

О Т З Ы В
официального оппонента на диссертационную работу
ОЗНОБИХИНОЙ АНАСТАСИИ ОЛЕГОВНЫ
“Оценка параметров жизнедеятельности фитомелиорантов и клубеньковых бактерий на
выщелоченном черноземе при загрязнении тяжелыми металлами”, представленную
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.08 – Экология (биология)

Диссертационная работа А.О. Ознобихиной посвящена поиску экологичных, безопасных и рентабельных методов и приемов очистки почв от поллютантов техногенной природы. Среди них особую роль играют тяжелые металлы (ТМ) – стойкие загрязнители, характеризующиеся высоким уровнем токсичности по отношению к живым организмам и способностью на длительный период времени аккумулироваться и сохраняться в почвах. Включение ТМ в трофические цепи ведет не только к повреждению и гибели живых организмов, но и к последовательному разрушению, вплоть до полного уничтожения, наземных и водных экосистем. В связи с этим актуальным является поиск эффективных методов и технологий, позволяющих с минимальными затратами восстанавливать почвы при их загрязнении ТМ. В этом плане представленная к защите диссертационная работа А.О. Ознобихиной несомненно имеет значительный теоретический и практический интерес, поскольку раскрывает специфику и особенности влияния наиболее токсичных в ряду тяжелых металлов элементов – Cd, Pb, Cu и Zn на всхожесть семян, рост и развитие бобовых растений и их симбионтов, аккумуляцию ТМ растениями на примере двух видов полевых культур – донника желтого и люцерны посевной. Важной стороной проведенных автором исследований является применение комплексного подхода с привлечением лабораторных и вегетационно-полевых экспериментов для получения широкого спектра данных, позволяющих оценить возможность применения культурных растений в качестве фитомелиорантов и местных видов минерального сырья – глауконита, цеолита, диатомита в качестве природных сорбентов для окультуривания и ремедиации загрязненных ТМ черноземов.

Степень новизны научных результатов и выводов диссертанта очевидна. Ознобихиной А.О. представлен детальный анализ содержания в почвах региона подвижных форм ТМ. Показано, что фоновое содержание ТМ в пахотных почвах Тюменской области (Pb – 0,64, Zn – 1,10, Cu – 0,17, Cd – 0,037 мг/кг) на порядок ниже регламентированных значений ПДК/ОДК. Автором выполнены уникальные лабораторные и вегетационно-полевые опыты, которые позволили выявить влияние различных доз солей Pb, Zn, Zn и Cd на энергию прорастания и лабораторную всхожесть семян донника желтого и люцерны посевной – перспективных фитомелиорантов, выявить пороговые и летальные дозы ТМ для клубеньковых бактерий – их симбионтов. Автором получены новые данные о формировании и развитии фитомассы бобовых растений в условиях загрязнения почв ТМ (6-10 ПДК), их влияния на поступление и аккумуляцию ТМ в ткани растений и развитие клубеньковых бактерий. Автором показана возможность использования кремнийсодержащих минералов (глауконита, диатомита, цеолита) в качестве природных сорбентов для целей биоремедиации почв, загрязненных ТМ, установлена их роль в снижении подвижности ТМ в почвах, выявлена специфика их влияния на рост и развитие растений, аккумуляцию в растениях ТМ, жизнедеятельность клубеньковых бактерий, в т.ч. в условиях последействия.

Теоретическая и практическая значимость исследования связана с расширением представлений о фитомелиоративных особенностях двух видов культурных растений – донника желтого и люцерны посевной. Автором показана перспективность инокуляции семян фитомелиорантов бактериальными препаратами (штаммами бактерий *Rhizobium*

meliloti) в сочетании с внесением природных сорбентов (глауконита, диатомита, цеолита) для целей фитобиоремедиации загрязненных ТМ черноземов выщелоченных. Полученные автором результаты существенно расширяют и дополняют современные научные подходы к восстановлению плодородия почв, их окультуривания и фитобиоремедиации.

Практическое использование результатов проведенных автором исследований связано с разработкой рекомендаций для проведения биологической рекультивации черноземов выщелоченных в биоклиматических условиях южной лесостепной зоны, учитывающих нормы высеяния бобовых культур (донник желтый, люцерна посевная), нормы внесения симбиотических штаммов бактерий *Rhizobium meliloti* (биопрепарат «Ризоторфин»), нормы внесения сорбентов (диатомит, глауконит) при необходимости восстановления почв, загрязненных кадмием, свинцом или цинком.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе, обеспечены значительным объемом экспериментального материала, полученного на основе применения классических методов растениеводства, почвоведения и почвенной микробиологии, проведения лабораторных и полевых экспериментов, использования инструментальных методов анализа почв, применения статистических методов обработки полученных массивов данных. Защищаемые положения и выводы диссертации соответствуют цели и задачам работы, они надежно обоснованы значительным объемом фактического материала, расчетами и детальным анализом результатов физико-химических исследований образцов почв и растений, морфометрических параметров тестовых культур растений, параметров жизнедеятельности клубеньковых бактерий, энергии прорастания семян и численности колоний двух штаммов *Rhizobium meliloti*. Результаты работы апробированы автором на всероссийских и международных научных конференциях. Основные результаты диссертационного исследования представлены в 12 печатных работах, шесть из которых опубликованы в изданиях из Перечня российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК (3 статьи), и индексируемых в базе данных Scopus (3 статьи). Полученные диссидентом данные используются в учебном процессе ФГБОУ «Тюменский индустриальный университет» при подготовке бакалавров по дисциплинам «Экология» и «Науки о земле». Подготовленные автором рекомендации могут найти свое применение при планировании и проведении рекультивационных мероприятий на территории лесостепной зоны.

