

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 99.0.027.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ РОССИЙСКОГО ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ТВЕРСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
ТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМЕНИ
Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело

№ _____

решение диссертационного совета
от «26» апреля 2022 года № 6

О присуждении Шуваловой Наталье Евгеньевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биотехнологические аспекты определения токсичности пестицидов на клеточных и организменных тест-системах» по специальности 1.5.6. Биотехнология принята к защите «15» февраля 2022 года (протокол заседания № 1) диссертационным советом 99.0.027.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный технический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук (125047, Москва, Миусская площадь, 9, приказ о создании диссертационного совета от «28» сентября 2016 года №1172/нк).

Соискатель Шувалова Наталья Евгеньевна, «25» сентября 1975 года рождения, в 1997 году соискатель окончила Тверской государственный технический университет. В 2017 году зачислена в аспирантуру Тверского государственного технического университета на заочную форму обучения по подготовке научных и научно-педагогических кадров, срок окончания аспирантуры – сентябрь 2022 года. Временно не работает.

Диссертация выполнена на кафедре биотехнологии, химии и стандартизации Тверского государственного технического университета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель - кандидат биологических наук, доцент Прутенская Екатерина Анатольевна, доцент кафедры биотехнологии, химии и стандартизации Тверского государственного технического университета.

Официальные оппоненты:

- **Виноходов Дмитрий Олегович**, доктор биологических наук, доцент, декан факультета химической и биотехнологии, заведующий кафедрой молекулярной биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»;

- **Титова Вера Ивановна**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующая кафедрой агрохимии и агроэкологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия»;

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тульский государственный университет» (Тула) в своем *положительном* отзыве, подписанном Понаморева Ольгой Николаевной, доктором химических наук, доцентом, заведующим кафедрой биотехнологии указала, что диссертация полностью соответствует требованиям пп. 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней»

(постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 в действующей редакции), а ее автор, Шувалова Наталья Евгеньевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (отзыв заслушан и одобрен на совместном заседании кафедр химии, биотехнологии и биологии «22» марта 2022 года, протокол № 8).

Соискатель имеет 9 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 9 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4 работы. Общий объем публикаций составляет 46 страниц. **В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах.** Все работы опубликованы с соавторами. Личный вклад в работы, опубликованные в соавторстве, составляет не менее 80 %, и состоит в разработке концепции исследования, постановке задач, выполнении исследований и интерпретации полученных результатов. Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на 7 международных и всероссийских научных конференциях и форумах; монографий и депонированных рукописей соискатель не имеет.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Shuvalova N., Prutenskaya E., Sulman M.** Determination of chronic toxicity of glyphosate by biotesting in laboratory mice // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2021. № 677. 042035 (Scopus).

2. **Шувалова Н.Е.,** Прутенская Е.А., Сульман Э.М., Сульман М.Г. Биотестирование гербицидов на *Stylomychya mytilus* // Вестник Тверского государственного университета. Серия «Биология и экология». 2018. № 4. С. 262 - 269 (ВАК).

3. **Шувалова Н.Е.,** Прутенская Е.А., Сульман М.Г. Оценка воздействия глифосата при низких концентрациях в кормовых зерновых культурах на биохимические показатели крови и органы лабораторных мышей // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология». 2021. Т. 35. С. 97 – 107 (ВАК).

На диссертацию и автореферат поступило 9 отзывов, **все положительные.** В отзывах указывается, что представленная к защите диссертационная работа характеризуется высокой актуальностью, научной ценностью и имеет большое значение для теории и практики экономического развития Российской Федерации. Отзывы направили:

1. Голованова Ирина Леонидовна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник лаборатории экологии рыб Федерального государственного учреждения науки Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук. В качестве замечаний отмечено: первая задача, касающаяся подходов биотестирования гербицидов с помощью различных биологических тест-объектов, могла быть решена в рамках литературного обзора; первые три защищаемые положения логично было бы объединить в одно; в главе 3 автореферата отсутствует структурное деление на более мелкие рубрики, как это сделано в диссертации.

2. Машенцева Наталья Геннадьевна, доктор технических наук, профессор, профессор Российской академии наук, профессор кафедры «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет пищевых производств». В качестве замечаний отмечается, что не приводятся возможные ошибки и погрешности, при биотестировании с использованием стилонихий, причины их и способы устранения. Также в качестве рекомендации хотелось бы учесть возможности внедрения результатов в практическую деятельность токсикологических лабораторий.

