

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор
Московского государственного
университета имени М. В. Ломоносова
профессор А.А. Федянин



2021 г.

О Т З Ы В

ведущей организации - Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» на диссертацию **РЫБАК** **Анны** **Викторовны** «Анализ сочетанного действия радиационного и химического факторов на популяцию дождевых червей семейства *Lumbricidae*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 Радиобиология.

Актуальность исследования

Диссертация Рыбак А.В. направлена на решение одной из актуальных задач радиоэкологических исследований – изучение биологических эффектов и раскрытие механизмов адаптации почвенных беспозвоночных, среда обитания которых длительное время загрязнена радионуклидами природного происхождения и тяжелыми металлами. В связи с увеличением техногенного влияния на окружающую среду оценка состояния наземных экосистем и прогнозирование последствий антропогенной нагрузки является важной задачей. Почва – важнейший компонент биогеоценоза, а объект диссертационного исследования – дождевые черви сем. *Lumbricidae* – одна из значимых таксономических групп почвенной фауны, участвующая в круговороте органического вещества в наземных экосистемах. Разнообразие экологических условий и возможное нивелирование или потенцирование реакции организмов природных популяций по сравнению с лабораторными экспериментами при действии только одного стрессора затрудняют изучение отклика биологических систем на антропогенное воздействие и установление причинно-следственной связи между действующим фактором и регистрируемым эффектом. Несмотря на значительное количество публикаций о

влиянии на дождевых червей тяжёлых металлов, в том числе кадмия, данных о совместном действии тяжёлых естественных радионуклидов и металлов на этих беспозвоночных в научной литературе крайне мало. Также отсутствует информация о приспособительных механизмах, реализующихся в природных экосистемах и позволяющих популяции сем. Lumbricidae устойчиво существовать в почве, загрязнённой радионуклидами и тяжёлыми металлами, сохраняя тем самым биологическое разнообразие нарушенной территории. В связи с этим особенно важно изучить влияние сочетанного действия радиационного и химического факторов на дождевых червей как на молекулярно-клеточном уровне, так и на уровне отдельных организмов и популяции в целом. Такой комплексный подход позволит выявить механизмы адаптации почвенных беспозвоночных, обитающих в условиях повышенного радиационного фона и химического загрязнения почвы, и оценить возможность негативных последствий антропогенного воздействия для популяции сем. Lumbricidae и всей экосистемы.

Диссертационная работа содержит научно обоснованные экспериментальные результаты по изучению биологических эффектов низкоинтенсивного воздействия радиационного и химического факторов у дождевых червей семейства Lumbricidae из природной популяции.

Тема диссертации полностью соответствует паспорту заявленной научной специальности – 1.5.1 Радиобиология, охватывающей основы действия излучений на ДНК и репарации лучевых повреждений (п. 4), радиоэкологии (п. 9), принципы и методы радиационного мониторинга (п. 10), отдалённые последствия действия излучений, хроническое действие радиации и особенности биологического действия малых доз радиации (п. 11).

Цель работы и задачи исследования сформулированы четко и грамотно, работа выполнена в рамках заданной темы. Методология исследования основана на применении общепринятых научных методов и современного оборудования. Достоверность полученных результатов определена достаточными для обработки объемами выборок и использованием адекватных инструментов статистической обработки данных.

Научная новизна

Впервые для дождевых червей двух видов (*Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus*), обитающих в условиях повышенных содержаний тяжелых естественных радионуклидов (ТЕРН) и тяжелых металлов (ТМ), выявлены исходные уровни повреждений ДНК. Показано, что при достоверных различиях в общей плотности популяции наблюдались статистически значимые различия в репродуктивной способности дождевых червей *A. caliginosa* на фоновом и импактном участках.

Впервые зафиксирована адаптивная реакция (повышенная скорость репарации ДНК) у дождевых червей *A. caliginosa*, обитающих в условиях хронического низкодозового воздействия ТЕРН и ТМ, на острое γ -облучение. Кроме этого, показана

повышенная чувствительность к действию Cd в более высокой дозе, зафиксированная по кривым выживаемости, у дождевых червей этого же вида, ранее обитавших в условиях хронического воздействия радиационного и химического факторов.

