

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Малевой Марии Георгиевны

на диссертационную работу Шималиной Надежды Сергеевны
«Сравнительная характеристика *Plantago major* L. из зон
радиоактивного и химического загрязнения», представленную на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.08 – экология

Актуальность темы исследования. Диссертационная работа направлена на сравнительное изучение экологических, генетических и биохимических особенностей подорожника большого (*Plantago major* L.) из зон радиоактивного и химического загрязнения. В качестве модельных полигонов автором были выбраны два района Уральского региона: зона Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС) и зона влияния Карабашского медеплавильного завода (КМЗ). Актуальность выбранной темы не вызывает сомнений, поскольку многие территории в нашей стране и за рубежом подвергаются сильному загрязнению вследствие как штатной работы промышленных предприятий, так и в результате техногенных аварий. Экологические последствия таких воздействий проявляются как минимум в двух аспектах: с одной стороны, токсиканты, попадая в природные экосистемы, воздействуют на живые организмы; с другой стороны, они включаются в биогеохимические циклы и накапливаются в продукции лесного, водного, сельского хозяйства. В результате огромные территории из-за сильного и порой экстремального загрязнения становятся не только непригодными для дальнейшего хозяйственного использования, но и представляют опасность как источники вторичных загрязнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Обоснованность научных положений и выводов определяется значительным объемом фактических данных, полученных автором в результате экспедиционных и лабораторных исследований, с использованием широкого спектра как классических, так и современных методов, включая молекулярно-генетические. Основные выводы в целом согласуются с полученными результатами, а также с опубликованными ранее данными.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации. Достоверность результатов определяется не только достаточной выборкой фактического материала, но и привлечением разнообразных современных методов статистического анализа полученных данных, а также широкой апробацией.

Общий отдел ИЭРиЖ	
УрО, РАН	
Вх. №	394
От	06.11.2020 г.

В результате исследования получен целый ряд новых результатов, представляющих интерес для специалистов:

- 1) Впервые проведено комплексное исследование изменчивости показателей жизнеспособности, радио- и металлоустойчивости семенного потомства *P. major* из близко расположенных зон с разными типами техногенного загрязнения: радиоактивного (ВУРС) и химического (зона влияния КМЗ) в сравнении с фоновыми выборками.
- 2) Впервые изучено состояние про- и антиоксидантных систем у семенного потомства *P. major*, родительские растения которого испытывали хронический радиационный или токсический стресс, в сравнении с фоновыми выборками.
- 3) Впервые выполнен анализ изменчивости микросателлитных локусов в ценопопуляциях *P. major* из зон радиоактивного и химического загрязнения, а также с фоновых территорий.

Таким образом, подобное исследование, позволяющее оценить адаптивный потенциал не только материнских растений *P. major*, но и их семенного потомства, а также степень изменчивости ценопопуляций в зависимости от техногенной нагрузки, проведено впервые.

Теоретическая и практическая значимость исследований.

Диссертационная работа способствует расширению и углублению представлений о влиянии радиоактивного и химического загрязнений окружающей среды на генеративное воспроизводство, особенности функционирования антиоксидантных систем и генетическое разнообразие растений. Результаты работы могут быть использованы при проведении мониторинговых исследований популяций растений в зонах техногенных загрязнений. Полученные данные вносят вклад в создание научной основы для разработки отечественных и международных нормативных документов в области экологической безопасности, а также рекомендаций о возможности практического использования загрязненных территорий.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Полученные результаты углубляют представления о механизмах адаптации и акклимации у *P. major* и могут быть востребованы для совершенствования биотехнологий, направленных на повышение устойчивости растений к ионизирующему излучению и тяжелым металлам. Материалы исследований целесообразно использовать в учебном процессе в высших учебных заведениях биологического профиля при изучении студентами не только радиоэкологии и радиобиологии, но и в общем курсе экологии, а также экологической физиологии растений.

Анализ содержания диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 6-ти глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы (включающего 364 источника, из них 206 на иностранном языке) и приложения. Изложена на 139 страницах, основной текст включает 23 рисунка, 9 таблиц, в приложении помещена 1 таблица.

Во введении (с. 5–10) обоснована актуальность заявленной темы, показана степень разработанности проблемы, поставлены цель и задачи исследования, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, сформулированы защищаемые положения, достоверность и апробация результатов, личный вклад автора. На протяжении всего периода выполнения исследований автор принимала активное участие в работе всероссийских и международных конференций, что позволило обеспечить надежную апробацию основных результатов диссертационной работы. Отмечено, что диссертантка участвовала в экспедиционных работах по сбору полевого материала, в планировании и проведении лабораторных исследований. Автором выполнена также вся математическая обработка фактического материала. Проводимые исследования были поддержаны грантом Российского фонда фундаментальных исследований, что свидетельствует об актуальности заявленной тематики.