3. Труфанов Александр Михайлович, кандидат сельскохозяйственных наук, профессор кафедры «Агрономия» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославская государственная сельскохозяйственная академия». По содержанию автореферата в качестве замечаний отмечено: в автореферате в разделе «Актуальность работы» аргументирован выбор глифосата для биотестирования, а чем обусловлен выбор других гербицидов? Насколько предлагаемый метод биотестирования более эффективен в сравнении с традиционными методами?

4. Ущатовский Игорь Валентинович, кандидат биологических наук, заместитель директора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр

лубяных культур» по научной части. В качестве замечаний отмечается: недостаточно аргументирован выбор *Stylonychia mytilus* в качестве основы клеточной тест-системы; на рисунке 2 под буквами *a* и *b* представлены два одинаковых графика.

5. Дворецкий Дмитрий Станиславович, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Технологии и оборудование пищевых и химических производств» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тамбовский государственный технический университет». В качестве замечаний отмечено, что не ясно, исходя из каких требований, предъявляемых к тест-объектам, для биотестирования была выбрана культура микроорганизмов *Stylonychia mytilus*.

6. Кольцова Татьяна Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологии почв Института проблем экологии и недропользования Государственного научного бюджетного учреждения «Академия наук Республики Татарстан», и Сунгатуллина Люция Мансуровна, старший научный сотрудник той же лаборатории. В качестве замечаний отмечено: (1) на стр. 12 автореферата в таблице 4 видно, что численность микроорганизмов для торфонавозной смеси, культивируемой при температуре 37 °С, по сравнению с контролем численность микроорганизмов на опыте снизилась на три порядка для всех концентраций глифосата. Если в таблице нет опечатки, а вывод не совсем корректен; (2) чем был обусловлен выбор *Stylonychia mytilus* в качестве тест-объекта, а не например, *Daphnia magna* Straus? (3) автором не указана информация о статистической обработке полученных результатов.

7. Цуткиев Борис Георгиевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий кафедрой биологической и химической технологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет», и Гагиева Лариса Черменовна, доктор биологических наук, доцент той же кафедры. Отзыв замечаний не содержит.

8. Колесникова Ирина Яковлевна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры «Экология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославская государственная сельскохозяйственная академия». Отзыв замечаний не содержит.

9. Демьянова-Рой Галина Борисовна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры земледелия, растениеводства и селекции Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Костромская государственная сельскохозяйственная академия». В качестве замечаний отмечено: (1) целесообразно указывать методы, применяемые в работе; (2) при обозначении единиц измерений использовать систему СИ.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются признанными специалистами в данной области биотехнологии, что подтверждается наличием соответствующих публикаций в ведущих научных рецензируемых изданиях, а также спецификой и профилем диссертационной работы, и выполнен в соответствии с пп. 22 и 24 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 в действующей редакции).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- предложено использование простейших *Stylonychia mytilus* как тест-объектов при исследовании токсического действия гербицидов и определена их оптимальная численность при биотестировании. Экспериментальным путем определена минимальная концентрация гербицидов, не подавляющая рост клеток стилонихий;

- впервые проведено биотестирование почвы с использованием *Stylonychia mytilus* с содержанием глифосата, фактически применяемом при обработки сельскохозяйственных культур, и разработаны условия пробоподготовки водных вытяжек с целью осуществления биотестирования почвы;

- доказано, что в качестве ответной реакции на гербицидное загрязнение происходят отклонения на клеточном уровне в виде изменения морфологических параметров клетки *Stylonychia mytilus*, а содержание глифосата в зерне в остаточных количествах (7, 14, 28 мг/кг) вызывает угнетение функции репродуктивной системы опытных животных, негативно

воздействует на жизнеспособность потомства, паренхиматозные органы и биохимические показатели крови.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- изучено влияние глифосата на такие тест-объекты, как простейшие *Stylonychia mytilus* и млекопитающие (мышь) на клеточном и организменном уровнях;
- при действии испытываемых веществ на тест-культуру выявлены существенные изменения морфологических параметров;
- в хроническом эксперименте наблюдаются патоморфологические признаки хронического отравления, выраженный эффект подавления фертильности у мышей, морфологические изменения паренхиматозных органов, а также количественные и качественные изменения форменных клеток крови.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- представлены лабораторные методики и сформулированы подходы к биотестированию почвы, которые могут стать основой метода определения токсичности почв, в случае применения глифосата при выращивании сельскохозяйственных культур и, в целом, при установлении допустимого уровня загрязнения природных объектов глифосатом.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;
- теория построена на известных проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- достоверность полученных результатов обеспечена использованием методов эксперимента, соответствующих современному научному уровню;
- выводы диссертации обоснованы, не вызывают сомнения и согласуются с современными подходами к выбору тест-объектов, методов биотестирования.

