

ОТЗЫВ ОППОНЕНТА

кандидата биологических наук Столбовой Валерии Владимировны на диссертационную работу Афоной Светланы Олеговны на тему: «Оценка влияния редко- и плотноионизирующего излучения на морфологические, биохимические и генетические показатели пророщенных семян *Hordeum vulgare* L.», представленную в диссертационный совет Д 68.1.003.01 при ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 – «Радиобиология»

Актуальность темы диссертации. Диссертационная работа Афоной Светланы Олеговны посвящена исследованию эффектов влияния на растения ионизирующей радиации (ИИ) с различными величинами линейной передачи энергии (ЛПЭ): гамма-лучей, протонов и тяжелых ионов изотопа углерода ^{12}C . В качестве показателей ответа растений использованы морфометрические, цитогенетические, биохимические и генетические характеристики пророщенных семян ячменя обыкновенного *Hordeum vulgare* L., изменение которых выявляло особенности биологического действия редко- и плотноионизирующих излучений и служило критерием оценки стрессовых эффектов как стимулирующих, отражающих адаптивную реакцию растительного организма, или угнетающих. Актуальность исследования связана с недостаточным знанием о специфике процессов и механизмов, обеспечивающих адаптационный ответ при воздействии редко- и плотноионизирующих излучений на ранних стадиях развития. Понимание закономерностей и управление радиационными эффектами растений имеет существенное значение для научного обоснования агротехнологии предпосевной обработки семян и создания стрессоустойчивых сортов. Актуальность темы диссертации также обусловлена развитием астробиологии и космической радиобиологии и реализацией ряда научно-исследовательских программ по изучению влияния условий космического пространства (в том числе космической радиации) на биологические объекты и растения в том числе, как ценный пищевой ресурс при длительных полетах. Впервые выявлены особенности действия протонов и тяжелых ионов изотопа углерода ^{12}C на транскрипционную активность трех генов стрессового ответа и спектр хромосомных aberrаций и зафиксированы существенные различия с эффектами гамма-облучения. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизмов реализации адаптивного ответа растений на облучение ИИ разного биологического качества на уровне генетических и физиологических процессов ранних этапов онтогенеза. Это имеет несомненное практическое значение для совершенствования технологией предпосевого облучения семян и перспектив культивирования растений в условиях космического полета, а также обогащают экспериментальную базу данных для учета опасности плотноионизирующих излучений в системе экологического нормирования радиационных нагрузок на биоту.

Освещение результатов в научной печати. По теме диссертации опубликована 31 научная работа, из них 5 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в список ВАК и индексируемых в системах цитирования Scopus и Web of Science. Также в список публикаций автора входит учебное пособие для высших учебных заведений по дисциплине «Радиобиология» в трех частях. За период с 2016 по 2024 год результаты исследования неоднократно представлялись на 11 конференциях и симпозиумах разного уровня – региональных, всероссийских и международных.

Структура диссертации традиционна, рукопись состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, который включает 197 источников, из них 102 на иностранном языке. Работа изложена на 117 страницах, содержит 3 таблицы и 49 рисунков (в том числе в виде микрофотографий).

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, показана степень разработанности научной проблемы, сформулированы цель и задачи исследования,

С отзывом ознакомлена Афоной С.О.

Столбова В.В. 05.05.2026

Вход. №	2171
30 АПР 2026	
Кол-во листов	7
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России	

обоснована научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов, а также кратко изложены сведения об экспериментальной базе и методах исследований. Далее сформулированы положения, выносимые на защиту и методы оценки достоверности полученных результатов, оценено соответствие содержания диссертации паспорту научной специальности. Приводятся сведения об апробации результатов и личном вкладе диссертанта, о публикационной активности автора, а также охарактеризованы структура и объем работы.

В главу 1 «Обзор литературы» включены разделы, позволяющие оценить теоретический и экспериментальный уровень разработанности проблемы в аспекте решения поставленных перед диссертантом задач. В объемном материале **раздела 1.1** рассматриваются классические представления о радиационно-индуцируемых эффектах на различных уровнях системой организации и известные на сегодняшний день механизмы их реализации. Описаны основные внутриклеточные мишени воздействия ИИ с различной величиной ЛПЭ, а также даются критерии отнесения видов ИИ к редко- и плотноионизирующим. Диссертантом отмечена необходимость изучения биологических эффектов космической радиации и проанализированы особенности его состава. Охарактеризованы протоны как основная компонента космической радиации и роль искусственного протонного облучения для индукции генетической изменчивости при создании новых сортов сельскохозяйственных растений. Также показано, что электромагнитные ИИ (гамма-излучение) являются ключевым компонентом космических лучей и подчеркнута многолетнее традиционное их использования для мутагенеза растений. Возросший интерес исследователей к корпускулярным ионизирующим излучениям (быстрые нейтроны и тяжелые ионы) объясняется экспериментальными данными о том, что частота и спектр мутаций, вызываемых этими частицами, значительно отличаются от тех, которые индуцируют излучения электромагнитной природы.

