

## ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора биологических наук, профессора Пономарева Всеволода Алексеевича на диссертационную работу Ольковой Анны Сергеевны на тему:

### **«Разработка стратегии биотестирования водных сред с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов»,**

представленную к публичной защите в диссертационный совет Д 212.025.07 при ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биология).

**Актуальность темы исследования.** Диссертация Ольковой Анны Сергеевны посвящена актуальной научной проблеме – повышению информативности и достоверности результатов, получаемых с помощью методов биотестирования. Для этого автором предложена и апробирована стратегия биотестирования водных сред, учитывающая несколько факторов, влияющих на ответные реакции «живых датчиков» – тест-организмов. Важность работы также заключается в безусловной необходимости совершенствования научно-методологической базы биотестирования как современного инструмента принятия многих экологически и социально значимых решений: от присвоения класса опасности отходов до оценки последствий техногенных аварий.

**Научная новизна** работы заключается в подходах, составляющих основу предложенной стратегии биотестирования водных сред, а именно: в научно-обоснованном выборе методов биотестирования, предваряющих экологические исследования с их использованием; проведении комплекса испытаний с использованием *Daphnia magna* для определения целостной картины токсического воздействия вредных веществ – от острых до хронических эффектов; повышении уровня стандартизации тест-организмов.

**Практическая, теоретическая значимость и внедрение результатов исследований.** Исследования, выполненные соискателем, можно считать научной основой многих ценных с практической точки зрения рекомендаций, выполнение которых позволит получать экологически значимые оценки токсичности тестируемых сред. Среди них можно выделить сводные данные по ранжированию чувствительности биотестов к таким токсикантам как тяжелые металлы, минеральные формы азота и фосфора, современные вещества с гербицидными свойствами, нефтепродукты.

Разграничение ситуаций с известным загрязняющим веществом, максимально влияющим на биоту, и неустановленным фактором токсичности – практическая реальность многих экологических изысканий, в ответ на которую автором предлагаются стратегические решения, позволяющие вывести биотестирование на новый уровень. Также обладают потенциалом для внедрения разработки по стандартизации тест-культур согласно критериям ее здоровья.

**Теоретическое значение работы,** на наш взгляд, заключается в систематизации современных научных положений из области методологии биотестирования, обобщающих мировой опыт и дополненных исследованиями самого автора.

**Степень достоверности результатов исследований, положений и заключения.** Защищаемые положения и выводы по итогам работы, обоснованы экспериментальным материалом. Объем опытов и его математическая обработка свидетельствуют о достоверных результатах.

**Общая характеристика, структура и оформление работы.** Рассматриваемая работа включает введение, три главы, заключение и выводы, а также приложения. Список литературы состоит из 419 источников, 147 на иностранных языках. Текст диссертации изложен на 358 страницах, из которых 265 страниц основного текста, количество иллюстраций – 23, таблиц – 60.

**Во введении** (стр.7-16) автор кратко описывает главенствующие методологические подходы биотестирования, выделяя среди них не решенные в полной мере научные проблемы: отсутствие универсального алгоритма определения наиболее подходящих под конкретные цели методов биотестирования, низкий прогнозный потенциал многих биотестов в силу кратковременности испытаний и оценки единичных тест-функций биообъектов, методологическое несовершенство критериев стандартизации тест-культур. Исходя из этого ставится цель и формируются задачи диссертационной работы, описывается научная новизна, теоретическая и практическая значимости полученных результатов, представляются положения и результаты, выносимые на защиту. Перечисляется богатая история апробация результатов исследований.

**Глава 1 «Биотестирование в охране окружающей среды»** (стр. 17-80) – литературный обзор по заявленной теме, который изложен на 64 страницах. Отмечаются основные вехи развития биотестирования, дается резюме современного состояния этой научно-практической области, где более детально можно видеть достижения ученых и «белые пятна» методологии биотестирования. Далее автор в соответствии с темой работы анализирует факторы, влияющие на результаты биотестирования, показывая разнообразием обсуждаемых работ проблемность этой линии исследований. Комплекс указанных факторов разделен на свойства тестируемой среды и ее компонентов, свойства тест-организмов – мишеней действия токсикантов и условия проведения биотестирования. Учет этих параметров прослеживается и в исследовательской части работы, формируя логику, структурированность работы и подчиненность единой цели диссертации.

**Глава 2 «Материалы и методы исследований»** (стр. 81–92) написана кратко с характеристикой примененных методов, методик, оборудования. В материалах исследования отмечено, что работы проводились в нескольких аккредитованных лабораториях и научных центрах с соблюдением высоких требований к качеству анализов и условий проведения испытаний, что, безусловно, важно, когда речь идет об использовании живых организмов, чрезвычайно лабильных в ответ на условия содержания.