Впервые выявлена сложная внутривидовая генетическая структура популяции дождевых червей *A. caliginosa*, обитающих на участках с разной степенью радиоактивного и химического загрязнения почвы.

Теоретическое и практическое значение

Результаты диссертационной работы, включающие экспериментальные данные и результаты теоретического обобщения, дополняют фундаментальные представления о воздействии радиоактивного и химического загрязнения окружающей среды на почвенных беспозвоночных в природной популяции. Результаты работы вносят значительный вклад в понимание механизмов адаптации почвенной биоты к существованию в условиях сложного загрязнения почвы, характеризующегося присутствием в среде обитания не только радионуклидов, но и тяжелых металлов. Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что полученные данные могут служить фундаментом при оценке отдаленных последствий хронического низкоинтенсивного радиационного и химического воздействия для почвенной биоты, а также внести вклад в разработку научных основ использования техногенно загрязнённых территорий.

Работы Рыбак А.В. по изучению биологических эффектов у дождевых червей и механизмов их адаптации к обитанию в условиях сочетанного действия радиационного и химического факторов представлены в изданиях, публикующих результаты научных исследований в области радиобиологии и радиоэкологии, экологии и защиты окружающей среды.

По теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, 5 из них статьи в журналах, рекомендованных ВАК. Содержание диссертации соответствует опубликованным работам. Текст автореферата полностью соответствует содержанию диссертации. Основные результаты апробированы автором на региональных, всероссийских и международных конференциях.

Оценка содержания диссертации

Структура и объём диссертационной работы. Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 328 источников, из них 197 на иностранном языке. Диссертация изложена на 140 страницах, содержит 20 таблиц и 23 рисунка.

Во введении представлены актуальность и степень разработанности проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. В кратком изложении представлена методология работы, описаны методы исследования и обоснованы статистические подходы для оценки достоверности результатов диссертации, указано соответствие диссертации

паспорту выбранной специальности. Во введении также сформулированы основные положения, выносимые на защиту, отражены апробация результатов и личный вклад, который автор внес в выполнение исследования. Замечаний к этой части работы нет.

Глава I «Обзор литературы». В результате анализа данных отечественной и зарубежной литературы автором дана общая характеристика и описаны механизмы действия ионизирующего излучения и тяжелого металла Cd, как одного из опасных токсикантов окружающей среды. Прделана огромная работа по обобщению данных о полулетальных дозах ионизирующего излучения и полулетальных концентрациях кадмия для дождевых червей. Проанализированы и обобщены данные о биологических реакциях дождевых червей в условиях радиоактивного и химического загрязнения среды обитания. Также автором обсуждаются предполагаемые механизмы адаптации организмов для существования в условиях загрязнения среды обитания. В заключении к обзору литературы автор обобщает проанализированные данные по теме исследования и обосновывает актуальность цели исследования.

Глава II «Материалы и методы». В главе описан район исследования и дана полная характеристика исследуемых участков (фоновых и импактных), объектов исследования с указанием объемов выборок в каждом эксперименте. Кроме этого, дана физико-химическая характеристика почвенного субстрата, используемого для лабораторного культивирования дождевых червей. Детально описаны пробоподготовка, нюансы постановки экспериментов, методы экспериментальной работы (метод ДНК-комет, AFLP, методики определения выживаемости, репродуктивной способности и учета плотности популяции). Также в главе в полной мере отражены методы статистической обработки, применяемые для обработки данных. Положительным моментом работы является использование комплексного подхода для реализации поставленной цели и задач.

