

О Т З Ы В
официального оппонента на диссертационную работу
Шуваловой Натальи Евгеньевны
«Биотехнологические аспекты определения токсичности пестицидов
на клеточных и организменных тест-системах»,
представленную в Диссертационный совет 99.0.027.03
при Российском химико-технологическом университете им. Д. И. Менделеева
на соискание учёной степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.6 Биотехнология

Актуальность избранной темы.

Экономическая ситуация в России, а также внешнеполитические обстоятельства обуславливают необходимость скорейших масштабных мероприятий по повышению интенсивности сельского хозяйства путём широкого внедрения современных технологий выращивания высокопродуктивных сортов растений, в том числе, устойчивых к различным гербицидам. Однако решение задачи обеспечения продовольственной безопасности страны не может осуществляться без учёта требований к безопасности продовольствия. Синтетические биологически активные вещества при их бесконтрольном применении могут нанести существенный отложенный вред здоровью не только нас и наших современников, но и будущих поколений. Положение усугубляется тем обстоятельством, что применение различных химикатов в сельском хозяйстве приобрело комплексный характер. Их сохранение и накопление в почвах и в растительных тканях, их сочетанное воздействие на организмы животных и человека до сих пор исследованы недостаточно. Поэтому особую важность приобрела проблема экспрессного и эффективного анализа интегральной токсичности растительных продуктов и почв. Химические и физико-химические методы анализа до сих пор не позволяют проводить достаточно быструю оценку этого важного параметра. Поэтому в экотоксикологии используют различные методы биологического тестирования – фактически, это единственный путь решения проблемы.

Известно немало работ, обосновывающих применение данной методологии в оценке общей токсичности пищевых продуктов и сырья, различных водоёмов и

стоков, снегового покрова и даже внутренних сред организма человека. Проводились исследования и в области биотестирования почв, однако, к сожалению, широкого применения на практике они не получили. Поэтому диссертационная работа Натальи Евгеньевны Шуваловой представляется актуальной и имеющей как теоретическое, так и важное практическое значение.

Анализ научных положений и выводов.

Выбрав в качестве главного изучаемого повреждающего фактора гербицид широкого спектра действия глифосат, его исследование Наталья Евгеньевна построила на основе комплексного подхода. Биотестовая методология была применена ею на модели тест-системы, состоящей из одноклеточных организмов единственного биологического вида – *Styloynchia mytilus*, на сообществах микроорганизмов различных видов (то есть, на уровне так называемого микрокосма), а также на организмах млекопитающих – как в острых, так и в хронических условиях. Такой подход мы оцениваем как весьма продуманный и удачный, поскольку он даёт возможность, с одной стороны, соотнести эффекты воздействия данного токсичного вещества на различные биологические системы, стоящие на разных уровнях организации, а с другой, изучить его кратковременные и долговременные последствия.

Помимо этого метод оценки токсичности на *Styloynchia mytilus* был использован для исследования других гербицидных препаратов – клопирагида и 2,4-Д. Это позволяет обосновать применение биотестирования с использованием простейших в исследовании биологической активности широкого круга препаратов данной группы.

Особый интерес представляет аспект влияния изученных токсикантов не только в искусственно созданной изолированной модели, но и в условиях различных почв. Известно, что почва для самого широкого спектра поллютантов может выполнять роль своего рода «буферной» системы, которая, с одной стороны, связывает токсичные вещества, способствует их инактивации и деградации, а с другой, в ряде случаев способна депонировать и накапливать их. Экспериментальный материал, освещающий данный вопрос, представленный в диссертационной работе Натальи Евгеньевны Шуваловой, даёт исключительно важный исследовательский инструмент для дальнейшего изучения почв,

почвенных макрокосмов и целых экосистем, подвергающихся систематическому воздействию ядохимикатов. В этом нам видится один из перспективнейших результатов анализируемой работы, который должен представлять интерес для агрохимии, агробиологии, агроэкологии и биотехнологии. В связи с этим вызывает сожаление, что на основании диссертации не было разработано какое-либо методическое руководство или методические рекомендации для широкого использования, хотя автор находится в полушаге от этого. Возможно, на стандартизацию, кодификацию и интеграцию группы подобранных Натальей Евгеньевной Шуваловой методов было бы целесообразно направить усилия в дальнейшем.

В ходе экспериментов Наталье Евгеньевне Шуваловой удалось сделать весьма интересное наблюдение – появление карликовых форм *Styloynchia mytilus* при нахождении под воздействием глифосата в течение 72 часов. Размер таких клеток в 10-15 раз ниже нормы. По нашему мнению, данное явление явно заслуживает отдельного исследования.

Таким образом, усовершенствование известных биотестов, самостоятельно разработанная комплексная схема биотестирования, включающая использование тест-систем различных уровней биологической организации и исследование токсикантов в условиях почвы определили оригинальность исследования и его новизну. Достоверность выводов диссертационной работы также во многом определяется верным выбором методических подходов для решения поставленных задач. Работа выполнена на современном методическом уровне, а экспериментальные данные, полученные на каждом отдельном этапе работы, подвергнуты всестороннему анализу. Таким образом, можно отметить, что методологическая база выполненной диссертации является основательной и информативной, что убеждает в правомерности, обоснованности и достоверности сделанных выводов.