**В главе 3 «Разработка и апробация научно-методологической стратегии биотестирования с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов»** (стр. 93-261) приводятся результаты исследований и их обсуждение. В главе прослеживаются три основных направления разработки и апробации новой стратегии биотестирования.

В первую очередь автор предлагает проводить выбор методов биотестирования, тест-организмов и их тест-функций перед широкомасштабными экологическими исследованиями. Это предварительное биотестирование предназначено, согласно защищаемой стратегии, для установления наиболее чувствительных биотестов к загрязнению, преобладающему на определенной территории или свойственному пробам, предполагаемым к дальнейшим анализам. Автором реализован предлагаемый алгоритм выбора биотестов в экспериментах с пробами, загрязненными разнообразными веществами: от легко усваиваемых организмами нитратов и нитритов до ксенобиотиков гербицидов. В результате на примере четырех биотестов показаны

ряды чувствительности *D. magna*, *C. affinis*, *P. caudatum* и *E. coli* ко многим токсикантам. Их можно использовать при выборе биотестов из аналогичного перечня или уточнять по алгоритму, представленному в работе. Отметим, что данный алгоритм отличается универсальностью и простой реализации.

Следующей решаемой научной проблемой работы Анны Сергеевны было выстраивание стратегии биотестирования в тех условиях, когда предварительный целевой выбор биотестов невозможен. Автор объясняет причину этого тем, что в естественных условиях наблюдаются ассоциированное действие веществ, цепные реакции между компонентами водных сред, явления комплексообразования и другие физико-химические процессы, не позволяющие выявить основной фактор токсичности. Предлагаемой стратегией выявления возможных эффектов набора веществ в тестируемой среде является системное биотестирование. В анализируемой диссертации такой подход реализован по спектру тест-функций *Daphnia magna*. Отдельно рассмотрены возможности биотестирования по предстальной реакции дафний – двигательной реакции. Проведено сравнение экспрессности и информативности метода с биотестом по иммобилизации *D. magna*. Показано, что значимые ответные реакции можно зафиксировать спустя 1 час контакта организмов с тестируемой средой.

**Третья часть** исследовательской главы посвящена определению пригодности тест-организмов к биотестированию. Автор указывает на основы современных правил стандартизации культур организмов: определение видовой принадлежности и калибровку к модельному токсиканту. Далее приводятся интересные данные по анкетированию работников лабораторий, использующих методы биотестирования, благодаря чему показано, что использование «откалиброванных» культур не исключает многих системных проблем. Отталкиваясь от позиций факториальной экологии, Ольковой А.С. предложено выявлять показатели здоровья тест-организмов, которые свойственны биологическому виду в конкретных условиях содержания. При работе с культурой *D. magna* автором установлены такие показатели, например, средняя и максимальная продолжительность жизни, удельная плодовитость дафний на одну самку в зависимости от изначальной плотности аквакультуры.

**Раздел «Заключение и выводы»** (стр. 262 – 265) завершает основную часть работы. Выводы отражают решение поставленных задач и представляют научные достижения диссертационной работы. Последовательность изложения выводов еще раз кратко показывает смысловое наполнение стратегии биотестирования – основной научной линии защищаемой работы.

Автореферат отражает содержание диссертации.

#### **Замечания и вопросы.**

Структура диссертации могла бы иметь при том же наполнении больше глав. Это дало бы возможность читателю сразу, при ознакомлении с содержанием, увидеть элементы предлагаемой стратегии биотестирования.

К автору имеются следующие вопросы:

1. Чем обусловлен выбор четырех использованных тест-организмов для получения их рядов чувствительности биотестов к набору токсикантов?

2. Каким образом можно внедрить разработки по стандартизации тест-культур, если в аккредитованных лабораториях сотрудники вынуждены действовать по прописи официальных методик?

Замечание: в диссертации на стр. 203 в таблице 41 складывается впечатление, что автор перепутала характеристики II и III групп токсичности.

**Заключение.** В целом диссертация «Разработка стратегии биотестирования водных сред с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов» по объему выполненных исследований, их качеству, соответствию современным запросам в области экологических наук, новизне и значимости полученных результатов является квалификационным исследованием высокого уровня и полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а Олькова Анна Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук (03.00.09 – энтомология; 16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология), профессор кафедры агрохимии и землеустройства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия имени Д.К. Беляева»

153012, Ивановская область,  
г. Иваново, ул. Советская, д. 45.  
Тел. 8 (4932) 32-81-44,  
e-mail: [rektorat@ivgsha.ru](mailto:rektorat@ivgsha.ru)

Дата 29 октября 2020 г.

Подпись В.А. Пономарева удостоверяю

*Сидорова*  
*Григорьева*