Глава III «Результаты» отражает результаты диссертационного исследования, представленные в нескольких разделах. В разделе 3.1 приведены результаты физико-химического анализа почв исследуемых участков, включающие физико-химические свойства, удельные активности радионуклидов, концентрации тяжелых металлов и рассчитанные на их основе значения суммарного показателя загрязнения почвы (СПЗ). Показано, что в почвах импактных участков 1 и 2 содержатся высокие удельные активности ^{226}Ra , ^{210}Po , ^{210}Pb , причем участок 1 характеризуется более высокой степенью радиоактивного загрязнения почвы, где концентрация ^{226}Ra превышает значения на других участках в 19-429 раз. Удельные активности ^{226}Ra , ^{232}Th в почвах фоновых участков 3 и 4 находятся в пределах региональных фоновых значений или незначительно их превышают. Присутствие в почвах загрязненных ТЕРН участков и высоких концентраций ТМ также подтверждено результатами физико-химического анализа. Почвы участка 1 характеризуется опасной (СПЗ = 108), участка 2 – умеренно опасной (СПЗ = 21), участков 3 и 4 – допустимой степенью загрязнения ТМ (СПЗ = 2–3).

В разделе 3.2 приведены результаты расчетов дозовых нагрузок от радионуклидов ^{226}Ra , ^{210}Pb , ^{210}Po , ^{228}Th , ^{230}Th , ^{232}Th , ^{238}U на дождевых червей с использованием двух дозиметрических подходов, реализованных в программном комплексе ERICA Tool и работе авторов (Thomas, Liber, 2001). Рассчитанные мощности поглощенных доз ионизирующей радиации по двум методикам являются соизмеримыми. Значения варьируют от 0.3 до 113 мкГр/ч (ERICA Tool) и от 1 до 161 мкГр/ч (Thomas, Liber, 2001). Результаты расчетов свидетельствуют о том, что наибольшему воздействию ионизирующего излучения подвергаются дождевые черви с импактного участка 1, а наименьшему – с фонового участка 4.

В разделе 3.3 отражены результаты использования современного способа для подтверждения видовой принадлежности дождевых червей с применением секвенирования высоковариабельного фрагмента цитохромоксидазы I (COI). При сравнении с последовательностями COI дождевых червей, взятыми из базы Genbank, установлено, что виды, использованные в исследовании, принадлежат к *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus*.

В разделе 3.4 представлены данные об уровнях повреждений ДНК у дождевых червей, обитающих на участках с повышенными содержаниями ТЕРН и ТМ и фоновом участке, а также после дополнительных воздействий (γ -облучения и воздействия Cd). Автором показано, что исходные (без дополнительных воздействий в лаборатории) уровни одностранных и двустранных повреждений ДНК у дождевых червей двух видов *A. caliginosa* и *L. rubellus*, в течение длительного времени обитающих в условиях хронического низкоинтенсивного радиационного и химического загрязнения почвы, не отличались как между участками, так и между видами.

Также зафиксировано, что скорость репарации одностранных повреждений ДНК у *A. caliginosa*, оцененная после облучения в дозе 4 Гр в динамике через разные временные промежутки (1–240 минут) после воздействия, оказалась выше у особей с импактного участка 1 по сравнению с показателями для особей с фонового участка 3. Этот факт свидетельствует о радиоадаптации *A. caliginosa*, сформировавшейся при обитании особей в условиях хронического воздействия ТЕРН и ТМ. Также установлено, что уровни повреждений ДНК у дождевых червей *A. caliginosa* после дополнительного воздействия в течение 48 ч 425 мг Cd/кг почвы оказались ниже исходных уровней повреждений ДНК, используемых в качестве фона.

В разделе 3.5 автором представлены результаты эксперимента по исследованию репродуктивной способности особей *A. caliginosa* в искусственном почвенном субстрате с двух участков – импактного участка 1 и фонового участка 3. Показано, что дождевые черви, ранее подвергшиеся длительному воздействию ТЕРН и ТМ, характеризуются пониженной репродуктивной способностью, выраженной в снижении частоты распределения коконов относительно показателя на фоновом участке. Данный результат указывает на подавление репродуктивной функции дождевых червей с участка 1, где почвы содержат высокие концентрации

поллютантов. В свою очередь, различий в морфометрических параметрах коконов не обнаружено.