Говоря о научной значимости работы, считаем необходимым подчеркнуть, что в представленной диссертации нам видится не просто усовершенствование и адаптация уже существовавших ранее методик к новым условиям, а весьма важный шаг в развитии концепции биотестирования как метода научного исследования. Научные положения, изложенные в диссертации опубликованы автором в научной

литературе и представлены на нескольких международных и российских конференциях.

Диссертация построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, методического раздела, изложения результатов, их обсуждения, выводов и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 137 страницах, содержит 22 таблицы и 26 рисунков. Список использованных источников состоит из 186 наименований научных работ, значительная часть которых опубликована в зарубежных изданиях, что отражает реально сложившуюся ситуацию в исследованиях подобного рода в мире.

Обзор литературы подробно освещает изучаемые химические вещества, их практическое применение в сельском хозяйстве, пути трансформации в окружающей среде и методы анализа. Также рассмотрены биологические объекты, используемые для постановки биотестовых реакций, и традиционные методические подходы к работе с ними.

Следующий раздел посвящен методам исследований. Как уже указывалось выше, они разнообразны, достаточно информативны и современны. Автору удалось последовательно и четко изложить методологию ведения культур инфузорий в лабораторных условиях, их характеристики, а также методы работы с высшими лабораторными животными. Подробно описаны процедуры пробоподготовки, постановки экспериментов и обработки экспериментальных данных.

Раздел, посвященный результатам собственных исследований, представляется значительным. Все полученные данные глубоко проанализированы. Материалы раздела отражают умение автора творчески оценивать результаты исследований, представлять проблему в комплексном виде и видеть перспективу.

Следует еще раз подчеркнуть, что научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, обладают новизной, являются в полной мере обоснованными и имеют значительную научную и практическую ценность. Их достоверность определяется правильным выбором методических подходов, корректной постановкой экспериментов и правильной обработкой экспериментальных данных.

Замечания.

Высоко оценивая результаты проведенных Натальей Евгеньевной Шуваловой исследований, необходимо сделать некоторые замечания. Дискуссионным представляется использование термина «биоиндикация» по отношению к сугубо биотестовым методикам. Под биоиндикацией принято понимать оценку состояния объектов окружающей среды по состоянию природных видов-биоиндикаторов, постоянно присутствующих в исследуемой экосистеме на протяжении жизненных циклов нескольких поколений. По сути дела биоиндикация представляет собой достаточно специфический вид биотестирования, и переносить это наименование на биотестовые (в узком значении этого слова) методы нам представляется не совсем правильным.

В работе, на наш взгляд, недостаточно обоснован выбор тест-организма *Styloynchia mytilus* для проведения исследований. Существует достаточно широкий спектр видов инфузорий, используемых в биотестировании. У каждого из них имеются как достоинства, так и недостатки, поэтому исследователи имеют возможность выбрать тот или иной, исходя из конкретных задач, условий проведения экспериментов и специфики объектов исследования.

Несколько сомнительной представляется необходимость представления данных о концентрации глифосата в водных вытяжках с точностью до четвёртой значащей цифры в таблице 3.13 (страница 81), в то время как погрешность обнаруживается уже во втором или третьем знаке.

Очевидно, что сделанные замечания носят частный характер и ни в коей степени не влияют на общую положительную оценку обсуждаемой работы.

Заключение. Таким образом, диссертация Натальи Евгеньевны Шуваловой является самостоятельным, законченным исследованием, посвящённым актуальной научной и практической проблеме, и представляет собой научно-квалификационную работу, в которой представлено решение научной задачи, имеющей существенное значение для развития биотехнологии, а также изложены новые научно обоснованные решения, имеющие существенное значение для развития страны.

Всё выше сказанное позволяет заключить, что диссертация Натальи Евгеньевны Шуваловой «Биотехнологические аспекты определения токсичности

пестицидов на клеточных и организменных тест-системах» в полной мере соответствует критериям пп. 9–14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления от 11.09.2021), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, соответствует паспорту специальности 1.5.6 Биотехнология, а автор диссертации Наталья Евгеньевна Шувалова заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология.

Официальный оппонент,

доктор биологических наук по специальности 03.00.23 – биотехнология, ДДН №006798, 07.03.2008, доцент по специальности 03.01.06 биотехнология (в том числе бионанотехнологии), ЗДЦ №000447, 13.10.2014, декан факультета химической и биотехнологии, заведующий кафедрой молекулярной биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»

Виноходов Дмитрий Олегович

Тел. +7-921-643-01-84; e-mail: vinokhodov@list.ru

Полный адрес места работы: 190013, г. Санкт-Петербург,
проспект Московский, дом 24-26/49, литер А, СПбГТИ(ТУ)

Подпись *Дмитрий Олегович*
Начальник отдела кадров

Марковская Н.К.

4.04.2022

