

ВІДГУК

офіційного опонента

кандидата біологічних наук **СЛІВІНСЬКОЇ Катерини Андріївни**

на дисертацію **СТОРОЖУК Владислави Іванівни**

на тему: **«Поширення, видове різноманіття і генетична характеристика**

паразитів та бактерій мишоподібних гризунів

в умовах радіоактивного забруднення України»,

подану на здобуття ступеня доктора філософії

за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

галузі знань 21 «Ветеринарна медицина»

Актуальність обраної теми та зв'язок з науковими програмами

Актуальність дисертаційного дослідження є беззаперечною та обумовлена як науковою, так і практичною значущістю порушеної проблеми. Мишоподібні гризуни займають провідне місце серед дрібних ссавців за чисельністю та різноманіттям і виступають важливими компонентами природних екосистем. Водночас вони є резервуарами, проміжними, дефінітивними та механічними хазяями збудників численних трансмісивних інфекційних і паразитарних хвороб. Це визначає їх суттєву роль у підтриманні природних осередків зоонозів і формуванні епізоотичної та епідеміологічної ситуації.

Особливого значення набуває дослідження мишоподібних гризунів у межах Чорнобильської зони відчуження, яка є унікальною моделлю для вивчення довготривалого впливу іонізуючого випромінювання на біоту. Радіоактивне забруднення середовища, що зберігається впродовж десятиліть після аварії на ЧАЕС, спричиняє зміни у фізіологічному стані організмів, зокрема порушення імунної відповіді, що, у свою чергу, може впливати на поширення та інтенсивність інвазійних і інфекційних процесів. У цьому контексті система «паразит – хазяїн» набуває особливого значення як чутливий індикатор змін у довкіллі.

Слід відзначити, що, незважаючи на значну кількість досліджень, проблема поширення трансмісивних збудників серед мишоподібних гризунів в Україні, зокрема в умовах різних рівнів радіаційного навантаження, залишається недостатньо вивченою. Недостатність відомостей щодо впливу радіоактивного забруднення на паразитарні системи, а також щодо морфологічного й генетичного різноманіття збудників обумовлює необхідність проведення комплексних досліджень у цьому напрямі.

У дисертації чітко визначено мету дослідження, яка полягає у встановленні поширення збудників трансмісивного походження у мишоподібних гризунів в умовах Чорнобильської зони відчуження за різних рівнів радіоактивного забруднення. Об'єктом дослідження є вплив радіоактивного забруднення на поширення і особливості паразитів та бактерій трансмісивного походження мишоподібних гризунів, тоді як предмет дослідження охоплює закономірності поширення збудників паразитарного і бактеріального походження, їх видове,

морфологічне та генетичне різноманіття, а також залежність цих показників від біологічних особливостей хазяїв та рівня радіоактивного забруднення середовища.

Важливо відзначити, що дослідження виконане з використанням сучасного комплексного підходу, який поєднує паразитологічні, морфологічні, гематологічні та молекулярно-генетичні методи, що відповідає сучасним вимогам до наукових досліджень у галузі ветеринарної медицини та епідеміології.

Дисертація логічно пов'язана з науковими програмами, планами та тематиками науково-дослідної діяльності Національного університету біоресурсів і природокористування України. Вона виконувалася відповідно до державної науково-дослідної теми «Моніторинг особливостей поширення зоонозних інвазій тварин та їх профілактика в умовах Чорнобильської зони радіоактивного забруднення» (номер державної реєстрації 0119U100757).

Отже, обрана тема є актуальною, науково обґрунтованою, має міждисциплінарний характер і вагоме теоретичне та практичне значення, що загалом свідчить про доцільність проведення представленого дисертаційного дослідження.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, та їх достовірність

Враховуючи великий масив обробленого первинного матеріалу, а також проведений аналіз, наукові положення, представлені у дисертації В. І. Сторожук безумовно обґрунтовані. Мета та завдання логічно пов'язані між собою, а практична частина роботи виконана з використанням сучасних методів дослідження, враховуючи сучасні європейські підходи. Висновки цілком відображають суть проведених досліджень та відповідають поставленим завданням.

Наукова новизна положень, результатів та висновків дисертації

Наукова новизна дисертації полягає у тому, що вперше в Україні, зокрема в умовах Чорнобильської зони відчуження, проведено комплексне дослідження поширення та різноманіття збудників паразитарного і бактеріального походження у мишоподібних гризунів. Встановлено їх видовий склад, підтверджено наявність *Trypanosoma* spp. і *Hepatozoon* spp. із використанням молекулярно-генетичних методів, а отримані генотипи депоновано в GenBank.

Уперше ідентифіковано низку збудників, зокрема *Trypanosoma grosi*, генотипи *Hepatozoon* spp., *Bartonella* spp. (включаючи зоонозні варіанти) та представників класу Mollicutes, а також проведено їх філогенетичний аналіз. Новими є результати морфометричних досліджень паразитів і встановлення змін гематологічних показників у інвазованих тварин.

Встановлено статистично значущі закономірності поширення збудників залежно від виду, статі, сезонності та рівня радіоактивного забруднення, що дозволило вперше показати зв'язок між радіоекологічними умовами та різноманіттям паразитарних систем.

