

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертационной работе **Жаркова Николая Александровича** «Характер проявления моносомного состояния хромосом в мейозе у *Triticum aestivum* L. и его связь с механизмами мейотических процессов», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология и 03.02.07 – генетика

Актуальность темы. Мейоз является основным механизмом, обеспечивающим преемственность поколений при половом размножении. В настоящее время исследование этого процесса вышло на новый уровень в связи с достижениями молекулярной цитогенетики и геномики. Изучение поведения хромосом в мейозе имеет как теоретическое значение – для познания фундаментальных аспектов размножения, так и практическое – для использования в селекционных программах по созданию новых сортов культурных растений.

Текст диссертации изложен на 277 страницах и состоит из введения, семи глав, заключения, выводов, библиографического списка, приложений. Диссертация включает 31 таблицу и 47 рисунков.

Во введении диссертант обосновывает актуальность исследования, формулирует цель и задачи работы, показывает новизну, теоретическую и практическую значимость. Целью исследований Н.А. Жаркова являлось выявление возможной связи между характером проявления моносомного состояния хромосом в мейозе и механизмами мейотических процессов у мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. Тема исследований актуальна, пшеница является важнейшей сельскохозяйственной культурой, поэтому работы по генетике этого вида ведутся во многих странах мира.

Диссертантом выносятся на защиту семь основных положений. Хочу отметить, что, во-первых, их очень много, а во-вторых, они сформулированы как выводы, причем некоторые из положений почти дословно повторяют выводы. Например, положение 1 повторяет вывод 1, положение 4 повторяет вывод 7, все остальные положения тоже в той или иной степени повторяют сделанные по работе выводы. Обычно на защиту выносятся небольшое число основных положений, которые доказываются по ходу защиты диссертации.

Есть и еще вопросы по введению. Непонятен смысл выражений: «**проведена идентификация хромосом по их вкладу в процессы синапсиса гомологов и гомеологов**» (с. 7); «**цитогенетические исследования отдельных признаков и свойств**» (с. 9). Не очень ясна цель – что значит «**выявление возможной связи...**»? Хотелось бы получить разъяснение от автора диссертации.

Глава 1 «Обзор литературы» (с. 13-62) посвящена анализу литературных данных по исследованию мейоза и клеточного цикла у различных организмов. Обзор состоит из двух подразделов: в первом приводятся данные о клеточном

цикле и митозе, во втором – о мейозе (морфология мейоза, генетический контроль мейотических признаков, специфика мейоза у пшеницы *Triticum aestivum*). Мягкая пшеница – аллогексаплоид ($2n=6x=42$, геном ВВААDD); образовалась в результате естественной гибридизации тетраплоидного и диплоидного видов. Геном мягкой пшеницы состоит из трех субгеномов – В, А, D, и разделен на 7 групп. В обзоре также рассматриваются гены, влияющие на конъюгацию хромосом, в том числе локус *ph1*, имеющий важное значение для генетического контроля мейоза пшеницы.

Автором проанализирован довольно большой объем литературы, из них большая часть иностранной, цитируются некоторые публикации последних лет и электронные ресурсы. Однако в описаниях клеточного цикла, митоза и мейоза приводится много общеизвестных фактов, останавливаться на которых не было необходимости. Это касается подробного описания фаз клеточного цикла, слишком много материалов приводится по далеким от растений объектам (дрожжи, дрозофила, позвоночные животные, человек), где есть своя специфика. Можно было не выделять в отдельный раздел обзор клеточного цикла и митоза, в котором содержатся базовые сведения об этих процессах. Необходимую информацию можно было бы дать в одном разделе, включающем клеточный цикл, митоз и мейоз, а там сконцентрироваться на новейших данных в этой области. Автор сам же пишет, что «**Митотическое деление клеток у растений и животных наиболее полно описали W. Flemming, 1882 и E. Strasburger, 1882**» (с. 22), а это XIX век!

Ссылка на публикацию Соорег, 2000 г. о стадиях (фазах) интерфазы не корректна, т.к. фазы были открыты намного раньше. Много ссылок на учебники и учебные пособия (Лобашов, 1967; Паушева, 1974; Ченцов, 2004), в некоторых из них есть устаревшие данные (Мэзия, 1963). При всем уважении к этим ученым, считаю ссылки на учебники совершенно неуместными для докторской диссертации. Рис. 1.1 почему-то приведен в главе, посвященной обзору литературы; если это фото автора, его место в экспериментальных главах. Автор использует мало литературных данных по изучению центромерных районов, микротрубочек, а также в целом мейоза и его регуляции у растений. В обзоре литературы явно не хватает современных данных по этим вопросам.