Личный вклад соискателя состоит во включенном участии на всех этапах процесса: поиске и анализе научной и научно-технической литературы, постановке основных задач исследования, проведения всех экспериментов и получении исходных данных, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты диссертации были высказаны **следующие критические замечания:**

1. Возможно ли интерпретировать результаты, полученные на инфузориях, на более сложные организмы? Или это два параллельных исследования?
2. Почему Вы выбрали стилонихию в качестве тест-объекта?
3. Почему главный критерий оценки токсичности гербицидов – это морфология клетки?
4. В одной из таблиц представлена концентрация глифосата с точностью до сотых после запятой, а также доверительный интервал с данной точностью. Как Вам удалось это сделать?
5. Какая повторяемость эксперимента при биотестировании с помощью стилонихий?
6. Можно ли понять, какие генетические, метаболические изменения происходят при обработках гербицидами?
7. При моделировании роста организмов при 60 °С какие почвы Вы используете?
8. «Низшие животные» – кто это? Когда изучают морфологию, зоологию, то принято – простейшие, позвоночные, беспозвоночные, а низшие есть только растения, «низшие животные» никогда не говорят. Примите во внимание.
9. Использовали ли Вы какие-нибудь методы статистики и насколько достоверно то, о чем Вы говорите?
10. Вы не пробовали повторить еще раз исследования с резистентными формами простейших и посмотреть, наследуется ли резистентность к этому препарату?

Соискатель Н.Е. Шувалова ответила на заданные ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На первый вопрос автор ответила, что простейшие – эукариоты, поэтому возможно интерпретировать результаты для более сложных организмов, но в работе это два независимых исследования. **На второй вопрос автор пояснила**, что выбор данного тест-объекта обусловлен

наличием стандартных требований к культивированию и содержанию в лабораторных условиях простейших, метод биотестирования прост, визуален, легко интерпретируется, культивирование стилонихий в лабораторных условиях не требует дорогостоящего оборудования. *С третьим замечанием автор не согласилась*, отметив, что главным критерием токсичности является изменение численности стилонихий (выживаемость, размножение), а не морфологические изменения клетки. *С четвертым замечанием автор в целом согласилась*, при этом отмечая, что диапазон измерения и доверительный интервал среднего при проведении исследований принимали согласно стандартной методике. *На пятый вопрос автор пояснила*, что для одного эксперимента количество повторений составило 12. *На шестой вопрос автор отметила*, что по литературным данным, гербициды, в том числе глифосат и клопиралид, могут образовывать комплексы с АТФ, надоксидоредуктазой, никотинамидадениндинуклеотидом, проявляя мутагенные свойства и вызывая энергодефицит клетки, что негативно воздействует на выживание и размножение организмов. *На седьмой вопрос автор пояснила*, что использовались почва и торфонавозная смесь, концентрация глифосата от 200 до 600 мг/кг, образцы термостатированы при 60 °С. *С восьмым замечанием автор согласилась*. *На девятый вопрос автор ответила*, что в работе использовали метод Граббса, который дает возможность контролировать однородность выборки, исключать сомнительные значения. *На десятый вопрос автор пояснила*, что при биотестировании использовали суточную культуру простейших, которая имеет максимальную чувствительность к токсикантам. Биотестирование с резистентными формами тест-культуры не проводилось.

На заседании «26» апреля 2022 года диссертационный совет принял решение за решение научной задачи по разработке научно-методических основ применения простейших животных в качестве тест-систем для определения токсичности пестицидов, имеющей существенное значение для развития биотехнологии присудить Шуваловой Натальи Евгеньевне ученую степень кандидата биологических наук.

Диссертация соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции). По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология по направлениям исследования «Разработка научно-методических основ для применения стандартных биосистем на молекулярном, клеточном, тканевом и организменных уровнях в научных исследованиях, контроле качества и оценке безопасности использования пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмернокосметических биопрепаратов». Результаты работы могут быть рекомендованы для изучения и внедрения в научных и образовательных организациях, а также организациях, занимающихся вопросами безопасности жизнедеятельности и здоровья населения, а именно подведомственным лабораториям Россельхознадзора («Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» - центральная лаборатория и филиалы в разных городах).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 16 докторов наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 16 (шестнадцать), против – нет, недействительных бюллетеней – 1 (один).

Председатель диссертационного совета

Виктор Иванович Панфилов

Ученый секретарь диссертационного совета

Ирина Васильевна Шакир

26.04.2022