Практичне значення отриманих результатів

Практичне значення одержаних результатів полягає у можливості їх застосування для удосконалення системи профілактики та контролю зоонозних захворювань у рамках сучасної концепції «Єдине здоров'я» (One Health), що передбачає інтегрований підхід до збереження здоров'я людей, тварин і довкілля. Отримані дані щодо поширення трансмісивних збудників у мишоподібних гризунів можуть бути використані фахівцями ветеринарної медицини для оцінки епізоотичних та епідеміологічних ризиків, прогнозування циркуляції патогенів і розроблення ефективних профілактичних заходів, спрямованих на зменшення економічних втрат у тваринництві та запобігання загрозам для здоров'я людини.

Крім того, результати дослідження можуть бути використані в освітньому процесі закладів вищої освіти при викладанні дисциплін паразитологічного та екологічного спрямування, зокрема для підготовки лекцій і навчально-методичних матеріалів на біологічних, природничих та ветеринарних факультетах.

Повнота викладу основних результатів у наукових фахових виданнях

Результати роботи викладено у 12 наукових працях, з яких 3 статті у періодичних виданнях, проіндексованих у міжнародних наукометричних базах даних Scopus та Web of Science Core Collection, стаття у науковому виданні, включеному до Переліку наукових фахових видань України, 7 тез наукових доповідей, методичні рекомендації.

Оцінка змісту дисертації

Основний текст дисертації викладено на 238 сторінках. Він складається з наступних розділів: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи дослідження», «Результати власних досліджень», «Аналіз і узагальнення отриманих результатів», «Висновки», «Список використаних джерел». Також, на початку подано розділ «Перелік умовних позначень». Список використаних джерел містить 480 посилань. Робота містить 15 таблиць, 19 рисунків і одну формулу. Структура роботи в цілому відповідає загальній схемі побудови дисертацій та здобуття ступеня доктора філософії.

Вступ. У цьому розділі логічно сформульовано та обґрунтовано актуальність обраної теми, визначено мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження. Також, чітко описано наукову новизну і значення дисертації, її обсяг і структуру.

Огляд літератури. Розділ виконано на високому науково-методичному рівні, характеризується ґрунтовністю та системністю аналізу сучасних вітчизняних і зарубіжних джерел. Автором всебічно узагальнено дані щодо морфології, поширення, діагностики

та екологічних особливостей трансмісивних збудників мишоподібних гризунів, що свідчить про глибоке розуміння проблеми та сучасного стану її вивчення.

Водночас розділ логічно структурований і безпосередньо обґрунтовує доцільність та напрям проведеного дисертаційного дослідження.

Матеріали та методи дослідження. Розділ характеризується чіткістю, логічною структурованістю та достатньою деталізацією. У ньому наведено опис місць відбору матеріалу на території Чорнобильської зони відчуження та за її межами у Київській області із представленням відповідної картосхеми.

Автор застосував сучасний комплексний підхід із поєднанням польових, лабораторних і молекулярно-генетичних методів. Детально описано методики морфометричних і молекулярно-генетичних досліджень зразків біологічного матеріалу (кров, селезінка, печінка), включаючи використання ПЛР із подальшим секвенуванням. Представлено оригінальні рисунки, що ілюструють оцінку морфометричних параметрів трипомастигот *Trypanosoma* spp. та гамонтів *Hepatozoon* spp.

Загалом розділ відповідає сучасним науковим вимогам і забезпечує високу достовірність отриманих результатів.

Результати власних досліджень. Розділ викладено логічно, послідовно та на належному науковому рівні. Автором застосовано комплексний підхід до виявлення збудників, що поєднує мікроскопічні, молекулярно-генетичні та гематологічні методи, що забезпечило високу інформативність та достовірність отриманих даних.

Отримані результати є новими та науково цінними, зокрема встановлено видові особливості поширення збудників, виявлено їх генетичне різноманіття, а також доведено залежність показників інвазованості від біологічних і екологічних факторів, включаючи рівень радіоактивного забруднення. Особливо слід відзначити виявлення нових для України генотипів та високу поширеність збудників роду *Bartonella*.

Загалом розділ відзначається достатньою доказовістю, статистичною обґрунтованістю та має важливе значення для розвитку сучасної паразитології і ветеринарної епідеміології.

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності

Дисертація В. І. Сторожук є самостійно виконаною кваліфікаційною науковою працею. За результатами аналізу змісту дисертації та опублікованих наукових праць не виявлено фактів академічного плагіату, некоректних запозичень чи інших порушень принципів академічної доброчесності. У роботі належним чином оформлено бібліографічні посилання на використані джерела, дотримано вимоги наукової етики та законодавства у сфері авторського права, що свідчить про коректне використання наукових результатів інших дослідників.