В разделе 3.6 приведены кривые выживаемости особей *A. caliginosa*. После облучения в дозе 2270 Гр различий в показателе выживаемости между особями с импактного участка 1 и фонового участка 3 не обнаружено. Напротив, дополнительное многократное воздействие Cd при увеличении концентрации от 325 до 1100 мг Cd/кг почвы привело к статистически значимому снижению выживаемости почвенных беспозвоночных *A. caliginosa* с участка 1, почвы которого содержат повышенные концентрации ТЕРН и ТМ, что указывает на их бóльшую чувствительность относительно особей с фонового участка 3. Бóльшая чувствительность *A. caliginosa* с импактного участка 1 подтверждается значением полулетальной концентрации Cd (605 мг/кг), которая ниже данного показателя для особей с фонового участка 3 (883 мг/кг).

В разделе 3.7 рассмотрены результаты учета плотности популяции дождевых червей и зависимости данного показателя от ряда физико-химических факторов. Показано, что плотность популяции на импактном участке 1 особей статистически значимо снижена по сравнению со значениями для импактного участка 2 и фонового участка 3, что объясняется очень высокими концентрациями ТЕРН и ТМ в почвах участка, где ранее осуществлялась добыча ^{226}Ra из пластовых вод и отходов урановой промышленности. Автором установлены статистически значимые корреляции между плотностью популяции и рН почвы, а также мощностью поглощенной дозы с использованием достаточных объемов выборок: чем выше значения указанных факторов среды, тем ниже плотность популяции.

В разделе 3.8 представлены результаты анализа степени генетического полиморфизма и генетической структуры популяции *A. caliginosa*. Показано, что выборки особей *A. caliginosa* статистически значимо не отличаются по степени генетического полиморфизма (гетерозиготность, число эффективных аллелей, индекс Шеннона и доля полиморфных локусов). Выявлено, что наибольшая доля редких аллелей представлена на импактном участке 2, наименьшая – на фоновом участке 4. Также показаны незначимые генетические дистанции между выборками *A. caliginosa*, что указывает на сходство их генетических структур. Результаты теста Мантелы показали, что отсутствуют достоверные корреляции между уровнем техногенного загрязнения почвы и коэффициентом генетического расстояния для особей со всех исследуемых участков. В условиях обитания дождевых червей в почвах с контрастными уровнями радиоактивного и химического загрязнения на основании дискриминантного анализа главных компонент (DAPC) зафиксировано отсутствие дифференциации выборок *A. caliginosa* по степени загрязнения и выявлено разделение особей со всех участков на три генетических кластера, не связанных с местом отбора проб. Этот вывод автор также подтверждает анализом генетической структуры выборок *A. caliginosa* в программе STRUCTURE и визуализацией с помощью онлайн-сервиса CLUMPAK.

Несомненным достоинством диссертационного исследования является использование широкого спектра биологических показателей, анализ которых позволяет комплексно оценить последствия сочетанного действия радиационного и химического факторов на представителей почвенной фауны. Полученные результаты проанализированы с применением подходящих статистических методов, поэтому выводы являются обоснованными.

Глава IV «Обсуждение» представлена тремя разделами, что облегчает восприятие достаточно объемной главы. Здесь полученные в диссертационном исследовании результаты сопоставлены и обсуждены с представленными в отечественной и зарубежной литературе данными, отражающими результаты изучения биологических реакций почвенных беспозвоночных, которые населяют почвы, загрязненные радионуклидами и другими поллютантами.

В разделе 4.1 автором обсуждается степень радиоактивного и химического загрязнения почвы экспериментальных участков при сравнении со схожими радиоэкологическими ситуациями, описанными в литературе, и объясняются причины многокомпонентного состава загрязнения территории исследования. Особое внимание уделено анализу спектра загрязнителей и концентраций химических и радиоактивных компонентов почв импактных участков. Также автором предпринята попытка выявить факторы, которые могут влиять на выраженность биологических эффектов у дождевых червей.

