

**ОТЗЫВ**  
официального оппонента на диссертацию  
**Асановой Анастасии Андреевны**  
**«Эколого-биохимическая оценка токсичности окружающей среды,  
загрязненной наноматериалами»,**  
представленную к защите на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук  
по специальности 03.02.08 – экология (биология)

**Актуальность темы.** Мировой рынок наноматериалов с каждым годом стремительно расширяется. Чем активнее внедряются нанотехнологии, тем большее значение приобретают результаты исследований, которые можно использовать для определения мер их безопасности.

Техногенные наночастицы высвобождаются на всех этапах жизни наноматериала и становятся поверхностными контаминантами большинства объектов окружающей среды. Поэтому работа, посвященная оценке влияния распространенных наночастиц на биообъекты, различающихся по уровням биологической организации и средам обитания, является актуальной.

**Цель и задачи исследования**

Целью явилась оценка влияния техногенных наночастиц на окружающую среду по ответным реакциям биологических объектов, различающихся по уровням биологической организации и средам обитания.

Поставленная цель определила следующие задачи:

- установить токсичность наночастиц серебра, двуокиси титана и кремния в аспекте их опасности для окружающей среды и человека;
- оценить чувствительность объектов различной биологической организации и мест обитания на присутствие наночастиц серебра, двуокиси титана и кремния окружающей среде;
- определить влияние размера наночастиц диоксида кремния на оказываемый ими биологический эффект.

**В работе** с позиций методологии анализа токсичности среды и биотестирования, впервые:

- показано, что существует риск гибели живых организмов и снижения активности ферментных систем в результате попадания наночастиц в окружающую среду,

- степень токсичности наночастиц снижается в ряду: серебро, двуокись титана, двуокись кремния;

- впервые доказано отсутствие зависимости ответных реакций тест-объектов на наличие наночастиц в среде от уровня их биологической организации;

- установлено, что организмы, входящие в состав водных экосистем (микроводоросли, рачки), более чувствительны к воздействию наночастиц по сравнению с организмами частично или полностью обитающими в почве (микробиоты, высшие грибы, высшие растения);

- впервые найдено, что наночастицы диоксида кремния размером 100-120 нм обладают более высокой токсичностью, чем частицы размером 10-15 нм.

**Научное значение.** Впервые установлено, что измеренная по 50%-ному ингибированию ростовых функций и химической активности, реакция различных тест-объектов в ответ на воздействие наночастиц не зависела от уровня их биологической организации. Используя широкий набор тест-объектов, впервые найдено, что крупные наночастицы диоксида кремния обладают более высокой токсичностью, чем мелкие.

**Практическая значимость.** Наиболее чувствительными организмами к действию наночастиц являются водные рачки *C. affinis* и микроводоросли *C. vulgaris*, что предполагает целесообразность применения этих биологических объектов в экотоксикологическом мониторинге наноматериалов.

**Положения выносимые на защиту:**

1. Установлено, что наиболее опасными для окружающей среды из исследованных наночастиц, являются наночастицы серебра.

2. Доказано, что токсический эффект наночастиц не зависит от уровня биологической организации тест-объекта и определяется химической природой, концентрацией и размером наночастиц.

3. Выявлено, что водные экосистемы по сравнению с наземными находятся в зоне повышенного риска негативного влияния техногенных наночастиц, попадающих в окружающую среду.

#### **Апробация результатов**

Основные научные и практические результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на научных конференциях и симпозиумах различного уровня. По материалам диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 9 статей размещены в рецензируемых научных изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, распоряжением Минобрнауки России, 4 из которых проиндексированы в мировой базе данных Scopus.

#### **Объём и структура работы**

Диссертация изложена на 158 страницах машинописного текста, включает 45 рисунков и 6 таблиц. Работа состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы. Список литературы содержит 286 наименований работ, 234 из которых на иностранных языках.

