

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Казаковой Елизаветы Александровны «Анализ генетической структуры и антиоксидантного статуса хронически облучаемых популяций сосны обыкновенной», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология

Актуальность избранной темы

На протяжении долгого времени в радиобиологии и радиационной экологии изучаются адаптационные механизмы растительных популяций к различным техногенным воздействиям, в том числе и радиационным. Особенно остро эти вопросы стали подниматься после аварии на Чернобыльской атомной станции и аварии на Фукусиме. Диссертационная работа Казаковой Е.А. посвящена актуальной проблеме современной радиобиологии – изучению механизмов формирования долгосрочных биологических эффектов облучения у растительных организмов.

Хорошо известно, что ответной реакцией на стресс у растений является изменение антиоксидантного статуса и модификация генетической структуры популяций. Генетические и биохимические изменения после действия ионизирующего излучения выявлены у разнообразных растений в многочисленных лабораторных исследованиях. Однако очень важным обстоятельством является выявление таких механизмов не у модельных культур, а в полевых экспериментах, у растений, длительно произрастающих на территориях, загрязненных радионуклидами. Следует отметить, что полевые исследования биологических эффектов хронического облучения биоты проводятся крайне редко из-за сложности проведения таких экспериментов, однако разница в чувствительности у лабораторных и «естественных» растений может достигать больших величин. Поэтому цель диссертационной работы Е.А. Казаковой, сформулированная как анализ генетической структуры и антиоксидантного статуса хронически облучаемых в результате аварии на

Чернобыльской АЭС популяций сосны обыкновенной, безусловно, является актуальной современной задачей.

Научная новизна результатов исследования и их практическая значимость

Для исследования генетической неоднородности популяции были выбраны три изофермента – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа и лейцинаминопептидаза, т.к. именно эти ферменты принимают участие во многих интегральных процессах клеточного метаболизма. Изучение аллельного разнообразия данных ферментов показало, что в исследуемых популяциях сосны обыкновенной все ферменты имеют разное число аллелей в локусах, это свидетельствует о полиморфизме изучаемых последовательностей. В локусах были оценены частота и спектр мутаций. Было впервые показано, что частота мутаций растет вместе с поглощенной дозой излучения. Важно отметить, что в работе продемонстрирована генетическая дифференциация популяций на две группы, отличающиеся по уровню радиационного загрязнения. В ходе проведения исследований впервые выявлен диапазон мощностей доз (10,7–39,3 мГр/год), который модифицирует генетическую структуру исследуемых популяций.

Вторым важным аспектом работы является изучения проявления окислительного стресса в популяциях хронически облучаемой сосны обыкновенной. Впервые в работе оценены концентрации малонового диальдегида и других низкомолекулярных антиоксидантов. Показано, что изменение в работе антиоксидантной системы наблюдается при облучении мощностью дозы от 102,4 до 129,2 Гр/год.

В целом, полученные результаты характеризуются значительной научной новизной, представляют не только теоретический, но и практический интерес для дальнейшего развития радиационной биологии и радиационной экологии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации и их достоверность

Научные положения и выводы диссертационной работы Казаковой Е.А. основаны на обширном экспериментальном материале, поэтому являются обоснованными и достоверными. Результаты работы отражены в солидных научных публикациях. Они также были неоднократно представлены на российских и международных конференциях. Важно подчеркнуть, что диссертация выполнена на современном методическом уровне, соответствующем мировым стандартам. Суть этих стандартов сводится к тому, что любые радиобиологические, генетические или экологические работы должны сопровождаться анализом механизмов на молекулярном уровне. В работе использованы такие надежные методы, как метод вертикального электрофореза, метод спектрофотометрии, метод высокоэффективной обращенно-фазовой жидкостной хроматографии с помощью системы Shimadzu LC-30. Поэтому надежность полученного экспериментального материала не вызывает сомнений.

Оценка содержания и оформления работы

Диссертационная работа написана по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, описание результатов исследования с их обсуждением, заключение, выводы, список сокращений и список литературы, состоящий из 336 источников (из них 204 на иностранном языке). Текст диссертации изложен на 166 страницах машинописного текста и включает 22 рисунка и 18 таблиц.

Во введении автором обоснована актуальность темы исследования, раскрыта степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследования, определены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также положения, выносимые на защиту, описаны методология и методы исследования, степень достоверности полученных результатов. Обзор литературы занимает 44 стр. и представлен четырьмя разделами. Первый из них посвящен характеристике возможных изменений генетической структуры популяций растений при стрессовых воздействиях. Во втором разделе обзора

автор приводит данные литературы, касающиеся закономерностей проявления реакций растений при радиационном воздействии. В третьем разделе подробно анализируются сведения об антиоксидантной системе растений в противодействии окислительному стрессу. В четвертом разделе приводятся обобщающие сведения. Обзор написан хорошим литературным языком, легко читается, включает современные сведения по изучаемым вопросам и вводит читателя в область анализируемых автором проблем.

