у тому числі опублікованих у фахових виданнях України та журналах, що входять до наукометричних баз даних Scopus та Web of Science. Дослідження характеризується достатньо високим науковим рівнем. Отримані результати і висновки цілком логічно витікають з викладеного матеріалу.

**Оцінка змісту дисертації та її завершеність.** Викладення матеріалу дисертації логічно завершене. Дисертаційна робота Маріанни Вікторівни Савенко складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, практичних рекомендацій та одного додатку. Загальний обсяг дисертації становить 147 сторінок машинопису. Текст ілюстровано 56 рисунками і 8 таблицями. Список

використаних літературних джерел налічує 220 найменувань, з яких 130 – іноземними мовами.

Структурно дисертація логічно скомпонована, проілюстрована й оформленена згідно вимогам Наказу Міністерства освіти і науки України від 31.05.2019 р. № 759 «Про внесення змін до наказу Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації». Дисертація та автореферат написані фаховою українською мовою.

Аналізуючи складові частини дисертаційної роботи Савенко Маріанни Вікторівни, необхідно зазначити наступне.

**У першому розділі «Проблеми забруднення прісноводних екосистем» (огляд літератури) (с. 19–42)** авторка на основі літературних даних описує основні чинники забруднення гідроекосистем, їх вплив на динаміку мікробіоти води, розглядає мікробне забруднення водойм та воду як чинник передачі генів резистентності та антибіотикостійких мікроорганізмів, здійснює порівняльну характеристику нормативів якості питної води в різних країнах світу.

Зазначаємо, що Маріанна Вікторівна ретельно проаналізувала літературу в обраному напрямку, використовуючи різноманітні вітчизняні та зарубіжні наукові джерела (118 посилань).

**У другому розділі «Матеріал і методи досліджень»** (с. 43–62), який структурно був представлений сімома підрозділами, авторка розглянула гідроекологічну характеристику річок Закарпаття, розташування точок пробовідборів із річки Уж, методику визначення гідрохімічних та мікробіологічних показників якості води та донних відкладів, виділення ізолятів, їх ідентифікація та визначення чутливості до антибіотиків, вивчення здатності мікроорганізмів до утворення біоплівки, визначення генотипових детермінант антибіотикорезистентності грамнегативних мікроорганізмів.

Слід зазначити, що Маріанна Вікторівна продемонструвала різноманітний набір методик для виконання дослідження. На нашу думку, такий методичний інструментарій дав змогу дисертанту ефективно вирішити поставлені завдання.

**У третьому розділі «Оцінка якості води за гідрохімічними показниками»** (с. 63–92) авторка дисертації наводить результати гідрохімічного аналізу води річки Уж на різних за ступенем антропогенного впливу ділянках, стверджує про неспроможність водної екосистеми до повноцінного самоочищення внаслідок безперервного скиду забруднюючих речовин у водотік.

**Четвертий розділ «Склад мікробоценозів гідроекосистем та їх стан в умовах антропогенного навантаження»** (с. 93–117) присвячений

дослідженю розподілу мікробних угруповань річки Уж в умовах антропогенного навантаження, питанням встановлення взаємозв'язків між гідрохімічними та мікробіологічними показниками якості природних вод, а також визначеню видового різноманіття домінуючих представників мікробних спільнот річки Уж. Дисертанткою отримані дані про те, що серед виділених представників алохтонної та автохтонної мікробіоти річки Уж переважаючою групою мікроорганізмів є бактерії, які використовують органічні форми азоту.

Авторка приходить до закономірних висновків про те, що значне зростання чисельності сaproфітів, цеюльозоруйнівних мікроорганізмів і водночас зменшення кількості представників автохтонної мікробіоти обумовлюють найбільші перебудови у складі мікробіоценозу в районі техногенно-трансформованої території ріки Уж.

У п'ятому розділі «Чутливість мікробних популяцій водойми до антибіотиків» (с. 118–143), який структурно складається з п'яти підрозділів, розглянуті питання чутливості умовно-патогенних мікроорганізмів річки Уж до антибіотиків, вивчення здатності до біоплівкоутворення ізолятів роду *Escherichia*, виділених із зразків води, вивчення генотипових детермінантів антибіотикорезистентності мікробних популяцій річки Уж, розповсюдження генетичних детермінант стійкості в природних водах та джерелах водопостачання, визначення взаємозв'язків між рівнем антропогенного навантаження та ступенем антибіотикостійкості мікроорганізмів.