#### **Оценка содержания диссертации**

Во введении отражены актуальность, цель и задачи исследований, научная новизна, практическая значимость, положения выносимые на защиту, приведены сведения об апробации, объеме и структуре диссертации.

Глава 1 представляет собой достаточно полный обзор литературы, который включает 3 раздела и объединяет вопросы, поставленные в качестве задач диссертационного исследования. Раздел 1.1. раскрывает мировую проблему попадания наночастиц в окружающую среду и необходимость ее исследования в аспекте опасности для всех видов организмов. Раздел 1.2.

освещает ряд реализованных современных подходов к исследованию токсичности наночастиц. Раздел 1.3. включает широкий обзор мировой литературы о проведенных научных исследованиях токсического влияния наночастиц серебра, двуокиси титана и двуокиси кремния на различные биологические объекты.

Глава 2 посвящена представлению объектов и методов исследования. В разделе 2.1. перечислены объекты исследования с указанием их уровня биологической организации и среды обитания. В разделе 2.2. приведена информация об исследуемых наночастицах и их характеристиках. В разделах 2.1. – 2.4. описаны методы культивирования различных тест-организмов, измерения их ростовых показателей и активности ферментных систем в условиях действия наночастиц. Выбор тест-объектов является обоснованным, методы их культивирования и использования в биотестировании корректные и соответствуют поставленным задачам.

В главе 3.1.-3.3. представлены результаты реакций различных биологических объектов и ферментативных систем на присутствие наночастиц в среде с обсуждением результатов и промежуточными выводами. Показано, что среди многоклеточных организмов самыми чувствительными являются водные рачки *C. affinis*, которые проявляют чувствительность ко всем наночастицам. Овес посевной *A. sativa* также чувствителен ко всем наночастицам, при этом самым чувствительным органом растения является корень. Установлено, что снижение ростовой реакции мицелярной формы организмов происходит только в присутствии наночастиц серебра.

Среди одноклеточных организмов, наибольшую чувствительность к наночастицам проявила одноклеточная зеленая водоросль *C. vulgaris*, ростовая и фотосинтетическая функции снижались в присутствии всех исследуемых наночастиц. В результате учета прорастания конидий микромицета *B. sorokiniana*, было найдено, что наночастицы диоксида титана и кремния в отношении этого объекта фунгицидных свойств не проявляют.

В отношении ферментативных систем установлено, что все исследуемые наночастицы оказали негативное влияние на NADH:FMN-оксидоредуктазу и люциферазу, ингибирующее воздействие на ферментативную систему с трипсином было зафиксировано только в присутствии наночастиц серебра и титана.

Глава 4 представляет собой анализ всех полученных данных с обсуждением полученных результатов и обоснованием заключительных выводов. Так для математического анализа всех полученных в диссертационной работе данных применен ранговый дисперсионный анализ Фридмана. В результате ранжирования по чувствительности тест-объектов показано, что наибольшей чувствительностью из исследуемых организмов к наночастицам являются водные рачки и одноклеточная зеленая водоросль. Интересным фактом является то, что в результате проведения сложного математического анализа выяснилось, что биферментная система аналогично рачкам и одноклеточной водоросли получила высокий средний ранг, что совершенно не было очевидно.

Аналогичный ранговый дисперсионный анализ Фридмана был проведен для сравнения уровней токсического воздействия наночастиц. В результате статистически было доказано, что токсический эффект зависит от типа выбранных частиц, и закономерно снижается в ряду Ag - TiO<sub>2</sub> - SiO<sub>2</sub>.

#### **Общие замечания и вопросы по диссертационной работе**

1) Следует учитывать, что такие соединения, как двуокись титана, двуокись кремния в воде образуют комплексные соединения, поэтому, вероятно, их влияние на организмы, как токсичных соединений, целесообразно рассматривать в данном аспекте.

2) Утверждение о наноразмерных токсических эффектах частиц, будет весомее при сопоставлении результатов с ионными или микроразмерными контролями.