Публикации. Основные результаты и выводы, полученные при выполнении диссертации, отражены в печати. По материалам исследований опубликовано 10 научных работ, в том числе 4 – в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ и индексируемых WoS.

По разделу имеются небольшие замечания:

- 1) Встречаются нарушения хронологического порядка цитируемых ссылок (с. 5, 6).
- 2) При презентации данных рекомендую использовать современное официальное название предприятия – Карабашский медеплавильный комбинат (АО «Карабашмедь», КМК), а не историческое.
- 3) В Методологии и методах исследования фраза: «Участки в зонах располагались на разном удалении от источников загрязнения с учетом градиента» звучит незавершенно.

Первая глава диссертации (с. 11–42) представляет собой анализ отечественных и зарубежных исследований, посвященных проблеме загрязнения окружающей среды радионуклидами и тяжелыми металлами, а также действия этих факторов на биоту на разных уровнях ее организации. Особое внимание уделено влиянию ионизирующих излучений и тяжелых

металлов на качество семенного потомства и рост растений, а также на индукцию окислительного стресса у растений в результате действия этих факторов. Рассмотрены также особенности влияния радиоактивного и химического загрязнения на изменчивость генетической структуры природных популяций растений.

В целом автором продемонстрированы глубокое знание научной литературы по теме диссертации и достаточно высокая осведомленность о результатах эколого-физиологических исследований других авторов, которые отражены в доступных библиографических источниках. Особо следует отметить, что глава завершается кратким резюме, логично подводящим итог проведенному анализу.

По главе имеются небольшие замечания:

- 1) Используемое автором (неоднократно) выражение «в сочетанном действии» не является общепринятым и вызывает некоторую сложность восприятия. Рекомендуется использовать более «классические» варианты, например, «совместное действие» и др.
- 2) Встречаются неоднократно нарушения хронологического порядка цитируемых ссылок (с. 14, 15, 18, 27, 33 и т.д.).
- 3) На с. 16, при перечислении металлов, автор относит к ним мышьяк, который является все-таки не совсем металлом, а металлоидом; кроме того, не очень понятно, почему ионная форма указана только для этого элемента? Там же, ниже, кальций отнесен к тяжелым металлам, хотя он таковым не является.
- 4) Не очень корректным представляется использование латинской аббревиатуры малонового диальдегида (MDA) и ферментов-антиоксидантов – супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CAT), и пероксидазы (POX), при том, что в иных случаях использована русская (например, ТМ – тяжелые металлы, АФК – активные формы кислорода, НМАО – низкомолекулярные антиоксиданты и пр.).
- 5) Также не очень корректным является упоминание пероксидазы в единственном числе во втором абзаце на с. 21, поскольку это целое семейство ферментов, различающихся донорами электронов.
- 6) Ссылка на Фазлиеву и др., 2012 (с. 21) ошибочно приведена не в том месте (должна быть ниже), поскольку эта группа авторов занималась исследованиями влияния на растения не ионизирующего излучения, а тяжелых металлов (в частности, в цитируемой работе – меди).
- 7) В резюме на с. 41 автор пишет, что тяжелые металлы могут вызывать «нарушение про- и антиоксидантного статуса», что является не очень корректным. Следовало бы заменить на «баланс».

Вторая глава (с. 42–51) представляет собой подробную характеристику зон радиоактивного и химического загрязнений. Показаны карты-схемы районов исследования и приведены географические координаты выбранных участков вместе с их описанием.

По главе имеются небольшие замечания:

- 1) В разделе 2.5 нет четкого обоснования выбора фоновых площадок, а также критериев их деления на основные и дополнительные.
- 2) При описании участков фон-1 и фон-2 отсутствуют ссылки на карту-схему (на рис. 2.1), приведенную в другом подразделе. На мой взгляд, было бы корректнее показать все фоновые участки на одной карте вместе.
- 3) Отсутствует логика в обозначении опытных и фоновых площадок. Нумерация опытных участков обозначает расстояние от предприятия, тогда как нумерация фоновых, по-видимому, просто сквозная.