Автором отмечены дискуссионные моменты и разные точки зрения в научном сообществе в интерпретации «эффектов малых доз» (в частности радиационного гормезиса и адаптивного ответа), особенно в аспекте практического использования радиации для стимуляции роста и развития растений на определенных этапах онтогенеза. При этом отмечено, что внедрение в сельское хозяйство такого агроприема, как предпосевное облучение семян, основано на стимулирующем действии облучения на ранних этапах жизни растения. Автор подробно описывает проявления феномена радиационной стимуляции на разных объектах и отмечает, что эффект не всегда воспроизводится и его природа трактуется исследователями по-разному. Отмечено, что радиационно-индуцированные разрывы ДНК и усиление свободнорадикальных процессов оказывает повреждающее действие и одновременно формируют сигнал, включающий защитные адаптирующие механизмы, что и рассматривается как эффект радиационной стимуляции. В настоящее время исследования механизмов адаптации сфокусированы на обосновании общих принципов передачи стрессовых сигналов при формировании отклика растительного организма.

Даются диапазоны доз, которые рассматриваются как стимулирующие и ингибирующие. Показано, что рост и развитие растений ускорялись при облучении семян в диапазоне доз от 5 до 20 Гр (облучение семян), а при облучение вегетирующих растений в диапазоне 1-5 Гр. Отмечено, что «малые стимулирующие» для растений дозы являются достаточно высокими с точки зрения общей радиобиологии.

Проанализированы работы, рассматривающие адаптационные возможности с точки зрения экологических стратегий ответа растений на стресс, когда воздействие стрессоров включает адаптационные механизмы, молчащие в условиях экологического оптимума.

В литературном обзоре рассматривается филогенетическая (на примере голо- и покрытосеменных), систематическая (на сравнении одно- и двудольных, на примере семейства крестоцветные), видовая и сортовая специфичность радиоустойчивости растений. Анализируются факторы радиоустойчивости растений по сравнению с

животными. В разделе 1.2 литературного обзоре представлены данные о востребованности ячменя и приведены характеристики трех изучаемых сортов ячменя обыкновенного *H. vulgare* L. Сделан обоснованный вывод о том, что исследование особенностей влияния ИИ разного биологического качества на выраженность стимулирующих эффектов районированных сортов важны для повышения эффективности сельского хозяйства и обеспечения продовольственной безопасности.

В разделах 1.3-1.7 рассмотрены показатели различного уровня, отражающие особенности отклика растений на стрессовое воздействие. По литературным источникам подробно описаны примеры различного влияния плотно- и редкоионизирующих видов радиации на структуру ДНК, цитогенетические показатели пролиферации и частоту патологий деления, содержание маркеров стресса и процесса перекисного окисления липидов (в частности пролина и малонового диальдегида МДА), экспрессию генов стрессового ответа, ростовые и морфометрические параметры растительных объектов. Упоминается неспецифичный характер явления стимуляции растений, поскольку стрессоры самой разной природы (тяжелые металлы и пестициды, ионизирующие и неионизирующие излучения, импульсное давление и другие) могут положительно влиять на растительные организмы при определенных (достаточно низких) уровнях воздействия и действующих концентраций. Поэтому спектр генов, перспективных для исследования стрессовых откликов, достаточно обширен. В связи с этим диссертанту необходимо было выбрать гены-претенденты, связанные с формированием адаптивных реакций при воздействии ИИ. Отмечено, что в настоящее время их роль в формировании адаптивных реакций при воздействии ионизирующего излучения изучена недостаточно полно. Можно заключить, что анализ литературных данных позволил диссертанту логично обосновать выбор морфологических, биохимических и генетических показателей для оценки влияния на пророщенные семена ячменя обыкновенного *H. vulgare* L. редко- и плотноионизирующих видов излучения.

В главе 2 описаны объекты и методы исследования. В качестве фитотестеров использовали три сорта ячменя обыкновенного *H. vulgare* L., что позволило выявить сортовые особенности влияния ИИ с разной плотностью ионизации. Диссертант излагает основные этапы, описывает условия облучения и источники радиации, способ тестирования, временные этапы отбора биоматериала и его пробоподготовку, методики анализа и методы статистической обработки экспериментальных данных.

