

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук, доцента
Коротченко Ирины Сергеевны на диссертационную работу Колосовой
Елизаветы Маратовны «Оценка загрязнения почв комплексным
ферментативным биотестированием (на примере почв Красноярского края)»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.15 – Экология (биологические науки)

Актуальность темы исследования. Диссертация Колосовой Елизаветы Маратовны посвящена актуальной проблеме – поиску новых достоверных и репрезентативных методов биотестирования для оценки экологического состояния почв. Для этого автором было предложено использовать вместо живых организмов – ферменты ключевых метаболических реакций. Тесты, основанные на регистрации активности ферментов, отражают действие химических веществ на молекулярном уровне, быстрые и более чувствительные.

Новизна. В работе предложен комплексный ферментативный биотест для оценки загрязнения почв. Впервые ключевые ферменты метаболических цепей применены в качестве биотеста. Предложен банк модельных почвенных грунтов в качестве контроля при проведении анализа, создано программное обеспечение.

Цель работы: создание научных основ комплексного ферментативного биотеста для оценки загрязнения почвенных систем. Задачи, сформулированные соискателем способствовали достижению цели.

Представленная диссертационная работа состоит из 154 страниц, включает 20 таблиц, 21 рисунок, 215 источников литературы. Результаты исследования представлены в трех главах (главы 3-5). Автореферат диссертации соответствует основным положениям диссертации, логически построен, достаточно иллюстрирован.

Во Введении обоснована актуальность исследования и описана проблематика. Представлена новизна и практическая значимость полученных результатов.

В первой главе автором проведена работа по поиску современных и классических работ по проблеме экологического состояния почв и методов его определения. Объект исследования – почва – описан с позиции сложной системы, представлены основные характеристики почвы, состав и свойства. Рассмотрены нормативные документы, в рамках которых определяется состояние почв государственными службами. Кратко рассмотрено поведение поллютантов в почвах. Описано современное состояние почв Красноярского края, указаны фоновые значения основных микроэлементов, выявлены основные источники и типы загрязнения почв на территории края. Отдельный раздел посвящен описанию методик анализа почв, в том числе подробно рассматривается история развития и методология биотестирования. Глава заканчивается предложением введения в методики биотестирования ферментативный (молекулярный) уровень, как универсальный способ рассмотрения механизмов действия поллютантов на молекулярном уровне.

Глава материалы и методы отражают все использованные в работе методологические подходы. Даны характеристики всех исследованных автором почв и почвенных грунтов. Представлены использованные растворы, реактивы и оборудование. Приведены методы проведения ферментативного биотестирования для всех ферментативных систем.

Результаты и обсуждения представлены в трех главах (№ 3-5). Целью исследования, описанного *в главе 3* являлось составление «биологической части» комплексного ферментативного биотеста, которая была бы оптимальной по составу и сбалансированной. Исследование проводилось по двум параллельным направлениям – поиск оптимального набора ферментных систем для выявления городского и сельскохозяйственного загрязнения. Загрязнение моделировалось в каждом случае разным набором химических веществ. В результате показано, что, во-первых, необходимо использовать

ферменты различных уровней сложности (от моно- до трехферментных систем) с целью повышения чувствительности и/или выявления ферментативности, а во-вторых, для повышения вероятности обнаружения загрязнения лучше использовать разный набор ферментных систем.

В главе 4 представлены результаты адаптации существующего метода анализа загрязнения воды с помощью биферментной биолюминесцентной системы к новому объекту исследования – почве, и расширение перечня возможных для использования ферментных систем. Первым шагом адаптации служила проверка влияния свойств почв (оптических и кислотных) на результат биотестирования. На основе спектров поглощения водных вытяжек из почв показано, что корректировка на мутность раствора составила не более 6% и может не учитываться. Аналогично получено и для рН: с учетом особенностей реакционной смеси, используемой для регистрации активности ферментов, возможно сохранять актуальную кислотность почв. Автором также проверена чувствительность ферментных систем к водным вытяжкам из различных почв и грунтов. Для большинства исследованных в работе моноферментных систем водные вытяжки из почвы не приводят к изменениям в активности более чем на 20% относительно контрольного образца. Что нельзя сказать о би- и трехферментных системах, для которых существует вариативность в активности работы ферментов в зависимости от типа и разновидности почв даже в отсутствие их загрязнения. Поэтому автор указывает на необходимость использования при проведении биотестирования в качестве контроля не чистый растворитель (дистиллированную воду), а вытяжку из приближенного по составу и свойствам модельного почвенного грунта. Что также может быть полезно и в исследованиях по изучению биодоступности поллютантов. Таким образом, банк модельных почвенных грунтов составляет вторую часть комплексного ферментативного биотеста.

В главе 5 приводятся результаты по разработке программы, которая может помочь исследователю в подборе контрольного почвенного образца и

в выявлении возможного загрязнения почв. Такая программа является третьей частью комплексного ферментативного биотеста. Проведена также апробация метода биотестирования (на примере одной из систем) на различных почвах природных экосистем.

Представленные в работе *выводы* базируются на достаточно большом экспериментальном материале и обоснованы.

Результаты работы опубликованы в 27 работах, в том числе в 6 статьях в рецензируемых журналах, индексируемых в базах Web of Science, Scopus и рекомендуемых ВАК России для опубликования научных результатов.

При ознакомлении с авторефератом и диссертацией Е.М. Колосовой возникли следующие вопросы и замечания:

1) Во Введении (пункт «научная новизна») указано, что изучены факторы, влияющие на чувствительность, в том числе «влияние природы экстрагирующего растворителя». Однако в работе в качестве экстрагирующего растворителя использована только дистиллированная вода.

2) В чем заключаются преимущества разработанного теста относительно уже существующего большого количества биотестов?

3) Существуют ли аналоги разработанной программы или она является полностью уникальной?

4) Возможно, пятую главу следовало бы разбить на две самостоятельные главы – описание программы и апробацию методики.

Указанные вопросы и замечание имеют дискуссионный характер, не умаляют достоинств данной работы и не ставят под сомнение обоснованность научных положений и выводов.

Заключение

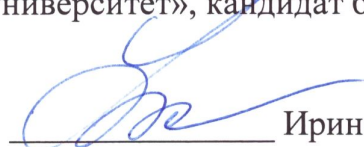
Диссертационная работа Е.М. Колосовой «Оценка загрязнения почв комплексным ферментативным биотестированием (на примере почв Красноярского края)» представляет собой научно-квалификационную работу,

в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для экологии и развития методов анализа почв.

Диссертация отвечает требованиям пп. 9–14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 ред. от 26.01.2023), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и соответствует паспорту специальности 1.5.15 – Экология (биологические науки), а ее автор Колосова Елизавета Маратовна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15 – Экология (биологические науки).

Официальный оппонент

доцент кафедры экологии и природопользования ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», кандидат биологических наук,
доцент



Ирина Сергеевна Коротченко

«21» марта 2023 г.

Адрес: 660130, г. Красноярск, ул. Елены Стасовой, д. 44Д, каб. 4-12

моб.тел.: +7(965)891-24-90, раб.тел.: +7(391) 247-23-14

e-mail: kisaspi@mail.ru

Подпись доц., доц., канд. биол. наук И.С. Коротченко заверяю:

