

ОТЗЫВ

официального оппонента Филипповой Аси Вячеславовны на диссертационную работу Вершининой Ирины Александровны на тему «Экологическая оценка действия наночастиц Zn, Cu и SiO₂ в системе почва-живые организмы», представленную к защите в диссертационный совет при ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки).

Актуальность темы. Загрязнение среды имеет тенденцию к поступлению загрязнителей в нанометровом диапазоне измерения. Наночастицы из-за своих сверхмалых размеров приобретают уникальные характеристики, которые часто радикально отличаются от показателей того же вещества в макродисперсной фазе. Следует отметить, что высокие темпы глобального производства специально спроектированных (инженерных) наночастиц/наноматериалов, которые рассматриваются как антропогенные намеренные источники воздействия на человека и окружающую живую природу, существенно опережают обоснование необходимых и эффективных мер безопасности при контакте с ними. Поэтому в условиях ограниченных научных знаний о риске для окружающей среды основное значение придается изучению их воздействия на живые организмы.

Наночастицы используются в различных промышленных и бытовых целях, что непременно отражается на увеличении объема их производства, а, следовательно, приводит к все большему поступлению наночастиц в окружающую среду и возникновению риска потенциально неблагоприятных влияний в естественных системах. За последнее десятилетие был достигнут значительный прогресс в понимании источников, судьбы и эффектов наночастиц. Однако воздействию наночастиц на компоненты окружающей среды, в частности почву, удалено недостаточно внимания исследователей. А между тем наночастицы могут мигрировать через цепь почва-растение-



человек. Это ставит перед наукой актуальную задачу комплексного исследования поведения загрязнителей и адаптационных реакций почвенных организмов, которые являются основными компонентами фильтрационных свойств почвы. Особенno это важно в агроэкосистемах, где производятся основные продукты питания.

Целью работы стало исследование биологических эффектов загрязнения среды наночастицами Zn, Cu и SiO₂ на представителей агробиоценоза.

Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № №14-36-00023, фундаментального научного исследования по программам УрО РАН «Разработка теоретических основ и практических приемов повышения эффективности производства продукции растениеводства с использованием нанотехнологических решений» № 0761-2018-0032.

Научная новизна исследований заключается в том, что были получены данные, которые позволили охарактеризовать приспособительные реакции представителей агробиоценоза и выявить пределы толерантности при добавлении наночастиц Zn, Cu и SiO₂. Соискатель с использованием современных методов исследования установила диапазоны изменения физиолого-биохимические параметры используемых тест-объектов при внесении наночастиц Zn, Cu и SiO₂ в искусственный субстрат и почву. В ходе выполнения работы соискателем был выявлен дозозависимый эффект, влияющий на биоаккумуляцию и пороги регуляции Zn, Cu и Si в тест-организме *E. fetida*.

Научная новизна работы подтверждена патентами на изобретение (№ 2635103; бюл. № 31 от 09.11.2017, № 2700616. Бюл. № 26 от 18.09.2019).

Научная и теоретическая значимость работы. Полученные экспериментальные данные являются основой для разработки критериев внесения и содержания наночастиц в почве, а также для разработки на их основе системы экологического прогнозирования ближайших и отдаленных воздействия наночастиц на живые организмы. Полученные данные позволяют разработать на их основе систему тестирования для выявления ответных

реакций живых организмов при внесении наночастиц в среду обитания и последующего ранжирования по уровню воздействия. Результаты работы могут быть внедрены в учебную деятельность при преподавании курсов экологического направления.

Обоснованность основных научных положений диссертации и достоверность полученных результатов, выводов и предложений состоит в хорошо продуманном и логичном выборе моделей для оценки биологического действия наночастиц в системах *in vitro* и *in vivo*. Наиболее значимые организмы для формирования почв в агросистемах - дождевые черви, к тому же являются чувствительными к загрязнению организмами. Вершинина И.А. в ходе выполнения работы применила современные методы исследования, позволившие получить достоверные результаты, а также представить логичные, хорошо аргументированные и научно обоснованные выводы. Экспериментальный материал был подвергнут статистической обработке, позволившей выявить достоверные различия между контрольной и опытной группой, а также между различными временными точками отбора проб. Теоретическая и практическая обоснованность представленных положений и выводов подтверждена их апробаций в ходе выступлений на конференциях различного уровня.

Оценка содержания, завершенность работы и качество её исполнения.

Структура диссертации отвечает требованиям, предъявляемым к данным работам. Диссертация состоит из введения, главы с описанием материалов и методов исследования, главы с результатами исследования, главы обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа выполнена на 174 страницах машинописного текста, включает 52 рисунка и 10 таблиц. Список литературы состоит из 282 источником, из них 257 англоязычных источника.

Все исследования, проведенные Вершининой И.А., выполнены на высоком методическом и научном уровне.

Введение отражает цели и задачи работы, включает в себя научные положения, представляемые на защиту. Качественно проведенная оценка экспериментальных данных позволила обосновать Вершининой И.А. научную новизну, а полученные результаты позволили подтвердить теоретическую и экспериментальную значимость работы и научных положений.

Обзор современных представлений о проблеме исследования, позволяет говорить об умении соискателя выполнять поиск и систематизацию литературных данных. Всё это позволило получить представление о существующем положении в отечественной и мировой науке в рамках представленной работы.

В главе «Материалы и методы» представлена схема проведения экспериментов в исследовании. Варианты шести доз применения трех наночастиц цинка, меди и кремния, в которых были использованы такие тест-объекты как штаммы бактерии (*Escherichia coli*), особи дождевых червей (*Essenia fetida*), растений пшеницы мягкой (*Triticum vulgare*). Три представителя разных групп агроценозов, что логично для исследования почвы, как среды жизни. В главе представлены современные методы исследования на биохимических анализаторах, люминофорах, масс-спектрометрах, использованием климатических камер. Оценивали более 20 параметров, состояния биообъектов и почвы. Автор подробно оформила все ссылки на методики, используемые в работе, подробно описала и логически обосновала используемые статистические методы.

Основной раздел диссертации «Результаты собственных исследований» представлен несколькими блоками, в которых описываются результаты оценки действия наночастиц на три вида тест-объектов в субстратах искусственно созданных для модельного опыта и почвы (чернозем южный), при внесении наночастиц меди, цинка и оксида кремния.

Автором по результатам проведенных исследований было показано, что наночастицы, использованные в работе, имеют разнонаправленный характер и их влияние на разные группы агроценозов имеют свои особенности. В

экспериментах с червями автор исследования приводит данные о выявлении доз, вызывающих различные приспособительные реакции червей. Акцентирует внимание на влияние наночастиц Zn и Cu на подавление активности ферментов антиоксидантной защиты в организме червей, спровоцированного токсическим стрессом. Выявляет уменьшение количества белка в теле червей, снижение популяции на 28 сутки. Ирина Александровна Вершинина приводит количественные данные накопления частиц цинка, которые аккумулировались в теле червей в течении 14 и 28 суток. Анализ микрофлоры кишечника червей показывает, что их подавление идет на фоне внесения наночастиц цинка и меди. Внесение наночастиц SiO_2 положительно влияет на численность некоторых изученных групп микроорганизмов в кишечнике червей. Особенно это проявилось в варианте содержания особей в живой почве, а не в искусственном субстрате.

Исследователем выявлено, что и на искусственном субстрате и в почве накопление меди, цинка и кремния в теле червей зависело от концентрации вносимых наночастиц, а черви могут накапливать медь и цинк до определенного предела. Затем включается механизм активизации свободных радикалов с последующим выведением цинка и меди из организма в капролитах в вариантах с высокими концентрациями наночастиц цинка и меди. Автором были выявлено и установлены пороги регуляции уровня исследуемых элементов в организме червя: для Cu в искусственной почве – 500 мг/кг, в почве – 500 мг/кг НЧ; для Zn в искусственной и природной почве – 500 мг/кг НЧ. Автор отмечает, что это связано с образованием активных радикалов кислорода в организме червей, трактуя это как адаптивную реакцию.

Автор представила данные о бактерицидной и фунгицидной активности наночастиц цинка для аммонифицирующих микроорганизмов в эксперименте на почве и тех групп, которые утилизируют минеральные формы азота, а также бактерий рода *Azotobakter*. При этом отмечает парадоксальный факт, что на численность целлюлозолитических бактерий, чья численность в концентрациях 50-100 мг/кг НЧ возросла на 5-25% наночастицы цинка не

влияют, и даже стимулируют. Отмечает автор, что наночастицы не уменьшают альфа-разнообразие микробного сообщества, а изменяют их структуры.

В экспериментах с бактериями приведены результаты, свидетельствующие о том, что наночастицы Zn *in vitro* значительно сильнее способствовали снижению биолюминесценции бактериального тест-штамма, чем наночастицы Cu. Выявленные изменения в биолюминисцентном отклике Эшерихии на присутствие наночастиц позволило ранжировать их по степени токсичности Zn>Cu>SiO₂ и выявить дозы вызывающие острую токсичность.

Логически правильно автор завершает каждую серию эксперимента проверкой вариантов с дозами на живой почве и искусственном субстрате и видами наночастиц - фитоэффектом. На примере пшеницы мягкой исследователь показывает, как воспринимают семена предложенную среду жизни. Оценивая степень фитотоксичности, автор выявляет особо проблемные дозы с наночастицами цинка и меди и отмечает положительное влияние наночастиц SiO₂ на морфо-биохимические параметры растения.

Несомненным достоинством работы является обсуждение результатов собственных исследований, проведенное с привлечением широкого круга современных отечественных и мировых научных данных по теме диссертации.

В конце диссертации соискателем сформулированы пункты заключения, которые объективно отражают содержание диссертационного исследования.

Соответствие содержания автореферата диссертации, уровень отражения полученных результатов в печати.

Основные результаты, изложенные в диссертационной работе, нашли свое отражение в 19 печатных работах, среди них – 12 публикаций в журналах, индексируемых в базе данных Web of science и Scopus, 2 – в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК МОН РФ для публикации результатов диссертационных исследований; 1 глава в монографии; получено 2 патента РФ на изобретение.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. По каждому блоку исследований, изложенных в диссертации

сделаны промежуточные выводы по методическому подходу к оценке результатов на почвенные свойства как среды жизни для почвенных бактерий, мзофауны и растений.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Вопрос 1: В главе «Материалы и методы» не приводится объяснения для чего в исследовании заложены эксперименты с живой почвой и искусственно созданным субстратом, что автор хотела выявить на примере стандартизированного искусственного субстрата (OECD №207, 1984)

Вопрос 2: Не сделан акцент в главах о том какие адаптационные реакции выявлены автором у дождевых червей, заявленных в защищаемом положении №2

Вопрос 3: Почему высокие дозы (четвертая – пятая группы) имели меньшее влияние на активность антиоксидантных ферментов у тест-объектов, хотя логично предположить, что с повышением дозы токсическое действие должно усиливаться.

Хотелось бы обратить внимание на некоторые аспекты выполненной работы, которые носят, скорее всего, перспективно-рекомендательный характер.

Результаты исследований должны давать четкое понимание как их использовать для системы оценки допустимых уровней загрязнения. Может быть исследователю стоило разработать шкалу реакции тест-объектов на дозы загрязнения. Это позволило бы оценить степень опасности загрязнения по уровню их возможного воздействия на системы «почва-растение», «почва-микроорганизмы – биологическая активность почв»

Отмеченные комментарии носят перспективно-рекомендательный характер и могут быть обсуждены в дискуссионных разделах диссертации.

Заключение

Считаю, что диссертация Вершининой Ирины Александровны на тему «Экологическая оценка действия наночастиц Zn, Cu и SiO₂ в системе почва-живые организмы» представляет собой завершенную научно-

квалификационную работу, в которой на основании проведенных соискателем исследований содержится решение актуальных задач, что имеет теоретическое и практическое значение. Диссертация соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в действующей редакции), а её автор Вершинина Ирина Александровна заслуживает присуждение ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки).

Официальный оппонент:

Зав. кафедрой земледелия, биоэкологии и агрохимии ФГБОУ ВО «Оренбургский ГАУ»,
д.б.н., профессор


02.05.2024г

Филиппова Ася Вячеславовна

Филиппова Ася Вячеславовна, доктор биологических наук, по специальности 03.02.08 – Экология (биология), профессор, зав. кафедрой земледелия, биоэкологии и агрохимии ФГБОУ ВО «Оренбургский ГАУ», факультета Агротехнологий, землеустройства и пищевых производств ФГБОУ ВО «Оренбургский ГАУ»
460014, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18
Тел.: 8(3532)77-59-32, сом.. 89619208322 E-mail: kassio-67@yandex.ru

Подпись официального оппонента д.б.н., профессора Филипповой А.В.
заверяю:

Ученый секретарь совета
ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ,
кандидат экономических наук,
доцент



Дмитриева Елена Николаевна