

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, доцента Тереховой Веры Александровны 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 исследования. Доминирование биотической концепции в экологическом контроле природных сред в настоящее время сопряжено с необходимостью совершенствовать систему оценки состояния природных комплексов по реакциям живых систем. В анализе состояния наземных ценозов и экологического качества почв известные проблемы определения эталонных контрольных участков и фоновых территорий дополняются гетерогенностью и скудным набором тест-систем по сравнению с водными объектами. Для выполнения почвой экосистемных (биогеоценологических) функции и глобальных (биосферных) функции почвенного покрова в современных условиях техногенного пресса необходимо приложить усилия для обеспечения «здоровья» почвы.

Биодиагностика здоровья почвенных экосистем предполагает наряду с биоиндикацией использование экспресс-анализов методами биотестирования. Для комплексной оценки почв по междисциплинарной методологии Триад (ISO 19204:2017, ныне это ГОСТ), рекомендуется использовать биотесты на основе живых организмов разных трофических уровней и сложности организации. Ферментативная активность широко используется как биоиндикационный показатель состояния почв. Однако для полной и объективной оценки экотоксичности почв при химическом загрязнении необходима разработка токсикологических индексов с участием ферментов и новых подходов в биотестировании, многофакторный анализ. Именно на это нацелена представленная к защите диссертационная работа.

Ферменты, определяющие реакции тест-организмов на внешние воздействия, могут быть первым звеном в батарее биотестов. К тому же, анализ ферментативных систем способствуют изучению действия поллютантов на молекулярном (биохимическом уровне), а ферментативные реакции лежат в основе функционирования любых живых организмов, они универсальны. Однако, использование ферментов в процедуре биотестирования почв, а не в биоиндикационных исследованиях, не распространено, методология их применения требует разработки. Таким образом, направление диссертационного исследования представляется весьма актуальным.

Цель исследования сформулирована как создание научных основ комплексного ферментативного биотеста для оценки загрязнения почвенных систем. Для достижения цели решались задачи, включающие подбор репрезентативных тестовых систем, оценку границ их применимости, изучение закономерностей влияния водных вытяжек из почв на активность ферментов, создание программы для работы с результатами исследования и апробацию метода.

Структура работы. Диссертация представлена на 154 страницах, имеет традиционную структуру, состоит из 5 глав, посвященных обзору литературы, материалам и методам исследования, описанию результатов работы. Содержит 20 таблиц и 21 рисунок. Список использованных источников литературы включает 215 наименований, 95 из которых на иностранных языках.

В первой главе подробно описан объект исследования (почва) и рассмотрены его основные характеристики. Даны ссылки на нормативные документы в области охраны почв. Детально рассмотрено экологическое состояние почв Красноярского края, являющихся целевым объектом исследования соискателя. Представлена история развития концепции биотестирования, перечислены широко-применяемые тест-системы и принципы анализа. Отдельно рассмотрена значимость ферментов в биологическом анализе почв, неполнота их вовлечения в биодиагностику

качества почв, что позволило обосновать актуальность, идею, цель и задачи работы.

В главе Материалы и методы описаны места отбора и характеристики почвенных образцов. Содержится информация об использованных реагентах и оборудовании, подробно описаны методики проведения анализа. Описана процедура статистической обработки результатов.

В главе 3 дается обоснование выбора конкретных ферментативных систем для их включения в состав комплексного теста. Тип и распределение поллютантов зависят от преобладающих источников загрязнения и специфики землепользования, на этом основании соискателем предложен подход, при котором набор тест-ферментов различается для почв индустриальных и почв агроценозов. С этим можно согласиться в исследовательской модели, хотя нередко виды загрязнений для этих почв идентичны. В качестве веществ, моделирующих промышленное (городское) загрязнение выбраны тяжелые металлы, нефтепродукты и бытовые инсектициды. В тоже время для моделирования загрязнения почв агроценозов были выбраны пестициды (как хлорорганического, так и фосфорорганического класса), наноматериалы и тяжелые металлы, как часть удобрений. В итоге на основе большой кропотливой экспериментальной работы автором установлены уровни чувствительности ферментов и ферментных систем к выбранным поллютантам, а также описаны ограничения примененных методов, дан анализ особенностям протекания ферментативных реакций, что в определенной степени объясняет эти ограничения.

