

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Кирова Ильи Владимировича

на диссертацию Подлущкого Михаила Сергеевича

на тему «МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ *ARABIDOPSIS THALIANA* К ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ В ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЕ ОТЧУЖДЕНИЯ», представленной на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1.

«Радиобиология»

Актуальность темы диссертационной работы

Адаптивные реакции растений на радиацию и особенно геномные и транскриптомные аспекты этих процессов малоизучены. Кроме этого, исследования, посвященные влиянию радиации на растения, часто проводятся в условиях острого облучения в лабораторных условиях в течении лишь нескольких поколений. Такая постановка экспериментов может выявить "оперативные" ответы растения на облучение, но не пролить свет на потенциально адаптивные механизмы. Для выявления адаптивных изменений нужны долгосрочные опыты и Чернобыльская зона отчуждения (ЧЗО), образовавшаяся после аварии на АЭС в 1986 году, которая представляет собой уникальную территорию для изучения долгосрочного воздействия хронического ионизирующего излучения (ИИ) на растения. Неоднородное распределение радионуклидов создаёт естественные условия для анализа микроэволюционных процессов и механизмов адаптации, которые невозможно смоделировать в лаборатории. В связи с этим, тематика диссертационной работы Подлущкого М.С. является, несомненно, актуальной.

Научная значимость полученных результатов

Диссертация Подлущкого М.С. обладает очевидной научной и практической значимостью. Автор впервые провёл комплексный анализ транскриптомных и геномных изменений у потомков растений, подвергавшихся хроническому воздействию ионизирующего излучения. Использование высокопроизводительных технологий секвенирования и современных биоинформатических подходов позволило выявить закономерности ответа растений в условиях длительного радиационного стресса, недоступные традиционным методам.

Ключевым результатом исследования стало установление устойчивых транскрипционных паттернов, характеризующих специфическую перестройку регуляторных сетей, включая подавление иммунных и сигнальных путей и активацию энергетического и антиоксидантного метаболизма. Особое значение имеет обнаружение уникальных фиксированных однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в генах, связанных с контролем клеточного цикла, репарацией ДНК и гормональной регуляцией. Показано, что накопление таких SNPs коррелирует с изменением экспрессии соответствующих генов.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении научных представлений о молекулярно-генетических механизмах устойчивости растений к хроническому радиационному воздействию. Результаты исследования вносят вклад в развитие радиобиологии, эволюционной генетики и экологии, углубляя понимание микроэволюционных процессов в условиях экстремального абиотического стресса.

Практическая значимость определяется идентификацией молекулярных паттернов, возможно ассоциированных с радиоустойчивостью (уникальные SNPs, характерные профили экспрессии и SNPs). Полученные данные могут быть в дальнейшем использованы для изучения состояния популяций на радиоактивно загрязнённых территориях и отбора линий с повышенной толерантностью к радиации и другим стрессовым факторам. Полученные результаты открывают перспективы разработки биотехнологических стратегий по повышению устойчивости сельскохозяйственных культур, а также могут найти применение в задачах радиационной безопасности.

В целом, диссертационное исследование отличается научной новизной, высоким уровнем методологической проработки и серьёзным потенциалом для дальнейшего использования полученных знаний в фундаментальных и прикладных областях. Таким образом, полученные диссертантом результаты обладают несомненной научной значимостью и новизной.

Общая характеристика, структура и содержание диссертации

Диссертация написана в соответствии с требованиями к оформлению диссертационных работ. Работа изложена на 165 страницах, содержит 17 рисунков, 10 таблиц и три таблицы в Приложениях. Список литературы включает 300 источников. Во «Введении» автор формулирует актуальность работы, цель и задачи,

также формулирует положения, выносимые на защиту и описывает научную новизну.

В «Обзоре литературы» последовательно излагаются подробные данные об объекте исследований, эффектах ионизирующего излучения (ИИ) на геном, транскриптом и эпигеном растений. Автором была проведена значительная работа по анализу большого числа зарубежных статей, в связи с этим, обзор дает представление о современном состоянии исследований по теме диссертации.

В главе «Материалы и методы» подробно описаны методики, соответствующие поставленным в работе задачам. В частности, описаны объекты исследования, методы сбора данных, дана характеристика загрязненных участков, подробно описан транскриптомный анализ и полногеномный анализ вариаций. Глава свидетельствует, что диссертант провел значительную работу по освоению различных методов исследования и в совершенстве ими владеет.

В главе «Результаты и их обсуждение» изложены результаты проведенных исследований. В частности, автором описаны результаты физико-химического анализа загрязненных почв, проведена оценка динамики прорастания семян и морфологии проростков, изложены результаты транскриптомного и геномного анализа потомков растений, выращенных на радиоактивно загрязнённых почвах и подверженных дополнительному облучению. Хочу отметить, что автором использовались комплиментарные методы, но относящиеся к разным дисциплинам: анализ радиоактивного загрязнения почв и содержания основных элементов, физиологии растений, молекулярной биологии и биоинформатики. Это позволило автору провести комплексный и системный анализ по теме диссертации и говорит о высоком уровне методической подготовки диссертации Михаила Сергеевича.