Дисертанткою експериментально було доведено, що антибіотикорезистом води річки Уж в районі антропогенно-навантаженої території зазнав найбільших змін під впливом несприятливих умов, зумовлених забрудненням даної території. Авторка зазначає, що виділені із зразків води представники родини *Enterobacteriaceae* проявили значну стійкість до антибіотиків природного походження, таких як тетрациклін, ампіцилін та гентаміцин. Мікроорганізми води річки Уж, виділені в районі антропогенно-навантаженої території, проявляли найбільшу стійкість до антибіотиків та вирізнялися збільшенням мультирезистентних штамів, що свідчить про зміни антибіотикорезистому під впливом забруднення цієї території.

В кінці кожного розділу дисертаційної роботи здобувачка формулює **висновки**, які цілком логічно витікають з результатів дослідження, а також наводить **перелік основних публікацій дисертантки та перелік посилань**.

На основі вищевикладеного можна зробити висновок, що Савенко Маріанна Вікторівна достатньою мірою виконала програму досліджень і

представила до захисту експериментально обґрунтовану і аргументовану роботу.

**Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.** Автором досягнуті значні результати, які характеризуються безперечною науковою новизною. Дисертанткою одержані нові для науки дані та узагальнення.

*Уперед:*

- встановлено видовий склад умовно-патогенних грамнегативних мікроорганізмів, виділених з водойми на ділянках з різним рівнем антропогенного навантаження;
- визначено рівні чутливості умовно-патогенних мікроорганізмів до антибіотиків та виявлено гени стійкості полірезистентних та мультирезистентних культур;
- досліджено гени стійкості на ділянках з різним ступенем антропогенного навантаження у зразках води з річки Уж;
- проведено комплексний моніторинг визначення рівня важких металів у системі вода–донні відклади річки Уж;
- виявлено гени резистентності з джерел централізованого та децентралізованого водопостачання в умовах м. Ужгород та Ужгородського району;
- встановлено взаємозв'язок між рівнем стійкості мікроорганізмів до антибіотиків та ступенем антропогенного навантаження на гідроекосистему, зумовленим зростанням концентрацій важких металів та сполук азоту;
- за результатами дослідження розроблено рекомендації щодо використання показника ступеня чутливості мікроорганізмів до антибіотиків як індикатора антропогенного забруднення водного середовища.

**Значимість для науки та практики висновків і рекомендацій.**

Заслуговують на увагу отримані авторкою дані щодо особливостей просторового поширення у водному середовищі умовно-патогенних мікроорганізмів, їхньої чутливості до антибіотиків. Це дає змогу виявляти ступінь впливу антропогенного навантаження на гідроекосистеми, оцінювати потенційну епідемічну небезпеку умовно-патогенних мікроорганізмів.

Науково цінними є пропозиції дисертантки про необхідність введення в систему санітарно-епідеміологічного моніторингу тесту на чутливість до антибіотиків, що забезпечить підвищення вірогідності прогнозу інфекційної небезпеки досліджуваних водних об'єктів.

Отже, практичне значення дисертаційної роботи Савенко Маріанни Вікторівни висвітлено завдяки теоретичним узагальненням, зробленим

авторкою. Отримані дисертанткою результати можуть бути застосованими для підвищення ефективності епідеміологічного нагляду та моніторингу інфекційних захворювань, вирішення низки теоретичних і практичних питань санітарної мікробіології, гігієни та гідроекології.

**Відповідність змісту автореферату та основних положень дисертації.** Зміст та структура автореферату дисертації Савенко Маріанни Вікторівни цілком відповідають структурі, основним положенням та висновкам, приведеним у дисертаційній роботі.

**Публікація основних результатів дисертації.** Дисертаційна робота Савенко Маріанни Вікторівни є самостійним оригінальним дослідженням. Положення роботи апробовані на 10 конференціях та конгресах національного й міжнародного рівня.

Основні положення і результати дисертаційної роботи опубліковані у 18 наукових працях, у тому числі 8 у наукових журналах (4 з них – у фахових виданнях з переліку МОН України, 3 статті – у виданнях, які входять до міжнародних наукометричних баз даних, 1 стаття – у періодичному науковому виданні іншої держави), 10 – у матеріалах та тезах конференцій.

**Основні результати** дисертації достатньо повно викладені в наукових фахових виданнях. **Висновки** логічно випливають з результатів роботи та відображають основні положення дисертації.

### **В процесі ознайомлення з роботою виникли наступні зауваження.**

**1.** Текст дисертації є недостатньо вичитаним, в ньому присутня значна кількість синтаксичних та орфографічних помилок.

Наприклад, понад 50 словосполучень у тексті поєднуються тире (розділовим знаком), а не дефісом (с. 11, 13–15, 17, 21, 43–44, 52–54, 67 та ін.). Авторка часто не зазначає дієприкметникові звороти комами (на с. 22–29 відсутні 17 ком. Теж саме – у підписах до рис. 4.1.1 (с. 94), рис. 4.1.2 (с. 95), рис. 4.1.11–4.1.12 (с. 104), рис. 4.2.4 та 4.2.5 (с. 111), с. 120, 121 та інші).