Значительные различия в степени радиоактивного и химического загрязнения почв между импактными участками 1 и 2, подтвержденные результатами физико-химического анализа, автор объясняет тем, что добыча ^{226}Ra на участке 1 производилась не только из пластовых вод, но и из привозных отходов урановой промышленности, а впоследствии на данной территории складировали радиоактивные отходы (РАО); напротив, на участке 2 концентрировали ^{226}Ra только из пластовых вод путем соосаждения с сульфатом бария. Высокие концентрации ТМ (СПЗ = 108 и СПЗ = 21 на участках 1 и 2 соответственно) и минеральных солей, также присутствующие в почвах импактных участков, автор объясняет, во-первых, естественным поступлением на дневную поверхность вместе с радиоактивными водами, а, во-вторых, технологией производства радия. Радиоэкологическая ситуация вблизи пос. Водный, характеризующаяся присутствием в почвах высоких концентраций радионуклидов, тяжелых металлов, минеральных солей, является типичной для территорий с повышенным уровнями естественной радиоактивности и добычи, а также переработки полезных ископаемых и сходной с радиоэкологическими ситуациями в других странах (Норвегия, Португалия), представленными в литературе. Среди важных факторов, способных влиять на биодоступность радионуклидов и тяжелых металлов, а, соответственно, на их опасность для организмов, автор называет содержание гумуса, кислотность почвы, присутствие в почвах конкурирующих ионов и комплексообразователей, что подтверждается работами других исследователей.

В разделе 4.2 автор анализирует дозовые нагрузки на дождевых червей, сравнивает их с допустимыми уровнями хронического радиационного воздействия на биоту и сопоставляет с имеющимися в литературе значениями мощностей поглощенных доз, определенных для животных, также обитающих в условиях радиоактивного загрязнения среды обитания. Кроме этого, автор с использованием двух дозиметрических подходов объясняет причины различий вкладов ТЕРН в суммарную дозовую нагрузку для животных исследованных участков. Также автором доказано, что дождевые черви с импактного участка 1 испытывают наибольшую радиационную нагрузку по сравнению с особями с других участков, поскольку значения мощностей доз ионизирующего излучения (113 мкГр/ч по модели ERICA Tool и 161 мкГр/ч по методике (Thomas, Liber, 2001)) значительно превышают уровни безопасного радиационного воздействия на биоту (10 мкГр/ч и 41.6 мкГр/ч согласно рекомендациям МКРЗ и НКДАР ООН).

Различия вкладов основных дозообразующих радионуклидов в суммарную дозовую нагрузку на почвенных беспозвоночных исследуемых участков при использовании двух дозиметрических подходов - общепризнанного (ERICA Tool) и оригинального (согласно Thomas, Liber, 2001) автор объясняет учётом в последнем варианте дозовой нагрузки на критически важную систему дождевых червей - ЖКТ, более высоким по сравнению с ^{226}Ra коэффициентом поступления ^{210}Po из пищевого комка в организм, а также отсутствием радиоактивного равновесия в цепочке радионуклидов уранового ряда при меньшей энергии α -частиц щелочноземельного элемента.

Сильно нарушенное равновесие в семействе ^{238}U между дочерними изотопами ^{226}Ra и ^{210}Po автор связывает с процессами радиохимического выделения и концентрирования радия из первичного сырья (пластовых вод) и из переработанных отходов урановой промышленности, а также особенностями геохимической миграции полония и радия.

В разделе 4.3 полученные в диссертации результаты о биологических эффектах у дождевых червей в условиях сочетанного действия радиационного и химического факторов обсуждаются в сравнении с данными других исследователей в контексте адаптации.

Установленное отсутствие различий в исходных уровнях как однонитевых, так и двунитевых повреждений ДНК у особей *A. caliginosa* и *L. rubellus*, обитающих на участках с контрастными уровнями радиоактивного и химического загрязнения почвы, в данной работе не противоречат результатам других исследований, полученных на малоподвижных животных в условиях радиоактивного загрязнения почвы. Автор предполагает, что одинаковая степень повреждения ДНК дождевых червей с фонового и импактного участков может быть следствием адаптации популяции к техногенному воздействию через отбор устойчивых к повышенным содержаниям ТЕРН и ТМ особей, обитающих на радиоактивной территории в течение длительного времени. Эти результаты и предположения автора находят подтверждение в работах других исследователей.

Зафиксированная после облучения в дозе 4 Гр повышенная скорость репарации повреждений ДНК дождевых червей *A. caliginosa*, в течение многих поколений подвергавшихся хроническому низкоинтенсивному воздействию ТЕРН и ТМ, по сравнению с животными фонового участка является защитной реакцией популяции на стресс, сформировавшийся в ответ на хроническое воздействие неблагоприятной среды обитания в виде, что также соотносится с данными представленными в литературе.