3) Не совсем ясно, какой именно диапазон концентраций был исследован, как готовились коллоидные растворы и контролировалась агрегация частиц.

**Заключение.** Указанные замечания не снижают ценности и значимости проведенных исследований и не влияют на общую положительную оценку работы в целом, они могут быть устранены в процессе защиты.

В условиях отсутствия в литературе в настоящее время единообразия в выборе наночастиц, тест-объектов и условий проведения экспериментов, а, следовательно, и в опубликованных результатах нет установленной зависимости реакций организмов от уровня их биологической организации на действие наночастиц; присутствует ряд противоречий в результатах влияния наночастиц различного размера на показатели тест-организмов и отсутствуют данные об ответных реакциях модельных ферментных систем на наличие наночастиц в среде, диссертационная работа является своевременным и ценным научно-исследовательским трудом для экотоксикологического мониторинга наноразмерных материалов.

Обоснованность названия, цели, научных положений, выводов, сформулированных в диссертации, подтверждается сопоставлением полученных статистических данных и закономерностей с данными других учёных как российских, так и зарубежных.

Установлено, что все функциональные показатели биологических объектов проявляли негативную реакцию на воздействие наночастиц серебра.

Наночастицы диоксида титана способствовали 50%-ному снижению только длины корешка овса посевного и ингибированию биферментной и трехферментной систем.

Присутствие наночастиц диоксида кремния размером 100-120 нм приводило к 50%-ному снижению выживаемости *Ceriodaphnia affinis*, уменьшению прироста и фотосинтетической активности *Chlorella vulgaris* и ингибированию биферментной системы. При воздействии на

фотосинтетический аппарат водоросли отмечался острый негативный эффект. Наночастицы диоксида кремния размером 10-15 нм способствовали снижению выживаемости *Ceriodaphnia affinis* и интенсивности свечения биферментной системы.

Доказано, что измеренная по 50%-ному ингибированию функций ответная реакция на воздействие наночастиц, не завит от уровня биологической организации тест-объектов.

Наиболее чувствительными тест-объектами в данном исследовании оказались представители водных экосистем, что делает их самыми уязвимыми объектами окружающей среды к воздействию наночастиц.

Доказано, что ответная негативная реакция различных тест-организмов на присутствие наночастиц в окружающей среде закономерно снижалась в ряду Ag - TiO<sub>2</sub> - SiO<sub>2</sub>.

Показано, что крупные наночастицы диоксида кремния размером 100-120 нм обладают более высокой токсичностью, по сравнению с наночастицами размером 10-15 нм.

Достоверность полученных данных подтверждается использованием диссертантом в качестве теоретической и методической базы трудов отечественных и зарубежных исследователей, использованием современных и классических методов биотестирования. При анализе материала использованы стандартные статистические методы и пакеты программ.

Содержание автореферата и представленные научные публикации полностью соответствует представленной диссертационной работе. Полученные результаты значительно расширяют представления о реакциях различных биологических объектов в ответ на воздействие наночастиц. Диссертационная работа Асановой Анастасии Андреевны является законченной научно-исследовательской работой. **Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской**

Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. от 02.08.2016г.), предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата биологических наук, а ее автор – Асанова Анастасия Андреевна заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биология).

Данный отзыв составлен профессором кафедры зоологии позвоночных и экологии биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», заведующим лабораторией водной токсикологии НИИ биологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» Дэвардом Иосифовичем Стомом.

Профессор, доктор биологических наук по специальности 03.00.18 – Гидробиология (биология), профессор кафедры зоологии позвоночных и экологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Иркутский государственный университет»  
Адрес: 664003 г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, stomd@mail.ru, т. 8(3952) 24-18-70



Дэвард Иосифович  
Стом

Подпись д.б.н. Д. И. Стома заверяю, специалист отдела кадров ФГБОУ ВО «ИГУ»



В. Н. Разговорова

01.10.2019