Третья глава (с. 52–60) посвящена подробному описанию объекта и методов исследования. В основу работы положены как классические, так и современные методы. Подробно описаны все этапы отбора проб и экспериментального анализа. Содержание этой главы отражает значительный объем выполненной научной работы с использованием комплексного подхода, включающего цитохимические, эколого-физиологические, биохимические и молекулярно-генетические исследования. Положительным моментом является также использование современных методов математической статистики (корреляционный, дисперсионный, кластерный анализы), что позволило упорядочить и проанализировать большой массив полученных данных.

По главе имеются несколько небольших замечаний и вопросов:

- 1) В описании достаточно стандартного метода спектрофотометрического измерения продуктов ПОЛ по количеству малонового диальдегида и других ТБК-реагирующих продуктов (исходно Health & Packer, 1968) указана только одна длина волны (532 нм). В классической методике дополнительно в каждом случае проводят измерение неспецифического поглощения при 600 нм, которое потом вычитают из общего результата. Возникает вопрос, учитывала ли автор это при расчетах полученных данных?
- 2) Расшифровка аббревиатуры ТБК (тиобарбитуровая кислота) отсутствует как в самом разделе, так и в списке сокращений, приведенных на с. 107.
- 3) В подразделе 3.2.3 рекомендуется уточнить, к какому типу пероксидаз относится фермент, активность которого измерялась в

процессе работы; а также, какие именно низкомолекулярные антиоксиданты в целом были измерены (фенольные соединения?).

- 4) Не совсем понятно, как проводился расчет активности каталазы и пероксидазы – с учетом коэффициентов экстинкции? Желательно их указывать при описании методик.
- 5) Для более точной оценки и сопоставления полученных экспериментальных данных было бы целесообразно использовать семена, собранные не только за один вегетационный период (2015 год), но, по крайней мере, за 2–3 года, поскольку, как сам автор отмечает в дальнейшем, флуктуирующие погодные условия оказывают существенное влияние на природные экосистемы.

В четвертой, пятой и шестой главах (с. 61–103) представлено обсуждение результатов исследования.

Глава 4 посвящена изучению влияния техногенных нагрузок на качество семенного потомства *P. major* из разных зон. Проведена оценка источников и уровней загрязнения почв на реперных участках и расчет техногенных нагрузок на материнские растения *P. major* в локальных местообитаниях. Исследованы всхожесть семян и выживаемость проростков подорожника, а также их ростовые характеристики. Проанализированы данные по индивидуальной изменчивости проростков внутри каждой ценопопуляции (внутрипопуляционная изменчивость). Проведена оценка изменчивости радио- и металлоустойчивости семенного потомства из зон радиоактивного и химического загрязнения. Сделан вывод о том, что в целом семенное потомство *P. major* из зон ВУРСа и КМЗ не различалось по радио- и металлоустойчивости.

По главе имеются несколько небольших замечаний и вопросов:

- 1) Известно, что почвы вблизи Карабашского медеплавильного комбината сильно загрязнены и другими тяжелыми металлами, в том числе Fe, Ni, Mn, Cr, Co и пр. На чем основан выбор только 4-х металлов (Cu, Cd, Pb, Zn) для расчета индекса суммарной токсической нагрузки?
- 2) Неясно, правильно ли указаны формулы расчета коэффициентов биоаккумуляции и транслокации на с. 63 (в скобках) или это опечатка? Коэффициент биоаккумуляции обычно рассчитывают, как отношение содержание металла в тканях растений к эквивалентному содержанию в почве ($C_{\text{корень}}/C_{\text{почва}}$), в то время как транслокации – как отношение содержания металла в надземной биомассе к подземной ($C_{\text{листья}}/C_{\text{корни}}$).
- 3) Допущены некоторые опечатки и неточности: на с. 63, 64, 75, 77 и пр.
- 4) В таблице 4.3. не указаны единицы измерения.

- 5) Не очень понятно, с чем связана, отмеченная «парадоксальная» ответная реакция семенного потомства в выборках Фон-1 и КМЗ-1 на предпосевное облучение семян дозой 400 Гр?

Глава 5 посвящена оценке про- и антиоксидантного статуса проростков *P. major* из разных зон. Представлены данные по содержанию малонового диальдегида, активности ферментов-антиоксидантов (супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы) и суммарному содержанию низкомолекулярных антиоксидантов. Установлены различия про- и антиоксидантного статуса семенного потомства *P. major* из зон с разным типом техногенного воздействия.