В тексті роботи спостерігаються прикрі помилки і описки. Наприклад, на с. 108, 111–112 у підписах до рисунків зазначено «кореляціна... мікрооранізмами...». На с. 124–125 в табл. 5.2.1. та 5.2.3 наводиться слово «необлівкотвірні», а треба «небіоплівкотвірні». Крім того, є помилки у Змісті (с. 11) та с. 118 (Розділ 5. «...популяці...»).

**2.** Пункт 2.1 «Гідроекологічна характеристика річок Закарпаття» (с. 43–44) поданий у дуже стислому вигляді (1,5 с), хоча, на нашу думку, тут можна було б навести схему гідрологічної мережі регіону з основними ріками та їх

притоками. І саме на такій схемі можна нанести станції відбору проб як на рис. 2.2.1.

3. У описовій частині розділу 3 про роль важких металів (ВМ) у навколошньому середовищі всі посилання – на іноземну літературу (с. 64). Немає посилань на вітчизняні і регіональні дослідження, особливо щодо вивчення впливу ВМ на конкретні групи гідробіонтів (донних безхребетних, рослин, риб).

Виникає питання: чи порівнювала дисерантка отримані результати досліджень з визначення антимікробних властивостей мікроорганізмів р. Уж з тодіжними даними з інших регіонів України або інших держав?

4. На с. 45 дещо незрозумілою є фраза «*Найменш ураженою виявилася територія у витоку річки...*». Що авторка мала на увазі під «ураженням»?

5. Дещо некоректним для подачі графічного матеріалу є слово «точка» (с. 76–78: «*Точка 1–8*»). ТОЧКА – це географічний об'єкт або предмет на місцевості, що є орієнтиром, позначенням певного місця в просторі або на поверхні землі (за Академічним тлумачним словником української мови). Мабуть, більш коректним було б використання слів «станції відбору проб»?

6. На с. 86 у Висновках до розділу 3 є некоректне скорочення «*m-рії*». Треба – «території».

7. Дещо невдалою представляється фраза «розповсюдження антибіотикорезистентності в довкіллі...» (Практичні рекомендації, с. 146). Авторка має на увазі поширення явища чи резистентних мікроорганізмів?

8. Є зауваження до статистичної обробки результатів досліджень. Наприклад, в рис. 5.5.1–5.5.6 (с. 134–137, підрозділ 5.5) необхідно наводити формулу кореляції. Чи є достатнім для оцінки достовірності різниці між статистичними даними постановок обчислення коефіцієнту Стьюдента ( $t$ )?

Суттєвих недоліків, які б значно зменшували цінність роботи, не виявлено. Зауваження не зменшують теоретичної та практичної наукової цінності дисертаційної роботи Маріанни Вікторівни, яка є актуальним науково-кваліфікаційним дослідженням, а її теоретична та практична цінність не викликає сумнівів.

### **Висновок щодо дисертаційної роботи**

Дисертаційна робота, яка виконана Савенко Маріанною Вікторівною, є новим досягненням, яке виконане самостійно, на високому науковому рівні, є вагомим вкладом у подальший розвиток науки.

Загальний аналіз роботи дає право констатувати, що тема дисертації, без сумніву, є актуальною, а її результати можуть мати широке застосування в санітарній мікробіології, гігієні та гідроекології.

В дисертації Савенко М. В. отримані нові науково обґрунтовані теоретичні і експериментальні результати, що у сукупності є суттєвими і нагально важливими для біологічної науки.

Враховуючи актуальність, обсяг проведених досліджень, новизну, достовірність отриманих результатів, обґрунтованість висновків, практичне та теоретичне значення, методичний рівень та обсяг проведеної роботи, аналіз інтерпретацію отриманих результатів, їх апробацію та висвітлення у наукових працях вважаю, що дисертаційна робота Савенко Маріанни Вікторівни «Антropогенне навантаження на мікробіоту водних екосистем в умовах Закарпаття» є завершеною науковою працею, відповідає кваліфікаційним вимогам щодо кандидатських дисертацій, а саме всім вимогам Постанови Кабінету Міністрів України № 1197 «Деякі питання присудження (позвавлення) наукових ступенів» від 17 листопада 2021 р. та «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, зі змінами, затвердженими Постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19 серпня 2015 р., № 1159 від 30 грудня 2015 р., № 567 від 27 липня 2016 р., № 943 від 20 листопада 2019 р. та № 607 від 15 липня 2020 р.

Авторка дисертаційної роботи – Савенко Маріанна Вікторівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.16 – Екологія.

Офіційний опонент,  
доктор біологічних наук, професор,  
завідувач кафедри  
водних біоресурсів та аквакультури  
Дніпровського державного  
аграрно-економічного університету

## Роман НОВЦЬКИЙ