Остались также вопросы по некоторым терминам, которые использованы в обзоре. Что такое **В-берег**, который образуется у спирали L12 (с. 17)? Что означает выражение «**контрольно-пропускной пункт**» (с. 19). На с. 38 пишется, что за лептотеной следует пахитена, которая «характеризуется, прежде всего, максимальным развитием синаптонемального комплекса». На самом деле за лептотеной идет зиготена, в которой и происходит формирование синаптонемального комплекса. Что такое «**полулокализованное распределение хиазм**» (с. 39)?

В главе 2 (с. 63-66) описаны материал, условия и методика проведения исследований. В качестве объекта исследования использовался сорт яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553, выведенный в Сибирском НИИ сельского хозяйства. У этого сорта создана серия моносомных линий (21 линия, по всем хромосомам), которая легла в основу настоящих исследований. Кроме серии моносомных линий, использовались межвидовые гибриды пшеницы, полученные от скрещивания мягкой пшеницы *T. aestivum* с твердой *T. durum* (использовалось несколько сортов обоих видов).

Микроспороциты окрашивали ацетокармином по стандартной методике. При цитологическом анализе мейоза моносомных линий изучали метафазу I, анафазу I, диады, метафазу II, анафазу II и тетрады. У гибридов первого поколения изучали метафазу I, анафазу I, метафазу II, анафазу II и тетрады; у гибридов второго поколения – только метафазу I.

В главе 3 (с. 67-83) представлено описание серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553. В первом разделе этой главы кратко описана история получения серии моносомных линий Мильтурум 553, в создании которой принимал участие и автор диссертации. Кстати, созданию и изучению моносомных линий этого сорта посвящена кандидатская диссертация Н.А. Жаркова «Создание и использование новой серии моносомных линий сорта Мильтурум 553 в селекционно-генетических исследованиях» (защита состоялась 24 октября 1997 года на заседании совета 120.32.01 при Новосибирском аграрном государственном университете).

Во втором разделе главы описана морфология хромосом на стадиях метафазы I и анафазы II мейоза и приведены имеющиеся литературные данные по другим сортам мягкой пшеницы. Для изучения морфологии хромосом пшеницы автор использует препараты, сделанные на основе стандартных методов окрашивания. Эти методы не дают возможности идентифицировать большую часть хромосом в кариотипе, выявить дополнительные морфологические характеристики, такие как спутники и вторичные перетяжки. К настоящему времени хромосомы мягкой и других видов пшеницы хорошо исследованы с использованием современных методов кариологического и молекулярно-цитогенетического анализа, а автор об этом даже не упоминает и не использует эти материалы в своей работе.

В третьем разделе главы представлены результаты изучения разнообразия серии моносомных линий Мильтурум 553. Изучена морфология хромосом в гемизиготном состоянии на стадиях метафазы I и анафазы II. Установлено, что серия моносомных линий Мильтурум 553 наряду с общими закономерностями формирования анеуплоидных форм в самоопыленном потомстве имеет свои особенности. Здесь следовало бы конкретнее подчеркнуть, что нового получено по сравнению с данными E.R. Sears, который еще в середине прошлого века

провел детальные исследования моносомных линий, хотя и на другом сорте. Кроме того, возникает вопрос к автору: **куда же он относит моносомки, дисомки и нуллисомки, если «гипо- и гиперанеулоиды представляют иную ассоциацию» (с. 83)?**

В глава 4 (с. 84-114) рассматриваются вопросы проявления эффекта дозового состояния хромосом в метафазе I мейоза. Первая часть главы посвящена идентификации негомологичного синапсиса хромосом у сорта пшеницы Мильтурум 553, вторая – цитогенетическому контролю конъюгации гомологичных хромосом у мягкой пшеницы. Показано, что сорт Мильтурум 553 характеризуется стабильным прохождением мейоза; на стадии метафазы I образуется 21 бивалент с конфигурациями закрытого типа. У моносомных растений на этой стадии преобладали клетки, имеющие 20 бивалентов с нормальным синапсисом, и 1 унивалент. Наблюдались отдельные клетки с тремя и более унивалентами, а также с мультивалентами. Многие моносомные линии имели тот же уровень образования тетравалентов, что и исходный сорт. Отсутствие одной дозы хромосом 1В и 3В вызывало увеличение частоты образования тетравалентов, отсутствие одной дозы хромосомы 7D – снижение. В случае гемизиготного состояния хромосом 2А и 2D вместо тетравалентов формировались триваленты.