Дискусійні положення та зауваження до дисертації

Не применшуючи загальної позитивної оцінки дисертації В. І. Сторожук, доцільним є визначення ряду дискусійних положень, зокрема:

1. У підрозділі 1.2 «Поширення паразитів і бактерій родів *Trypanosoma*, *Hepatozoon*, *Toxoplasma*, *Babesia*, *Mycoplasma*, *Bartonella*, *Rickettsia*, *Ehrlichia* мишоподібних гризунів у світі та Україні» (с. 52–62) наведено детальний перелік поширення досліджуваних збудників у різних країнах. Водночас доцільним було б подати наприкінці кожного підрозділу узагальнюючі висновки, зокрема щодо кількості виявлених видів, штамів чи генотипів конкретного збудника у світі із зазначенням географії (кількості країн), а також окремо виділити дані для України.

2. У підрозділі 2.2 «Методи дослідження» (с. 86, другий абзац) зазначено, що «Загалом ДНК було екстраговано від 32 тварин, відловлених у 2020 р., для яких були доступні біологічні матеріали, придатні для екстракції ДНК.»:

– виникає необхідність уточнення критеріїв відбору цих 32 тварин із загальної вибірки (116 особин), зокрема, чи відбір проводився на основі позитивних результатів мікроскопічного дослідження, чи за іншими ознаками?

– також потребує уточнення отримання ДНК: чи екстракцію проводили з раніше підготовлених мазків крові (пофарбованих чи лише висушених), чи матеріалом слугувала кров, стабілізована з використанням EDTA?

3. У підрозділі 3.3 «Поширеність паразитів і бактерій мишоподібних гризунів залежно від рівня забрудненості території» (с. 120) наведено порівняння трьох полігонів. Водночас у тексті також згадується матеріал, відібраний у Рудому Лісі та на контрольній ділянці за межами зони відчуження (Чернечий Ліс). Уточніть, чи здійснювалося аналогічне визначення рівнів радіонуклідного забруднення (як території, так і зібраних мишоподібних гризунів) на всіх зазначених ділянках, які включені до дослідження та представлені на рис. 3.9?

4. У підрозділі 3.5 «Результати секвенування ДНК організмів паразитарного і бактеріального походження мишоподібних гризунів» (с. 139–146) наведено результати філогенетичного аналізу. Водночас слід зауважити, що дисертантка інтерпретує значення бутстреп-підтримки понад 70 % як високі, тоді як у сучасній практиці філогенетичних досліджень більш обґрунтованим вважається поріг понад 85 % для підтвердження високої надійності кластеризації.

5. Крім того, на с. 139 у другому абзаці авторка зазначає: «...встановлено 1 зразок, ДНК якого виділено із селезінки *A. flavicollis* (реєстраційний номер у GenBank: PX973671), що має 98,52 % і 96,82 % нуклеотидної ідентичності до *Parabodo caudatus*...». У цьому контексті виникають зауваження щодо коректності інтерпретації результатів. Доцільно уточнити довжину отриманих послідовностей та їх відповідність очікуваним параметрам.

Рівень нуклеотидної подібності менший за 99 % є недостатнім для надійної видової ідентифікації, особливо з урахуванням того, що аналізовані фрагменти (близько 900 п. н.) порівнюються з референтними послідовностями значно більшої довжини (понад 8000 п. н.). З огляду на вищезазначене, зроблені висновки щодо видової приналежності потребують додаткового обґрунтування. Більш переконливою була б повна (або близька до 100 %) ідентичність у поєднанні з незалежним підтвердженням, наприклад, за допомогою мікроскопічних методів. Інакше існує ризик хибної інтерпретації отриманих результатів, зокрема щодо нетипових для даних хазяїв збудників.

У цілому, зазначені вище недоліки мають переважно технічний характер, не впливають на змістове сприйняття отриманих результатів і не знижують вагомий науковий внесок В. І. Сторожук у розширення знань про природу збудників трансмісивних паразитарних хвороб мишоподібних гризунів в Україні, їх поширення, діагностику та методи контролю.

Дисертація виконана на належному науковому рівні, написана фаховою мовою з використанням сучасної професійної термінології, а стиль викладення матеріалу відповідає вимогам, прийнятим у науковій літературі.

Загальний висновок

Дисертація Сторожук Владислави Іванівни на тему: «Поширення, видове різноманіття і генетична характеристика паразитів та бактерій мишоподібних гризунів в умовах радіоактивного забруднення України» є завершеним науковим дослідженням з актуального напрямку біології і ветеринарії зокрема. Приведені у роботі результати є новими та мають теоретичну та практичну цінність.

Аналіз представленого до розгляду матеріалу (рукопис дисертації, публікації) з урахуванням актуальності, новизни, наукової цінності, практичного значення, обґрунтованості, достовірності та значимості отриманих результатів дисертація на тему: «Поширення, видове різноманіття і генетична характеристика паразитів та бактерій мишоподібних гризунів в умовах радіоактивного забруднення України» є актуальною, цілісною та завершеною науковою працею, яка відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року (зі змінами), а її авторка Сторожук Владислава Іванівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» галузі знань 21 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент старший науковий співробітник відділу паразитології Інституту зоології імені І. І. Шмальгаузена НАН України, м. Київ та відділу імунопаразитології Музею і Інституту зоології Польської Академії Наук, м. Варшава, кандидат біологічних наук Катерина СЛІВІНСЬКА