Одинаковые уровни повреждения ДНК после дополнительного воздействия Cd у особей с импактного участка 1 и фонового участка 3 автор объясняет одинаковой скоростью репарации ДНК у дождевых червей или недостаточной для регистрации различий интенсивностью стрессового воздействия.

Выявленная пониженная плотность популяции дождевых червей на участке 1 с высокими концентрациями ТЕРН и ТМ в почве относительно значений на других участках на фоне подавленной репродуктивной способности *A. caliginosa*, являющейся важным аспектом в выживаемости популяции, может отражать незавершенность происходящих в условиях негативного влияния среды обитания адаптационных процессов в популяции дождевых червей сем. Lumbricidae, более полувека населяющих загрязненную территорию, что автор подтверждает работами по сходной тематике.

Причина повышенной чувствительности особей *A. caliginosa* к дополнительному действию Cd, по мнению автора, может заключаться в продолжительном воздействии на почвенных беспозвоночных не только ТМ, но и ТЕРН, являющихся как генотоксикантами вследствие ионизации материи, так и обладающих токсическим воздействием, как некоторые тяжелые металлы, а также вероятности синергического действия агентов. Выявленные в диссертационном исследовании и работах, представленных другими исследователями, различия между полулетальными концентрациями Cd для люмбрицид, автор объясняет видовой чувствительностью дождевых червей, механическим составом почвы, температурным режимом среды обитания. Анализируя предполагаемые причины отсутствия генетической дифференциации популяции *A. caliginosa*, населяющей загрязненную радионуклидами и тяжелыми металлами территорию, диссертант заключил, что основным определяющим фактором является сложная внутривидовая структура дождевых червей *A. caliginosa*, на наличие которой неоднократно указывали другие авторы.

В заключении подведены краткие итоги диссертационного исследования с указанием дальнейших перспектив научной работы.

Выводы. Необходимо отметить корректность выводов, сформулированных на основании адекватной статистической обработки данных.

Результаты, полученные в исследовании, вносят ценный вклад в методологию радиозэкологических исследований эффектов хронического воздействия техногенного загрязнения почв при сочетанном действии факторов радиационной и химической природы. При статистически незначимом различии на импактной и

фоновых территориях некоторых интегральных показателей популяционного уровня, автором выявлены особо чувствительные индикаторы и тест-функции, которые могут использоваться как маркеры стресса популяции при многокомпонентном загрязнении. При этом показано, что необходимо учитывать влияние на выраженность эффекта экологических факторов (почвенных свойств).

Представленная научная информация существенно дополняет банк данных о типах многокомпонентных техногенных загрязнений и особенностях их токсического воздействия на самые чувствительные компоненты биоценоза. Зафиксированы биологические эффекты в природной популяции дождевых червей сем. Lumbricidae на разных уровнях структурно-функциональной организации.

Несомненную ценность имеют полученные автором характеристики природных популяций люмбрицид на участках с фоновыми и повышенными уровнями загрязнения ТЕРН и ТМ, с количественной оценкой таких важнейших биоиндикационных и тестовых показателей как плотность популяции и репродуктивный потенциал, уровни повреждений первичной структуры ДНК и скорость репарации, особенности генетической структуры популяций и выраженность адаптационных процессов. Также показано, что сложная внутривидовая генетическая структура *A. caliginosa*, представленная тремя кластерами, объективно затрудняет экспериментальное выявление эффектов хронического воздействия техногенного многокомпонентного загрязнения.

Замечания к работе

К представленной диссертационной работе практически не возникает замечаний по существу, однако некоторые вопросы требуют уточнения и конкретизации методической части эксперимента.

1) Почему образцы почв для анализа их физико-химических свойств и уровней содержания ТМ и ТЕРН отбирались до глубины 20 см, тогда как в литературном обзоре указана глубина слоя обитания *A. caliginosa* до 25 см, и глубина отбора почвенных монолитов также составляла 25 см?