Диссертация изложена на 154 страницах, состоит из введения, шести глав, заключения, списка литературы и приложения (на 37 страницах). Список литературы включает 184 источника, в т.ч. 7 зарубежных публикаций. Работа проиллюстрирована 29 рисунками, содержит 14 таблиц, не считая рисунков и таблиц, представленных в приложении. Структура диссертации традиционна и соответствует требованиям, предъявляемым к содержанию и оформлению кандидатских диссертаций.

Личный вклад автора определяется непосредственным участием в проведении лабораторных и вегетационно-полевых исследований, постановке дизайна экспериментов, получении, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке материалов к публикациям, написании диссертационной работы.

Все изложенное выше позволяет положительно оценить работу, выполненную диссидентом. В тоже время к диссертационной работе Ознобихиной А.О. есть ряд вопросов и замечаний:

1. При первом упоминании латинских названий растений и микроорганизмов отсутствуют авторские знаки, например, на стр. 6 автор приводит названия донника желтого (*Melilotus officinalis*) и люцерны посевной (*Medicago sativa*), должно быть *Melilotus*

officinalis (L.) Pall., *Medicago sativa* L. То же самое относится к первому упоминанию видового названия клубеньковых бактерий – *Rhizobium meliloti* (стр.31).

2. По тексту диссертации имеются нарушения в правилах оформления ссылок на публикации и их библиографическом описании. Например, автор приводит ссылки с указанием имени, отчества (Пындач В.И, Новиков А.Е., 2015) (стр. 26); (Г.Ф. Лакин, 1990; ... Г.С. Посыпанов, 1991) (стр. 47); в списке литературе неправильно оформлены библиографические описания цитируемых работ с числом авторов более трех.

3. На стр. 41-42 диссертационной работы автор обосновал выбор для эксперимента солей ТМ – сульфатов меди и цинка, нитратов свинца и кадмия тем, что сульфаты цинка и меди используют в качестве удобрений в растениеводстве, а нитраты имеют положительный эффект на почвенную биоту и растения, при этом указанные соли проявляют аналогичное геохимическое поведение. Однако анионные остатки солей (SO_4^{2-} и NO_3^-) все-таки существенно отличаются по своему воздействию на растительные организмы: нитраты – источник азота, необходимого для роста и развития растений; сульфаты – им не являются. В связи с этим для подобного рода экспериментов логичнее подбирать соли с одним типом анионного остатка. В данном случае можно было бы рекомендовать использовать соли азотной кислоты или соли уксусной кислоты. Нитраты всех рассмотренных металлов (Pb , Cd , Zn , Cu), равно как и все их ацетаты, хорошо растворимы в воде. В этом случае различный биологический эффект анионного остатка в отношении прорастания семян, роста и развития растений, развития клубеньковых бактерий был бы полностью исключен.

4. В таблице 2 (стр. 37) необходимо было указать, что содержание Zn , Cu , Pb , Cd – это содержание их подвижных форм.

5. В работе автор ссылается на гигиенические нормативы ГН 2.1.7.2041-06 и ГН 2.1.7.2042-06. Эти нормативные документы в настоящее время упразднены, вместо них 28.01.2021 г. утверждены новые санитарные правила и нормы – СанПин 1.2.3685-21 "Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания".

6. Автором детально проработана отечественная научная литература по проблематике диссертационной работы, чего, к сожалению, нельзя сказать о зарубежных рецензируемых изданиях: из приведенных в списке литературы 184 источников только 7 работ – это статьи на английском языке, из которых только 3 статьи опубликованы в рецензируемых журналах за последние годы.

7. При описании методики закладки и проведения вегетационно-полевых исследований (стр. 36) необходимо дать более детально характеристику опытного участка – общую площадь участка, наличие уклона в рельефе (поскольку автор при описании отмечает, что это «равнина с... увалами...»), общую площадь участка, отведенного под размещение вегетационных сосудов, их высоту, глубину, на которую осуществляли заглубление вегетационных сосудов в пахотный горизонт, расстояние между сосудами?

8. В разделе 2.4.3 необходимо указать, каким конкретно экстрагентом извлекали подвижные формы ТМ из образцов почв, поскольку в «Методических указания..., 1992», на которые автор ссылается (стр. 47), отмечено, что «Подвижные формы металлов извлекаются различными экстрагентами в зависимости от типа исследуемых почв и свойств металла. ... рекомендуется использовать 1M HNO_3 или 1M HCl и ацетатно-аммонийный буферный раствор с $\text{pH} 4,8$ ».