Комплекс методик, применяемое оборудование, статистическая обработка результатов измерений дает возможность сделать заключение о высоком методическом уровне представленной диссертационной работы и получении достоверных результатов.

В 3 главе «Результаты и обсуждение» в разделе 3.1 выявлены существенные качественные и дозозависимые различия в особенностях влияния редко- и плотноионизирующего излучения на морфометрические показатели. Стимулирующий эффект гамма-облучения для главного корня и ростка в дозах 15 и 20 Гр показан для всех трех сортов ячменя, доза 50 Гр ингибировала осевой рост. Ингибирующий эффект протонов выявил различия в чувствительности корня и ростка (большая у корня) и сортовые различия по радиочувствительности корня при дозах 10 и 15 Гр. Облучение ионами ^{12}C в диапазоне доз 1–6 Гр не привело к изменению морфологических показателей у ячменя обыкновенного трех сортов. Более высокая устойчивость побега к ионизирующему излучению объяснена автором по литературным данным тем, что эти части имеют более мощную антиоксидантную систему, предназначенную для защиты зеленых тканей растения от АФК, образующихся в процессе фотосинтеза.

В разделе 3.2. влияние различных видов ИИ оценивалось по биохимическим показателям: по содержанию в 10-ти суточных проростках фотосинтетических пигментов и низкомолекулярных стрессовых метаболитов свободного пролина и МДА. На Рис 7-9 в рукописи диссертации продемонстрировано дозозависимое изменение содержания основных фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов) под

действием гамма-облучения с ингибирующим участком (при дозах 2–5–10 Гр в зависимости от сорта), стимулирующим пиком (15–20 Гр) и плавным снижением при дозах выше 25 Гр. Полученные автором данные демонстрируют сложный нелинейный вид дозовой кривой, напоминающий известную зависимость «эффектов малых доз» по показателям выживаемости клеточного уровня, отражающую феномены гиперрадиочувствительности и индуцированной радиорезистентности. Автором установлены принципиальные отличия эффектов протонного и тяжелого корпускулярного облучения ионами ^{12}C от последствий воздействия гамма-квантов. Наблюдается отчетливое дозозависимое снижение содержания фотосинтетических пигментов у проростков всех трех исследуемых сортов ячменя. Различия влияния редко- и плотноионизирующих видов радиации объясняются с классических позиций радиобиологии о вкладе механизмов прямого (с прямым поражением молекул-мишеней) и косвенного (развитие оксидативного стресса) действия радиации. В подразделах 3.2.2 и 3.2.3 рассмотрено изменение содержания низкомолекулярных молекул: многофункциональной аминокислоты пролина и индикатора процесса ПОЛ МДА. При действии гамма-излучения и протонном облучении выявлен общий тренд на значимое повышение содержания свободного пролина и показан при этом нелинейный вид дозовой кривой, схожий с зависимостью содержания фотосинтетических пигментов. Дозы 15 и 20 Гр рассмотрены автором как адаптирующие, а влияния облучения ионами ^{12}C на содержание пролина не выявлено. Объяснение, предложенное автором, связывает полученные закономерности с развитием комплекса процессов, инициированных поражением мембран и изменением уровня сигнальных молекул.

Значимое повышение уровня МДА происходит при гамма-облучении с нелинейной дозовой зависимостью, при этом дозы 15 и 20 Гр удерживает МДА на уровне с контрольными значениями, что может говорить об адаптации за счет нормализации процесса ПОЛ. Влияния плотноионизирующего излучения на содержание МДА не выявлено, как в случае применения протонного излучения, так и для тяжелых ионов. Для объяснения эффектов при взаимодействии протонов и тяжелых ионов с веществом-поглотителем диссертантом предложено учитывать особенности размена энергии и локализацию участка с наибольшей плотностью ионизации в соответствии с кривой Брега.

В разделе 3.3 изменение генетических характеристик показано на примере цитогенетических индексов и показателей транскрипционной активности генов стрессового ответа. Гамма-облучению не влияло (кроме 50 Гр) на митотическую активность, а протонное облучение, напротив, в диапазоне чувствительности показателя «митотический индекс» оказывало значительный митотоксический эффект. Различия во влиянии видов радиации выявлены и по индексу общей частоты и спектру aberrаций хромосом. Согласно рисункам 25, 27 и 28 частота aberrаций в корнях суточных проростков в ряду факторов «гамма-лучи – протонное облучение – тяжелые ионы ^{12}C » дозозависимо возрастала относительно контроля в диапазоне испытанных доз до 40–60–15%% соответственно. В случае редкоионизирующего излучения эффект представлен в основном отставаниями хромосом, плотноионизирующее излучение проявляло также кластогенный эффект с формированием мостов и фрагментов.