По главе имеются несколько небольших замечаний и вопросов:

- 1) Автор исключает из сравнения участок фон-1 из-за его неоднородности, однако, на мой взгляд, это не очень логично, поскольку этот же момент был отмечен и ранее (в Главе 4), при изучении жизнеспособности семенного потомства подорожника, где этот участок приводится для сравнения. Было бы логичнее совсем не использовать данную выборку в работе, поскольку, исходя из общих данных, она получается не совсем «фоновая». Кроме того, в диссертации написано, что «выявленные особенности не связаны с содержанием токсикантов в среде обитания», однако не уточняется каких именно (данные не приведены). Возможно, что на данном участке просто не были учтены какие-то стрессовые факторы.
- 2) Заголовок подраздела 5.1 сформулирован не очень корректно – было бы логичнее сначала написать про интенсивность «процессов перекисного окисления липидов», а уж потом про работу «систем антиоксидантной защиты».
- 3) В заголовке подраздела 5.2 опечатка (соответственно, она попала и в Оглавление, с. 2).

Глава 6 посвящена оценке генетического разнообразия в ценопопуляциях *P. major* из разных зон. Сформулирована гипотеза, что изменчивость SSR-локусов у *P. major* в условиях радиоактивного загрязнения будет выше по сравнению с фоновыми ценопопуляциями; в то же время в зоне химического загрязнения она будет снижена, поскольку длительный токсический стресс приводит к элиминации чувствительных организмов и затрудняет прорастание неадаптированных семян, заносимых с других территорий. Полученные результаты подтвердили эту гипотезу лишь частично: снижение генетического разнообразия было обнаружено в обеих зонах техногенного воздействия (ВУРС и КМЗ). Авторы достаточно убедительно объясняют полученные результаты.

Есть несколько небольших замечаний:

- 1) Есть опечатка на с. 94.
- 2) На с. 101 и 102 (в подписи к Рисунку 6.3) написание «ФОН» заглавными буквами наряду с аббревиатурами ВУРС и КМЗ представляется не очень корректным, поскольку не является аббревиатурой.

Основная часть диссертационной работы завершается кратким заключением, представленным в основном обобщающей таблицей данных, позволяющей сопоставить биологические эффекты, наблюдаемые у семенного потомства *P. major* из зон с различным техногенным загрязнением. Сформулировано шесть конкретных выводов, которые в целом обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

По данным разделам есть несколько небольших замечаний:

- 1) В таблице присутствуют опечатки.
- 2) Согласно общепринятым правилам, выводы должны полностью соответствовать поставленным задачам, но у автора решение задачи 1 совсем не отражено в выводах.
- 3) При презентации данных рекомендую изменить последовательность изложения выводов 3 и 4.

Список сокращений и условных обозначений было бы логичнее привести в начале, а не в конце диссертации.

Библиографический список включает 364 источника, из которых 206 – изданы за рубежом. Автором охвачен широкий спектр научной литературы по теме исследований, как классической, так и современной: более 43% источников изданы за последние 10 лет.

Подводя итог, хочется отметить, что диссертационная работа Шималиной Н. С. представляет собой интересное, оригинальное и многоплановое исследование, основанное на анализе достаточного количества фактических данных, полученных в результате экспедиционных и лабораторных исследований. Достоверность результатов и обоснованность выводов подтверждается репрезентативным объемом выборки и статистической обработкой полученных данных с использованием современных методов анализа. Отмеченные небольшие недочеты не снижают ее общей ценности.

Структура и основные положения автореферата Шималиной Н. С. соответствуют структуре и содержанию диссертационной работы.

Заключение по диссертационной работе:

Диссертация Шималиной Н. С. является завершенной самостоятельной научно-квалификационной работой, направленной на решение важнейших

механизмов, обеспечивающих сохранение ценопопуляций при разных типах техногенного воздействия. Диссертационная работа имеет научную и практическую значимость и соответствует требованиям пп. 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», принятого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор, Шималина Надежда Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

Официальный оппонент:

Малева Мария Георгиевна,
кандидат биологических наук
(специальность 03.00.12 – физиология и биохимия растений),
доцент,
доцент кафедры экспериментальной
биологии и биотехнологий,
Институт естественных наук и математики

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Уральский федеральный университет
имени первого Президента России Б.Н.Ельцина»
620002 г. Екатеринбург, ул. Мира, 19
+7(912)2487726
maria.maleva@urfu.ru



 /М.Г. Малева
(ПОДПИСЬ)

05.11.2020

*Подпись Малева М.Г.
устанавливаю все Юшакова Т.И.*