Материалы и методы исследования подробно изложены в главе 2, которая дает полную информацию о спектре использованных методик и объеме проведенной работы. В данном разделе детально описаны методы оценивания содержания радионуклидов в почве и шишках, дозиметрии и определении экспозиционной и поглощенной дозы на исследуемых территориях, методы изучения генетической структуры популяций сосны обыкновенной и определения антиоксидантного статуса.

В главе 3 представлены собственные результаты исследования и их обсуждение, которые разделены на 4 основных блока:

1. Техногенное загрязнение исследуемых территорий. Приведена количественная оценка цезия и стронция в почве и шишках, а также приведены мощности поглощенных доз гамма-излучения и годовые поглощенные дозы облучения генеративных органов растения. Также описаны физико-химические свойства почв экспериментальных участков и содержание в них тяжелых металлов. Установлен важный факт, что почвы всех экспериментальных участков Брянской области и Республики Беларусь оказались близки по свойствам, содержание тяжелых металлов не превышало нормы, а следовательно все выявленные закономерности изменения генетического статуса популяций и антиоксидантного статуса можно будет отнести на счет повышенной дозы ионизирующего излучения.

2. Изучение генетической структуры популяции сосны обыкновенной в условиях хронического воздействия ионизирующего излучения. Эта часть исследования занимает центральное место в диссертационной работе.

Установлено, что частота мутаций в изоферментных локусах глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и лейцинаминопептидазы хронически облучаемых популяций сосны обыкновенной статистически значимо превышает контрольный уровень и растет с увеличением мощности поглощенной дозы. Выявлено, что изученные популяции сосны характеризуются избытком гетерозигот, и она зависит от уровня радиоактивного загрязнения. Полученные данные позволили провести кластерный анализ популяций сосны обыкновенной и выделить две группы, отличающиеся по радиоактивному загрязнению. Этот результат имеет наибольшую, так как показывает, что хроническое облучение является более существенным фактором, влияющим на генотип популяций, чем расстояние. Такая изоляция может привести к закреплению определенных аллелей, а в дальнейшем и к видообразованию. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наблюдаемые мощности поглощенной дозы могут рассматриваться, как фактор, способный модифицировать генетическую структуру популяций сосны.

3. Изучение активности ферментов глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и лейцинаминопептидазы. На основании полученных экспериментальных данных автор делает вывод, что активность исследуемых ферментов в семенах сосны не зависела от уровня поглощенной генеративными органами растений дозы.

4. Изучение антиоксидантного статуса. Полученные результаты позволили сделать важный для практической значимости работы вывод о том, что при хроническом облучении сосны обыкновенной изменяется концентрация малонового диальдегида, и она зависит от величины радиационного воздействия. Это может свидетельствовать о роли данных веществ в адаптации популяций к хроническому радиационному воздействию.

Полученные результаты сопоставлены с данными литературы. Представленный в этой главе анализ показывает глубокое знание автором теоретических вопросов по теме диссертационной работы. В разделе

«Заключение» кратко изложено основное содержание диссертационной работы, из которого логично вытекают выводы.

В целом, следует отметить стилистические достоинства диссертационной работы, ясное и четкое изложение полученных результатов, адекватные и полностью обоснованные выводы.

Основные результаты диссертационной работы отражены в 3 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов кандидатских диссертаций и 15 тезисах докладов, опубликованных в материалах международных и российских конференций. Содержание автореферата отражает основные положения диссертации.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет.

В 1982–1983 гг. источник ^{60}Co (или несколько источников) случайно попал на свалку металлических отходов, которые были переплавлены и из них изготовлены конструкции для строительства домов. В 1983–1984 гг. из них были построены 180 зданий, в которых размещались около 1700 квартир. Первая загрязненная квартира была обнаружена в 1992 г., а затем одна за другой были выявлены и остальные. В этих квартирах проживало и продолжает проживать около 10.000 населения, подвергаясь хроническому облучению. Этот непреднамеренный эксперимент на людях доказал, что хроническое облучение людей могло эффективно снижать выход онкологических заболеваний человека.

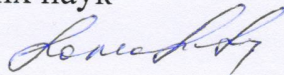
Заключение

Диссертационная работа Казаковой Елизаветы Александровны на тему «Анализ генетической структуры и антиоксидантного статуса хронически облучаемых популяций сосны обыкновенной», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Казаковой

Елизаветы Александровны соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями от 21 апреля 2016 г. № 335), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 - «Радиобиология», а ее автор Казакова Елизавета Александровна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – Радиобиология.

Официальный оппонент:

Профессор отделения биотехнологий офиса
Образовательных программ (О), Руководитель
Образовательных программ по направлениям
06.00.00 Биология ИАТЭ НИЯУ МИФИ
доктор биологических наук



Комарова Людмила Николаевна

249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Студгородок-1
Обнинский институт атомной энергетики –
филиал федерального государственного
автономного образовательного учреждения
высшего образования «Национальный исследовательский
ядерный университет «МИФИ»

тел.: 8-910-913-43-80 эл.почта: komarova_L411@mail.ru

«28» Октябрь 2018 г.

Подпись доктора биологических наук Комаровой Людмилы Николаевны
заверяю.



Иванова Ольга Геннадьевна
Иванова Ольга Геннадьевна