Анализ транскрипционной активности в условиях облучения радиацией разного биологического качества выполнен на примере трех генов стрессового ответа: гена, кодирующего мембранный белок PM19L; гена, кодирующего хлорофилл аб-связывающий белок; и гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в зародыше семени на 1 сутки роста и в частях проростка на 7 сутки. Результаты свидетельствуют, что различный уровень экспрессии генов в зародышах ячменя проявляется в зависимости от вида радиации: гамма-облучение в диапазоне до 50 Гр усиливало экспрессию генов, кодирующих хлорофилл аб-связывающий белок и пролил-тРНК синтетазу, особенно эффект проявлялся при воздействии на 1 сутки проращивания. Особый интерес при этом вызывает (рис. 29) области стимулирующих экспрессию доз: для гена *HORVU5Hr1G125450*, кодирующего мембранный белок PM19L в диапазоне 10–15 Гр, а для гена *HORVU2Hr1G057880*,

кодирующего пролил-тРНК синтетазу в диапазоне 15–20 Гр. Напротив, по экспериментальным данным видно, что плотноионизирующая радиация (протоны и тяжелые ионы) снижали или не изменяли уровень транскрипционной активности изучаемых генов (за исключением активизации протонами в односуточных проростках экспрессии генов, кодирующих фермент пролил-тРНК синтетазу и мембранный белок РМ19L). Существенно, что выраженность экспрессии генов существенно изменялась в зависимости от времени облучения объекта. Можно заключить, что экспрессия генов дифференцировалась в зависимости от фазы развития, которая попадала под облучение на 1 или 7 сутки проращивания. Для объяснения полученных результатов с учетом литературных данных диссертант анализирует вовлеченность метаболитов-продуктов генов в процессы, связанные с формированием радиационно-индуцированного ответа растения на разных фазах прорастания семени. Так функциональные последствия дифференциации транскрипционной активности рассмотрены на примере взаимосвязи уровня экспрессии гена *HORVU2Hr1G057880*, кодирующего пролил-тРНК-синтетазу, с изменением содержания свободного пролина, а усилением экспрессии гена *HORVU2Hr1G040780*, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок, объясняется зафиксированное в эксперименте увеличение содержания фотосинтетических пигментов. Обсуждая в комплексе результаты измерения величины митотического индекса и ростовых показателей при воздействии гамма-излучения (15–20 Гр) диссертант опирается на литературные данные о гормонально-опосредованных сигнальных путях стимуляции ростовых процессов с участием группы ауксинов и предполагает включение механизма «кислого роста» за счет растяжения для объяснения экспериментально обнаруженных эффектов.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени.

Анализ рукописи и автореферата диссертации, тематики конференций и научных публикаций автора по теме диссертационной работы свидетельствует о том, что диссертация написана лично автором. Вклад диссертанта включает определение цели и задач исследования, обосновании методического аппарата, планирование общей схемы исследований, получение экспериментальных данных, их статистическую обработку и интерпретацию с учетом анализа материалов из литературных источников, формулировку выводов. Используемый диссертантом комплексный подход к изучению эффектов редкоионизирующего и корпускулярных плотноионизирующих излучений, выполненные на высоком методическом уровне эксперименты с использованием современного лабораторного оборудования, статистический анализ полученных данных с использованием актуальных программных средств свидетельствуют о том, что научная квалификация соискателя соответствует ученой степени кандидата биологических наук.

Замечания по диссертации.

1) При обсуждении результатов автор обоснованно отмечает роль гормонально-опосредованных сигнальных путей в реализации радиационно-индуцированного отклика растительного организма. Однако в обзоре литературы не уделено должного внимания гормональной системе растений, играющей важную роль в адаптивных реакциях организма растения при воздействии ионизирующей радиации.

2) В методической части диссертации автор подробно фиксирует время (в сутках) отбора биологического материала. Желательно в этом разделе описать признаки, характеризующие фенологическую фазу развития проростка на время отбора, что полнее дает представление о включении различных сигнальных путей в регулирование метаболических процессов роста и развития зародыша семени и частей проростка.

3) По ряду показателей в эксперименте не выявлено влияния на проростки ячменя облучения тяжелыми ионами ^{12}C . Можно ли связать полученные результаты с условиями облучения (внешнее) и проникающей способностью ускоренных до начальной энергии в 450 МэВ/нуклон тяжелых ионов. Имеются ли в литературе данные о величине пробега в воде/биологических тканях ионов ^{12}C , ускоренных до таких энергий?