Значимым результатом Н.А. Жаркова являются факты подтверждения существования мейотических генов у многих хромосом пшеницы. И снова возникает вопрос: как проводилась идентификация отдельных хромосом в тетра- и тривалентах, если использовались ацетокарминовые препараты? Есть и другие вопросы по главе. Что означает термин «генофон» (с. 108)? На с. 114, последнее предложение, очевидно, должно быть: «Наибольший вклад в детерминацию мейотических признаков вносят хромосомы генома В (а не гена В, как написано у автора), наименьший – генома D»?

В главе 5 (с. 115-192) рассматривается характер поведения унивалента при мейотическом делении клеток у мягкой пшеницы. Первый раздел главы посвящен изучению специфики поведения унивалента в анафазе I. Выделено три типа поведения унивалента – униполярный, биполярный и аполярный. Соотношение их частот варьировало у разных линий; в главе эти типы рассматриваются весьма подробно. Во втором разделе описывается специфика формирования диад у серии моносомных линий сорта Мильтурум 553, в третьем – характер проявления моносомного состояния хромосом в метафазе и анафазе мейоза II. В метафазе II и анафазе II у моносомных линий преобладали нормальные клетки, но были и клетки с отброшенными хромосомами и хроматидами. Больше всего клеток с хроматидами зарегистрировано у растений, моносомных по хромосоме 5D, меньше всего – по хромосоме 2D. В результате формировались небольшое количество тетрад с микроядрами.

Надо было четче определить каким образом поведение унивалента в анафазе I связано с проявлением механизмов перехода хромосом от митоза к мейо-

- 5 -

зу и синапсисом гомологичных пар. В главе много пространных рассуждений о специфике поведения унивалентов в анафазе I, о поперечном делении центромеры, об униполярной ориентации; если бы это было короче, работа бы только выиграла. В работе нет рисунка 4.3в, на который автор ссылается на с. 122. Опять же хочу подчеркнуть, что ацетокарминовые препараты не дают возможности идентифицировать хромосомы, а без этого многие заключения бездоказательны. Не очень понятна предложенная автором «концепция разводящих нитей».

Глава 6 (с. 203-208) посвящена изучению вопросов, связанных с генетической функцией хромосомы 3D в определении стабильности прохождения отдельных фаз мейоза. Эта проблема рассматривалась в кандидатской диссертации Н.А. Жаркова. Результаты проведенных исследований позволяют только предполагать, но никак не утверждать о наличии гена или генов, контролирующих стабильность прохождения отдельных фаз мейоза. Никаких доказательств этому нет.

В главе 7 (с. 209-216) рассматривается асинаптический мейоз у межвидовых гибридов пшеницы *T. aestivum* и *T. durum*. При скрещивании мягкой пшеницы с твердой гибриды F₁ в метафазе I имели 14 бивалентов и 7 унивалентов. Гибриды F₂ представляли собой популяцию растений в разном уровне плоидности. При этом выщеплялись формы, имеющие в метафазе I от 21 до 14 бивалентов и от 0 до 7 унивалентов. Данные по асинаптическому мейозу интересны, но требуют дальнейших исследований с использованием современных молекулярно-генетических методов.

Завершают диссертационную работу заключение и выводы (с. 217-226). В заключении подводятся итоги исследований, проведенных автором. Автор делает заключение, что использование полной серии моносомных линий пшеницы открывает большие возможности в изучение мейоза. Это действительно так, но необходимо использование других методов исследования. Н.А. Жарков пишет, что ему удалось выявить наличие гена ингибитора синапсиса гомологов в хромосоме 6A и этот факт подтверждается литературными данными. На самом деле все наоборот – данные автора подтверждают уже полученные ранее и опубликованные в литературе данные.

Анализ анафазы I у моносомных растений показал, что характер поведения унивалента на этой стадии подчиняется тем же законам, как и при обычном эуплоидном состоянии. А разве были сомнения в этом?

Вывод 1 о «переопределении генетических связей» непонятен.

Вывод 2 о том, что конъюгация хромосом контролируется большим количеством генов, не является новым и оригинальным. Здесь можно говорить о вкладе автора диссертации в изучение механизмов генетического контроля мейоза.

Вывод 10 о том, что хромосома 3D контролирует связь кариокинеза и цитокинеза во времени и пространстве соответствует выводу 7 в кандидатской диссертации, но здесь добавлена информация о наличии гена или генов, контролирующей эту связь.

Остальные выводы требуют экспериментального подтверждения.

Диссертация включает большой список литературы (с. 229-270), состоящий из 427 наименований, из них 348 работ на иностранных языках. Но при обсуждении своих результатов автором используются ссылки на старые публикации, а наука уже ушла далеко вперед.