2) В п. 2.2.2. неясно обозначены объемы выборки (количество особей *A. caliginosa*) для фоновых и импактных участков исследования: например, задействовали «все» 42 особи для двух участков или «по» 42 особи?

В п.2.3.2 остается неясным, до какой глубины слоя выбирали экспериментальных животных?

В п. 2.2.4. не указано какова концентрация исходного раствора хлорида кадмия, которым доводили концентрацию загрязнения субстрата до 1100 мг/кг Cd при многократном внесении его в почву в хроническом эксперименте и как осуществляли выравнивание концентрации по объему экспериментального субстрата в ходе культивирования?

3) Почему из ряда ТМ, загрязняющих почвы изученных участков вблизи пос. Водный, именно Cd выбран автором для изучения в качестве модельного токсиканта, хотя при значениях рН, указанных в исследовании (почвы участка 1 –

7,3; участка 3 – 5,8; лабораторный субстрат – 7,8) катионные формы Cd малоподвижны в почве?

4) Для более подробного обсуждения полученных результатов раздела 3.7 желательно дополнить работу сведениями о зоне оптимума для значений основных экологических факторов среды обитания люмбрицид (кислотность субстрата, температура, влажность и т.п.), если таковые имеются в литературе, так как автором выявлена значимая зависимость от кислотности почвы плотности популяции дождевых червей *A. caliginosa*.

5) В разделе 3.6 диссертации при исследовании выживаемости особей *A. caliginosa* с двух участков после острого провокационного облучения в дозе 2270 Гр не обнаружено значимых различий между кумулятивными кривыми выживаемости, что закономерно отражено в выводе №5 как отсутствие адаптивной реакции по показателю выживаемость. При этом приводятся данные, которые могут рассматриваться как признаки наличия адаптации, т.к. выявлена относительно бóльшая продолжительность жизни особей с загрязненного участка по сравнению с животными с фонового участка. Однако эта информация не нашла отражения в выводах, почему?

6) На рисунке 3.9 стр.73 приведены уровни повреждений ДНК дождевых червей *A. caliginosa* после провокационного воздействия 425 мг Cd/кг, которые оказались значимо ниже спонтанных уровней повреждения ДНК. Поскольку при обсуждении результат объясняется самим автором случайными причинами, связанными с проведением экспериментов в разное время, считаем, что неправомерно результаты разновременных экспериментов объединять для сравнения на одном рисунке.

7) Требуется дополнительное обоснование методика сравнительного анализа выживаемости дождевых червей *A. caliginosa* из популяций, испытывающих хроническое воздействие ТЕРН и ТМ. Почему в качестве дополнительного провокационного воздействия (для выявления адаптивной реакции или сенсбилизации популяции) использовали острое действие ионизирующего излучения в дозе 2270 Гр и хронический вариант эксперимента (многократное введение) при токсическом способе затравки до 1100 мг/кг почвы для Cd?

Заключение

Диссертация А.В. Рыбак является самостоятельным, законченным исследованием, в котором получены результаты, которые вносят вклад в решение одной из важных и сложных проблем радиэкологии. Указанные замечания несколько не уменьшают значимость работы, не затрагивают ее основных выводов и не влияют на общую высокую оценку выполненного автором исследования. Таким образом, по актуальности, новизне, научной и практической значимости полученных результатов, объёму и трудоемкости выполненной автором работы диссертация А.В. Рыбак «Анализ сочетанного действия радиационного и химического факторов на популяцию дождевых червей семейства Lumbricidae» соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук,

установленным в «Положении о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, а автор – **Рыбак Анна Викторовна** заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 Радиобиология.

Отзыв составил

ст. преп. кафедры радиэкологии
и экотоксикологии факультета Почвоведения,
к.б.н.
vstol@bk.ru



Столбова В.В.

Результаты диссертации рассмотрены и одобрены на заседании кафедры радиэкологии и экотоксикологии факультета Почвоведения Протокол №16 от 31.08.2021 г.

Зав. кафедрой радиэкологии и
экотоксикологии факультета Почвоведения,
д.б.н., профессор



Щеглов А.И.

И.о. декана факультета
Почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова,
чл.-корр.



Красильников П.В.