В «Заключении» проводится обобщающая информация о полученных результатах и выводы работы, полностью соответствующие поставленным задачам. Выводы логично вытекают из полученных результатов научных исследований. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями и отражает основное содержание диссертационной работы.

Несмотря на научную ценность полученных результатов диссертационной работы, у меня имеется несколько вопросов и замечаний:

1. В Материалах и Методах автор указывает на оценку частоты радиационно-индуцированных мутаций, которая составляет "порядка $2,78 \times 10^{-10}$ случаев на 1 Гр поглощённой дозы, что эквивалентно примерно 21 SNPs и 12 инделам на одно растение". Частота мутаций у арабидопсиса в норме составляет около 7×10^{-9} (<https://doi.org/10.1126/science.1180677>), что значительно ниже указанных автором. Поэтому не совсем понятно, как вычислялось число SNPs и инделей и что означает указанный автором показатель частоты мутаций.

2. Касательно повторного отбора растительного материала для полногеномного ресеквенирования в июне 2021 года возникает вопрос: почему не были собраны семена из третьей локации и как много из собранных семян не удовлетворяли требованиям по количеству семян. Другими словами, не вносили ли отбракованные растения существенные искажения в интерпретацию результатов (если например число таких растений было существенно)?

3. Автор связывает отличия некоторых параметров прорастания семян между тремя локациям с воздействием радиационных факторов. Однако эти отличия могут также объясняться и существенными различиями в условиях выращивания материнских растений. Почвенные отличия в трех локациях приводятся самим автором.

4. Автор употребляет слово "адаптация" в контексте наблюдаемых морфологических и физиологических отличий. Адаптация означает приспособление к окружающей среде. Почему, по мнению автора, выявленные отличия соответствуют адаптациям, а не являются простыми изменениям в следствии воздействия факторов окружающей среды?

5. Транскриптомный анализ:

- В тексте отсутствует график PCA для оценки кластеризации биологических повторностей.

- Не указана стадия развития растений при сборе материала.

- Почему автор выбрал программу edgeR и не использовал дополнительно ещё одну программу (например, limma или DESeq) для получения более достоверных результатов?

6. На основании результатов транскриптомного анализа были обнаружены дифференциально экспрессирующиеся гены с определенными функциями и

диссертант связывает их с некоторыми механизмами адаптации к облучению, направленными на "перестройку клеточной сигнализации в условиях хронического стресса", "активацию защитных механизмов против окислительного стресса", "повышенную потребность в регуляции энергетического обмена у травянистых растений, адаптированных к хроническому облучению" и пр. Могут ли наблюдаемые транскриптомные отклонения быть неадаптивными, а лишь результатом возникших случайных мутаций в геноме?

7. Чем можно объяснить значительно большее (около 500 тыс.) число SNPs выявленное для растений из менее загрязненных локации Бабчин по сравнению с локацией Масаны?

8. В работе не представлен детальный анализ направления отбора по данным SNP, что могло бы выявить гены, находящиеся под действием положительного отбора, и потенциально значимых для адаптации растений к ИИ.

9. Также не хватает данных по типу замен по их влиянию на последовательность белка (синонимичные и несинонимичные).

10. Можно ли определить число SNPs, которые были характерны для изучаемых популяций до Чернобыльской катастрофы?

11. В тексте диссертации имеется незначительное число англицизмов (например, "мегабаз" вместо млн. п.н.).

Однако указанные вопросы и замечания не снижают достоверности и научной значимости диссертационной работы.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование проведено на современном экспериментальном уровне. Достоверность результатов исследований подтверждается статистическими данными. Выводы полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. Результаты работы нашли отражение в 3 статьях, опубликованных в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК и/или индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science. Результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на многочисленных международных и всероссийских конференциях.

Заключение

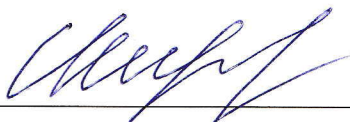
Таким образом, диссертационная работа **Подлущкого Михаила Сергеевича** на тему «МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ *ARABIDOPSIS THALIANA* К ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ В ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЕ ОТЧУЖДЕНИЯ» полностью соответствует паспорту заявленной специальности 1.5.1. "Радиобиология" и является законченной научно квалификационной работой, в которой на основании полученных автором результатов изложены новые научно обоснованные данные, имеющие существенное значение для развития радиобиологии и глубокого понимания транскриптомных и геномных изменений, ассоциированных с острым и хроническим ионизирующим излучением.

Диссертационная работа соответствует требованиям пунктов 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней, а ее автор, Подлущкий Михаил Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1. «Радиобиология».

Заведующий лабораторией маркерной и геномной селекции растений ФГБНУ ВНИИСБ, ведущий научный сотрудник,

доктор биологических наук

Киров Илья Владимирович



29.07.2025

Адрес: 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, дом 42

E-mail: kirovez@gmail.com

Подпись Кирова Ильи Владимировича заверяю:

Специальист по кадрам  У. В. Сердюкова