4) Содержание пигментов представлено в мг/г сырой массы проростков. Имеется ли методическая возможность получить данные (возможно пересчетом) на воздушно-сухую биомассу? Насколько степень обводнённости тканей проростка зависит от сортовых особенностей и может ли это повлиять на оценку содержания пигментов?

5) В разделе «заключение» и при обсуждении результатов автор «выстраивает цепочку взаимосвязанных эффектов в ответ на действие ионизирующего излучения», опираясь на сравнительный анализ изменения морфологических, биохимических и генетических показателей в определенных интервалах доз. Для более обоснованного заключения о взаимосвязанности процессов можно порекомендовать при рассмотрении сопряженности изменения показателей использовать непараметрический вариант корреляционного анализа.

6) При обсуждении результатов фразы типа «статистически значимо усиливается» «значительно превышало» «снижался незначительно» и т.п. желательно анализировать количественно, с указанием на/во сколько раз, что облегчает понимание текста без обращения к цифровому материалу таблиц и рисунков. В значительной степени эта рекомендация относится к рисункам 29–31, показывающим относительное изменение уровня экспрессии генов при гамма-облучении на 1 и 7 сутки проращивания, где величины на шкалах различаются на два порядка.

7) Формат данных о спектре хромосомных aberrаций в таблице 1 представлен в виде долей с избыточной точностью (четыре знака после запятой) и не соответствует формату величин в тексте, представленному в %%, что затрудняет восприятие цифрового материала таблицы.

8) На стр.66 при рассмотрении спектра aberrаций при воздействии гамма-излучения, полученные результаты сравниваются с эффектами свинца, который охарактеризован как «мощный окислитель». По моему мнению, автор несколько вольно трактует механизм токсического действия этого тяжелого металла, одно из проявлений которого связано с индукцией окислительного стресса в клетках растений за счет повышения количества АФК.

Высказанные замечания носят в основном рекомендательный характер и касаются формы представления данных. Они не меняют общего положительного впечатления от представленного диссертационного исследования, не затрагивают его основных выводов, защищаемых положений и не снижают оценку.

Соответствие диссертации специальностям и отрасли науки.

Основные результаты, научная новизна, цели и задачи диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.1. «Радиобиология» (биологические науки). Работа охватывает следующие направления в соответствии с пунктами паспорта специальности: исследования закономерностей биологического ответа на воздействие ионизирующих излучений (п.2.); механизмы действия ионизирующих излучений на ДНК, РНК, белки и клеточные мембраны и механизмы радиационного гормезиса (п.5); количественные оценки биологического действия излучения и особенности биологического действия малых доз облучения (п.7); исследования в области радиобиологии растений, влиянии ионизирующих излучений на растения (п.12) и сельскохозяйственной радиобиологии (п.14).

Соответствие оформления диссертации предъявляемым требованиям.

Диссертация соответствует требованиям Положения «О присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842) (пп. 9–14). Текст работы соответствует графическому и табличному материалу, который отражает суть представленных экспериментальных данных, соответствует специальности и отрасли науки, по которой диссертация представлена к защите.

Заключение. Диссертационная работа Афониной Светланы Олеговны на тему: «Оценка влияния редко- и плотноионизирующего излучения на морфологические, биохимические и генетические показатели пророщенных семян *Hordeum vulgare* L.» выполнена на высоком методическом уровне, является самостоятельной, завершенной научно-квалификационной работой, в которой представлены новые экспериментальные

данные об особенностях влияния ИИ с различной величиной ЛПЭ на ранних этапах онтогенеза ячменя, расширяющие возможности технологии предпосевного облучения семян. Полученные результаты обогащают представления об адаптивных механизмах растений при воздействии плотноионизирующего излучения, что имеют значение для развития космической радиобиологии. Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.1 «Радиобиология» (биологические науки), отвечает требованиям Положения «О присуждении ученых степеней», а ее автор Афонина Светлана Олеговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.1 «Радиобиология».

Официальный оппонент:
старший преподаватель кафедры радиозэкологии
и экотоксикологии факультета почвоведения
МГУ, кандидат биологических наук

 В.В. Столбова

Почтовый адрес: 119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.24
Телефон +74959392508

Адрес электронной почты: vstol@bk.ru

Наименование организации:

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова», факультет почвоведения

«29» апреля 2026 г.

Подпись Столбовой В.В. заверяю:
Микулина Ю.А., ученый секретарь



Ю.А. Микулина