В главе 4 проведена оценка влияния водных вытяжек из условно чистых почв на активность моно-, би- и триферментных систем. Особенностью исследуемых систем является способ регистрации тест-отклика с помощью оптического оборудования (спектрофотометры и люминометры). Для исключения влияния оптических свойств растворов, не относящихся к наличию/отсутствию поллютантов, на этапе пробоподготовки проделана специальная работа по анализу вклада мутности и цветности, рассчитана

погрешность измерений растворов. Сделан вывод о неких допустимых пределах этих показателей для оценки токсичности испытанных поллютантов, добавленных в водные вытяжки образцов почв.

Логичным представляются контрольные испытания, в которых изучен эффект разнообразных почвенных свойств на функционирование ферментов в отсутствии поллютантов. Интересно, что большинство моноферментных систем не реагировали на почвенные компоненты в экстрактах. Тогда как системы, включающие фермент НАДН: ФМН-оксидоредуктазу чувствительны к присутствию гуминовых веществ, что вполне логично и подтверждается многочисленными данными литературы. Естественно, необходимо учитывать свойства почв при анализе токсичности, поскольку хорошо известно, что ксенобиотики по-разному взаимодействуют с компонентами почв разных типов.

Проблема референтной почвы активно дискутируется, в экотоксикологии, за образец сравнения обычно берут стандарт - искусственную стандартную почву (ГОСТ Р ИСО18763-2019), которую, кстати, интересно было бы применить для сравнения тест-эффектов разных ферментативных систем при одном и том же виде загрязнения. Можно согласиться с автором, что стандарт не отражает всей вариативности типов почв, но зато он позволяет получать результаты, приближенные к международным стандартам, сделать доступными для воспроизводства результатов. Нацеливаясь на разработку программного продукта, автор использовал анализ спектра почвенных свойств с помощью набора почвенных грунтов, различающихся гранулометрическим составом и содержанием гумуса.

В последней **главе 5** предложен инструмент для анализа сред сложного состава. Специализированное программное обеспечение включает сведения о проанализированных почвенных грунтах, а также результаты их биотестирования с помощью трех ферментативных систем. Выявлены границы применимости метода и возможные ограничения.

В **Заключении** автор подводит итоги проделанной работы. Хотелось бы пожелать дальнейшего развитие исследований в этом направлении, поскольку важно установить корреляцию между откликом разработанных ферментативных систем на загрязнение токсикантом водного экстракта и твердой массы почвы.

В формулировку новизны исследования следует внести уточнение, указав, что ключевые ферменты впервые использованы именно для биотестирования токсичности, поскольку в биоиндикации нативные почвенные ферменты активно и давно применяются. В **Заключении** соискатель пишет, что выбор конкретного набора систем должен основываться на спектре предполагаемых загрязнителей, что в реальности не всегда удается установить.

К автору диссертации возникли следующие **вопросы**.

1) Чем обусловлен выбор ферментов и их сочетание для разных видов загрязнения?

2) Можно ли экстраполировать полученные результаты на реакцию живой системы организменного уровня? Была ли возможность сопоставить тест-отклики молекулярного и организменного уровней?

3) Почему при разработке программы выбраны лишь отдельные ферментативные системы?

Указанные замечания и вопросы не умаляют достоинств работы и не ставят под сомнение обоснованность научных положений и выводов. Работа спланирована и выполнена на хорошем методологическом уровне. Большой набор почв и ферментов, широкий спектр влияющих факторов и вариации условий экспозиции ферментов позволили предложить интересную концепцию комплексного биотеста. Особую практическую ценность представляет банк стандартных почвенных грунтов, а также пополнение молекулярного (биохимического) уровня современных биотест-систем.

Результаты исследования широко апробированы в достойных публикациях и докладах. Работа аккуратно оформлена и полно иллюстрирована таблицами и рисунками.

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 методологии биотестирования.

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

профессор кафедры земельных ресурсов и оценки почв
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова», доктор биологических наук, доцент

В.А. Терехова, Вера Александровна Терехова

«20» марта 2023 г.

Адрес: 119234, г. Москва, Ленинские горы, дом 1 стр.12,

МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения

моб.тел.: +7(903)260-44-69,

раб.тел.: +7(495)930-03-95

e-mail: vterekhova@gmail.com

