

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Рыбак Анны Викторовны тему «Анализ сочетанного действия радиационного и химического факторов на популяцию дождевых червей семейства *Lumbricidae*», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 Радиобиология.

### Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Рыбак Анны Викторовны посвящена изучению эффектов низкоинтенсивного воздействия радиационного и химического факторов у дождевых червей семейства *Lumbricidae* из природных популяций (Ухтинский район, Республика Коми). Актуальность темы исследования обусловлена необходимостью оценки эффектов хронического радиационного воздействия на природные популяции и выявления соответствующих показателей для референтных видов. Определение диапазона чувствительности таких показателей при хроническом облучении актуально для развития методических подходов к оценке последствий радиационного воздействия для биоты.

В соответствии с этим, целью диссертационной работы А.В. Рыбак являлась оценка биологических эффектов на разных уровнях структурно-функциональной организации в природной популяции дождевых червей сем. *Lumbricidae* в условиях загрязнения почвы радионуклидами и тяжёлыми металлами.

Работа выполнена в рамках научно-исследовательских работ отдела радиоэкологии Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук при поддержке гранта РФФИ № 13-04-90351.

## Новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

В работе А.В. Рыбак впервые проведено детальное исследование популяционных и генетических показателей для популяций дождевых червей, обитающих в условиях радиационного и химического загрязнения тяжёлыми металлами. Приведён подробный физико-химический анализ почвы и измерения радиационного фона для четырёх экспериментальных участков с контрастными уровнями загрязнения радионуклидами и тяжёлыми металлами. Принадлежность изученных дождевых червей к видам *A. caliginosa* и *L. rubellus* была подтверждена с помощью секвенирования фрагмента последовательности гена митохондриальной цитохромоксидазы I.

Показано отсутствие устойчивого значимого эффекта радиационного воздействия в диапазоне мощностей доз 1 до 161 мкГр/ч на уровни повреждений ДНК (метод ДНК-комет) дождевых червей *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Также обнаружено, что радиоактивное и химическое загрязнение почвы в изученном диапазоне концентраций не влияет на генетическое разнообразие и генетическую дифференциацию исследованных групп *A. caliginosa*.

Выявлены статистически значимые различия в репродуктивной способности *A. caliginosa*, обитающих на участке с повышенными содержаниями радионуклидов и тяжёлых металлов по сравнению с фоновым участком. Впервые зафиксирована адаптивная реакция у дождевых червей *A. caliginosa*, обитающих в условиях хронического радиационного воздействия, на острое  $\gamma$ -облучение, выраженная в повышенной скорости репарации ДНК. Впервые выявлена повышенная чувствительность дождевых червей *A. caliginosa*, ранее подвергнутых хроническому низкодозовому радиационному и химическому воздействию, к действию Cd в более высокой дозе по показателю выживаемости.

Таким образом, при изучении влияния хронического радиационного и химического воздействия на дождевых червей наиболее чувствительными показателями биологических эффектов оказались уровень повреждений ДНК, репродуктивная способность и связанная с ней плотность особей в популяции.

Выводы сформулированы корректно и соответствуют поставленным задачам исследования.

### **Достоверность результатов исследования**

Автором проанализирован большой массив экспериментальных данных, полученных в лабораторных и полевых условиях. Генетические исследования природных популяций дождевых червей выполнены на современном методическом уровне. Полученные в работе результаты и сформулированные выводы полностью соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Обзор литературы, экспериментальные исследования и их анализ свидетельствуют о хорошей теоретической и методической подготовленности диссертанта. Сделанные выводы обоснованы и логически вытекают из результатов исследования. Результаты исследований были доложены на многочисленных региональных конференциях и международных форумах высокого уровня. Основные материалы диссертации опубликованы в 19 печатных работах, из них 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК. Автореферат и опубликованные работы достаточно полно отражают содержание диссертации.

Таким образом, полученные А.В. Рыбак научные результаты и выводы являются обоснованными и достоверными.

## Замечания

Принципиальных замечаний к работе нет. Диссертация хорошо структурирована и практически не содержит опечаток. Имеются несколько замечаний редакционного характера.

Стр. 34: «изучена взаимосвязь между метилированием As и Hg в тканях дождевых червей ...» - видимо, забавная опечатка.

Стр. 35: «не выявили зависимости между уровнем радиационного воздействия и процентом метилированных локусов у дождевых червей». Лучше говорить об изменениях паттернов метилирования. Внешние воздействия вызывают как гипо-, так и гиперметилирование в зависимости от локализации CpG-сайта.

Стр. 55: «Изучение силы корреляционной связи ... осуществляли с помощью теста Пирсона, а значимость оценивали с применением критерия Манна-Уитни». Непонятно, как значимость корреляций Пирсона можно оценить по критерию Манна-Уитни (+ опечатка в фамилии Whitney).

Стр. 78: «между численностью и рН почвы существует обратная корреляция ( $r = -0.67$ ,  $p = 0.002$ ) ... Параметры линейной модели для описания зависимости между двумя данными факторами следующие:  $r^2 = 0.4509$ ,  $F = 22.9919$ ,  $p = 0.000049$ ».  $p$ -значения для корреляции и значимости линейной модели должны совпадать.

Стр. 79: «Таким образом, ни один из проанализированных факторов (мощность поглощенной дозы, рН почвы) не является лимитирующим плотность популяции почвенных беспозвоночных». Непонятно, в каком смысле не является. Ведь зависимость плотности популяции от рН и мощности дозы оказалась значимой.

Стр. 79: «оценивали с помощью ожидаемой гетерозиготности (He, uHe)». Что такое uHe? Этот показатель далее нигде не встречается.

Стр. 82: «Изучение генетической структуры исследуемых выборок *A. caliginosa* ... осуществили с помощью дискриминантного анализа главных компонент (DAPC), байесовского подхода, встроенного в программу

STRUCTURE, онлайн-сервиса CLUMPAK для визуализации данных STRUCTURE». Неочевидно, зачем было дополнять элементарный анализ ( $D_N$ ,  $N_e$ ,  $N_p$ ) этими уточнёнными методами.

Приведённые замечания не влияют на, безусловно, положительную оценку работы в целом.

### **Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов**

Результаты проведённого исследования вносят вклад в общее представление о механизмах адаптации природных популяций к неблагоприятным внешним условиям. Практическая значимость полученных данных связана с возможностью их использования для совершенствования существующей системы контроля состояния окружающей среды.

Результаты работы могут быть также использованы в образовательных целях на биологических факультетах ФГОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова», ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», в ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, ГУ Научный центр биомедицинских технологий, ГУ Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Рыбак Анны Викторовны на тему «Анализ сочетанного действия радиационного и химического факторов на популяцию дождевых червей семейства Lumbricidae», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 Радиобиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное

значение для радиационной биологии, экологии и генетики хронически облучаемых популяций. Работа А.В. Рыбак по актуальности изучаемой проблемы, научной новизне, практической значимости, полноте изложения и обоснованности выводов отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней и присвоения учёных званий» ВАК РФ, а автор заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 Радиобиология.

«31» августа 2021 г.

Зав. отделом генетической безопасности

ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,

доктор биол. наук

А.В. Рубанович

Подпись д.б.н. А.В. Рубановича заверяю.

Зам. директора по научной работе ФГБУН Институт общей генетики им.

Н.И. Вавилова РАН к.б.н.



С.А. Брускин