

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

на диссертационную работу Космачевой Анастасии Геворговны «Фитотоксичность антибиотиков и их влияние на микробиоценоз почвы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

1.5.15 – Экология (биологические науки)

Диссертационная работа Космачевой Анастасии Геворговны на соискание ученой степени кандидата биологических наук посвящена оценке фитотоксичности трех антибиотиков – представителей групп тетрациклических, бета-лактамов, макролидов, а также изучению их влияния на ферментативную активность и таксономическую структуру сообщества прокариотов дерново-подзолистой почвы. Рассмотрены также вопросы совместного воздействия антибиотиков и солей некоторых тяжелых металлов 1 и 2 классов опасности на активность почвенных ферментов и развитие растений в начале онтогенеза.

### **Актуальность избранной темы.**

Актуальность избранной диссертантом темы не вызывает сомнений. Проблема загрязнения окружающей среды антибиотиками имеет много аспектов. Одни из них, например, рост устойчивости к лекарственным противомикробным препаратам среди клинически значимых микроорганизмов или резкое сокращение на рубеже 20 и 21 веков числа вновь открываемых антибиотиков, очевидны и широко освещаются в научной прессе и средствах массовой информации. К их решению в настоящее время привлечено большое количество исследовательских групп и международных колабораций. Гораздо меньшее внимание исследователей сфокусировано на экологических последствиях, которые антибиотики вызывают опосредованно, воздействуя в природе на нецелевые организмы и сообщества в целом. Развитие в работах последних лет представлений об антибиотиках, как соединениях, которые являются не только средством конкурентной борьбы между различными микроорганизмами, но и выполняют другие экосистемные функции – сигнальную, трофическую, коммуникативную и т.д. – дает основание утверждать, что научная проблема, сформулированная в диссертации, а именно – исследование фитотоксичности антибиотиков и их влияния на микробные сообщества почвы – является актуальной и весьма своевременной.

### **Структура и основное содержание работы**

Диссертация состоит из Введения, главы с обзором литературы, главы с описанием объектов и методов исследования, двух глав, содержащих экспериментальные данные, выводов и списка литературы, включающего 221 источник, в том числе 166 на иностранных языках. Большинство цитируемых работ выполнено в течение двух последних десятилетий. Диссертация изложена на 164 страницах, содержит 23 таблицы, 54 рисунка.

Для решения поставленных задач в исследованиях использованы адекватные методы, отвечающие современным требованиям, и позволившие автору получить научные результаты, характеризующиеся определенной новизной и значимостью. По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, включая 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, и соответствующих научной специальности 1.5.15 – экология, по которой представлена к защите диссертационная работа, и 4 работы в изданиях,

включенных в международные базы Scopus и Web of Science. Результаты исследований широко апробированы: 9 докладов на конференциях различного уровня, и получили одобрение ведущих специалистов.

Неоспоримым достоинством работы Анастасии Геворговны является удачное применение для решения поставленных в работе экологических задач весьма современного биоинформационического подхода, основанного на результатах метагеномного анализа почвы с экспериментальным загрязнением различными антибиотиками.

В числе других достоинств рассматриваемой работы следует отметить хорошее знание автором предшествующей экспериментальной разработки проблемы отечественными и зарубежными учеными, литературный язык и грамотность в изложении текста работы.

### Научная новизна работы

В лабораторных модельных экспериментах изучено воздействие водных растворов трех распространенных ветеринарных антибиотиков из разных групп и разных механизмов действия на всхожесть и линейные размеры проростков однодольной и двудольной тест-культур (*Triticum aestivum* и *Lepidium sativum*). Выявлена разной степени достоверная корреляция между концентрациями и токсическими эффектами бензилпенициллина, тилозина и окситетрациклина как в чистом виде, так в двойных и тройных сочетаниях между собой и с солями ТМ.

Установлено изменение фитотоксических свойств дерново-подзолистой почвы в результате ее экспериментального загрязнения теми же антибиотиками из групп тетрациклических, макролидов и бета-лактамов. Показано, что токсические эффекты загрязненной тилозином и окситетрацилином почвы меньше, чем токсические эффекты водных растворов, что связано с высокой сорбционной способностью этих антибиотиков, в отличие от бензилпенициллина, слабо сорбируемого почвой.

Под влиянием загрязнения почвы антибиотиками выявлено, на примере пшеницы, изменение координации роста, обусловленное разницей в поглощении и накоплении антибиотиков отдельными органами растения.

Впервые, с использованием высокопроизводительного секвенирования фрагментов гена 16S рРНК, проведен сравнительный филогенетический анализ прокариотных сообществ почвы, подвергнутой загрязнению исследуемыми антибиотиками. Анализ показателей таксономического богатства не выявил существенной разницы в таксономической структуре, сравнительном обилии и видовом богатстве исходной и обработанной антибиотиками почв. Прокариотное сообщество обработанной тилозином почвы отличалось от такового почвы исходной более высокими значениями ОТЕ, принадлежащих представителям порядка *Pseudomonadales* и более низкими – цианобактериям порядка *Nostocales*. Сокращение доли ридов, принадлежащих ностоковой цианобактерии *Tychonema* обнаружено также в почве, обработанной бензилпенициллином.

Впервые выявлен факт ингибирующего действия тилозина и его сочетания с окситетрациклином на целлюлозолитическую и нитрифицирующую активность серой лесной и дерново-подзолистой почв. Результатами анализа ферментативной активности продемонстрирована более высокая устойчивость к загрязнению антибиотиками серой лесной почвы в сравнении с почвой дерново-подзолистой.

### Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные автором результаты дополняют и расширяют ранее имевшиеся представления о влиянии антибиотиков на нецелевые компоненты биоценоза – растения, на формирование и функционирование бактериальных сообществ почв, загрязненных ветеринарными противомикробными препаратами, служат теоретической основой для разработки экологически чистых агротехнологий и нормативных требований, способных обеспечить устойчивое функционирование почвенной микробной системы.

Результаты проведенных исследований могут быть использованы в экотоксикологической оценке почв, при разработке нормативов ПДК антибиотических препаратов в почвах сельскохозяйственного назначения, а также в учебном процессе при изучении курсов экотоксикологии и экологического мониторинга.

### Обоснованность и достоверность полученных результатов

Представленная А.Г. Космачевой работа характеризуется системностью и комплексностью подхода, исследование выполнено в соответствии с современными методологическими требованиями, что позволяет считать выдвигаемые к защите положения обоснованными. Результаты получены с использованием современных методов, включая молекулярный метод высокопроизводительного секвенирования (NGS, next generation sequencing) фрагментов гена 16S рРНК, для сравнительного изучения филогенетического разнообразия микробных сообществ в почве нативной и подвергнутой обработке растворами трех различных антибиотиков.

Модельные эксперименты проведены в достаточном для решения поставленных задач количестве биологических и аналитических повторений, подвергнуты статистической обработке, ввиду чего достоверность представленных автором сведений сомнений не вызывает. Основные выводы соответствуют поставленным задачам и подтверждены достаточным объемом экспериментальных исследований.

### Личный вклад соискателя

Тема и план диссертации, ее основные идеи и содержание разработаны диссидентанткой совместно с научным руководителем. Представленные экспериментальные и теоретические результаты получены лично автором в период с 2018 по 2021 гг. А.Г. Космачева принимала непосредственное участие в подготовке и проведении экспериментов, обработке и обсуждении полученных результатов, подготовке материалов к публикации.

Замечаний принципиального характера при анализе диссертационной работы не возникло. Следует, однако, отметить некоторые недочеты и досадные упущения.

1. Стр. 115-117 и 119: при изложении результатов метагеномного анализа ранги таксонов указаны не везде верно. Вместо «порядков» автор оперирует понятием «отряды», которое в таксономии бактерий не используется.

2. На рис. 42 и 43 представлены в наглядной форме, в зависимости от обработки почвы антибиотиками, результаты стратификации микробных сообществ двумя различными методами: кластерным и главных компонент. К сожалению, в пояснительном тексте не сказано, почему видимые различия между вариантами на рисунках не совпадают

между собой и на основании каких критериев оценены автором, как статистически незначимые (стр. 119).

3. В таблицах 19-23 приведены значения коэффициентов корреляции Пирсона ( $r$ ) между концентрациями антибиотиков и активностью почвенных ферментов. В таком случае, литер « $r$ » должна, очевидно, означать уровень доверительной вероятности (уровень значимости) к существованию связи между двумя рассматриваемыми переменными, а не доверительный интервал, как указано автором.

4. В структуре отсутствует такой важный раздел диссертации как ЗАКЛЮЧЕНИЕ, который предполагает авторские анализ и обобщение полученных результатов, сравнение их с ранее известными данными. В заключении обычно указывается позиция автора по проблеме, оценка собственного вклада в ее решение, возможные направления дальнейших исследований. Ничего из этого в данной работе, к сожалению, нет.

Отсутствует также список использованных в работе сокращений.

Замечания носят рекомендательный характер и могут быть учтены автором в дальнейшей работе.

### Заключение

Подробное рассмотрение указанных выше результатов исследований А.Г. Космачевой, а также опубликованных ею работ, приводит к заключению, что автором выполнен большой объем исследований, посвященных изучению влияния загрязнения почвы антибиотиками на ее фитотоксичность, структуру и микробное сообщество, ферментативную активность почвы.

Диссертация А.Г. Космачевой является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержатся новые данные для практического нормирования в почве загрязняющих веществ. Она имеет важное значение для развития сельскохозяйственной экологии и токсикологии. Работа выполнена автором самостоятельно, содержит достаточное количество исходных данных, имеет пояснения, таблицы и рисунки. Основные научные выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы и подтверждены фактическим материалом. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации и, как и диссертация, оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011. В публикациях А.Г. Космачевой с достаточной полнотой отражены результаты, приведенные в обсуждаемой работе.

Результаты и выводы проделанной соискателем работы могут быть рекомендованы к использованию в практической деятельности природоохранных организаций и образовательных учреждений, а также производителей препаратов для защиты растений и повышения продуктивности сельскохозяйственных культур.

Таким образом, диссертационная работа А. Г. Космачевой «Фитотоксичность антибиотиков и их влияние на микробиоценоз почвы» 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 кандидата наук, а ее автор – Космачева Анастасия Геворговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15 – экология (биологические науки).

Официальный оппонент,  
доктор биологических наук 1.5.19 – почвоведение, 1.5.11 – микробиология,  
старший научный сотрудник,  
зав. лабораторией биотехнологии растений и микроорганизмов  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока  
имени Н.В. Рудницкого»

Широких  
Ирина Геннадьевна

Адрес: 610007, г. Киров, ул. Ленина, 166а.  
Телефон: 8(8332)33-10-39  
E-mail: [irgenal@mail.ru](mailto:irgenal@mail.ru)

*Собственноручную подпись И.Г. Широких заверяю.*

Зам. директора ФГБНУ Федеральный  
аграрный научный центр Северо-Востока  
имени Н.В. Рудницкого

Г.А. Баталова

20 сентября 2022 г.