9. Какие сорта донника желтого и люцерны посевной использовали в качестве тест-культур при проведении лабораторных экспериментов? Этот вопрос важен, поскольку в настоящее время выведено и внедрено в практику значительное количество райони-

рованных сортов этих видов, которые отличаются по своим характеристикам и устойчивости к условиям среды.

10. В таблице 2 (стр. 37) приведена агрохимическая характеристика почвы опытного участка. Что представляют из себя эти данные? Это результат анализа усредненного образца пахотного горизонта, который был отобран и использован автором для проведения вегетационного эксперимента – для заполнения вегетационных сосудов? Или это результаты исследования пахотного горизонта опорного разреза, описание которого приведено на стр. 36?

11. В разделе 2.4.3. на стр. 46 указано, что норма посева семян в вегетационные сосуды – 25 семян на сосуд, ниже отмечено, что в период прорастания семян их количество доводили до 14 штук на один сосуд. Это означает, что избыточное количество проростков удаляли из системы? Какова была реальная всхожесть семян люцерны и донника в этих условиях? Оказалось ли внесение в систему ТМ влияние на всхожесть семян тест-культур в вегетационно-полевом опыте? Наблюдалось ли в последующем (на второй и третий год развития растений) выпадение (отмирание) отдельных особей в вегетационном сосуде по каким-либо причинам?

12. На стр. 66 автор отмечает, что низкий уровень аккумуляции меди растениями донника и люцерны, и соответственно отсутствие выраженного влияния загрязнения почвы этим элементом на размеры фитомассы обусловлены рядом причин – низкой исходной концентрацией меди в почве опытного участка, способностью элемента связываться гумусом почвы, и тем, что медь относится к элементам с барьерным типом поглощения растениями. Какими тогда механизмами можно объяснить отсутствие такого же выраженного влияния на рост и развитие модельных растений при внесении в почву цинка, по сравнению с вариантами опыта, в которых осуществляли загрязнение почв кадмием и свинцом, на фоне значительной аккумуляции растениями этого элемента?

13. Какими механизмами, с точки зрения жизнедеятельности и функционирования клубеньковых бактерий *Rhizobium meliloti*, или специфики строения и свойств химического элемента, можно объяснить выраженный токсический эффект малых доз (0.01 и 0.1 %) тяжелых металлов Cu, Pb, Cd, и его отсутствие – при загрязнении среды цинком (по данным лабораторного опыта)?

14. По данным, приведенным в табл. 8 (стр. 78), четко прослеживается отсутствие негативного воздействия на развитие клубеньковых бактерий при внесении Zn и Cu в почву вегетационных сосудов, в отличие от аналогичных вариантов опыта с Pb и Cd, где четко выражено снижение количества клубеньков на корнях донника и люцерны по сравнению с контролем (фон + ризоторфин). Чем можно объяснить отсутствие токсического эффекта меди в вегетационном опыте, хотя при проведении лабораторного опыта подавление жизнедеятельности клубеньковых бактерий наблюдалось во всех диапазонах концентраций вносимой соли – сульфата меди?

15. Оценивали ли в образцах почв содержание валовых форм тяжелых металлов и определяли ли содержание тяжелых металлов в корнях растений? Если нет, то по какой причине? Оценка в почвах вегетационного опыта содержания валовых форм тяжелых металлов и их содержания в корнях растений позволила бы выйти на балансовые расчеты поведения тяжелых металлов в системе «почва – растения» с оценкой доли элементов, «закрепляющихся» в почве и переходящих в так называемую «связанную» форму; доли элементов, выносимых с растительной продукцией; доли элементов, удаляемых из системы с внутрипрофильными миграционными потоками.

Отмеченные недостатки не снижают высокой положительной оценки диссертации Ознобихиной Анастасии Олеговны и не затрагивают как существа работы, так и ее выводов.

Представленная к защите диссертационная работа является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором на высоком научном уровне. Работа содержит значительный массив новых данных, важных как для экологии, так и для растениеводства и почвоведения, написана хорошим литературным языком. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения экспериментально обоснованы. В 12 печатных работах, опубликованных автором, в том числе в журналах ВАК (3 статьи) и публикациях, индексируемых в международной базе Scopus (3 статьи), полноценно отражены материалы диссертации. Автореферат соответствует содержанию диссертации. Диссертационная работа "Оценка параметров жизнедеятельности фитомелиорантов и клубеньковых бактерий на выщелоченном черноземе при загрязнении тяжелыми металлами" отвечает критериям, установленным в п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Ознобихина Анастасия Олеговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

Институт биологии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии наук
– обособленное подразделение Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
Федеральный исследовательский центр
«Коми научный центр Уральского отделения
Российской академии наук»

Лаптева Елена Морисовна,
доцент, кандидат биологических наук
заведующая отделом почвоведения

167982, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,
Телефон рабочий: 8(8212)24-51-15,
Телефон сотовый: 89121447020

lapteva@ib.komisc.ru
elena.lapteva.60@mail.ru

Лаптева

22 февраля 2022 г.