В Приложениях приведены рисунки по варьированию морфологических признаков хромосом пшеницы Мильтурум 553 в метафазе I и анафазе II мейоза. Эти рисунки вполне можно было поместить рядом с рисунком 3.1, где представлена морфология хромосом пшеницы Мильтурум 553 в метафазе I и анафазе II мейоза. Кроме того, в Приложения помещены авторское свидетельство на изобретение, полученные Н.А. Жарковым «Способ получения растений с двумя замещенными хромосомами» и два удостоверения на рационализаторские предложения: «Способ удаления пыли с поверхности линз световых микроскопов» и «Прибор для мойки предметных стекол». Здесь требуется уточнение по отношению к замещенным хромосомам – что это за хромосомы?

Материалы диссертации Н.А. Жаркова прошли апробацию на ряде совещаний и конференций. Желательно было бы иметь среди них больше крупных международных конференций, а не только региональные и научно-практические. И уж совсем несерьезно считать апробацией доклад на заседании диссертационного совета Д.120.32.01 при Новосибирском государственном агроуниверситете в 1997 г., по всей вероятности, связанный с защитой кандидатской диссертации.

Основные результаты диссертации Н.А. Жаркова отражены в имеющихся публикациях. В журналах из перечня ВАК РФ по теме диссертации опубликовано 10 работ («Цитология и генетика», «Цитология» и «Современные проблемы науки и образования»), получен один патент на изобретение. Таким образом, формально число публикаций, необходимых для докторской диссертации, у автора имеется. Тем не менее журнал «Современные проблемы науки и образования» не является профильным и авторитетным по защищаемым специальностям. Хотелось бы видеть статьи Николая Александровича в таких авторитетных журналах, как «Генетика», «Цитология», «Вавиловский журнал генетики и селекции», а также в зарубежных рецензируемых журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Общие замечания и недостатки работы:

Ни в диссертации, ни в автореферате, не отражен личный вклад автора в работу.

В тексте много очень длинных абзацев – на целую страницу и более, что очень затрудняет чтение диссертации. Встречаются невыправленные опечатки. Словосочетание «**несмотря на**» часто пишется с отдельной частицей «**не**» (не смотря, с. 5, 69). На с. 85 упоминается «**менделеевское расщепление**», очевидно все-таки речь идет о «**менделевском**».

Автор постоянно по ходу всей работы пишет латинские названия своих объектов полностью и с авторами, описавшими вид (например, *Triticum aestivum* L., *Triticum durum* Desf.). Согласно современным ботаническим правилам, полное название с автором пишется только при первом упоминании, а потом дается родовое название сокращенно и без автора (*T. aestivum*, *T. durum*). У *Triticum timopheevii* видовое название пишется не с заглавной, а со строчной, маленькой буквы (с. 59).

В диссертации используются термины – «Математически доказуемые различия» (с. 79, 80), «математически доказуемый эффект» (с. 90), хотя на самом деле здесь больше подходит термин «статистически».

В таблице 3.2 и начиная с таблицы 4.1 и до 7.2. – при вычислении процентов приводятся две значащие цифры после запятой, хотя вполне хватило бы и одной.

В подписях к большинству рисунков не говорится на что указывают стрелки (рис. 4.1, 5.1-5.5, 5-14-5.18, 5-22, 5-32, 5-34, 6.1-6.2, 7.1, 7.4), не везде дано увеличение (рис. 5.1, 5-14).

Не следовало бы писать, что хромосомы являются носителями наследственной информации (с. 125); это выражение хорошо для популярной литературы, но не для диссертации по генетике.

Ссылки на литературу принято в тексте писать с инициалами, в скобках – без инициалов, а у автора часто бывает наоборот. В ссылках на литературу встречается нарушение хронологии: более поздние работы цитируются раньше, чем ранние (с. 27, 35, 37, 64 и многие другие страницы). Иногда нарушается хронология и в списке литературы, например, Н.П. Гончаров 1991 года приводится после Н.П. Гончарова 1992 года.

Работа изобилует непонятными терминами, которые не используются в русскоязычной литературе.

Часть результатов уже отражены автором в его кандидатской диссертации, совпадают некоторые выводы и табличные материалы.

В диссертационной работе Н.А. Жаркова «Характер проявления моносомного состояния хромосом в мейозе у *Triticum aestivum* L. и его связь с механизмами мейотических процессов» для решения поставленных задач используются устаревшие методы. В работе много умозрительных рассуждений, не опирающихся на конкретные факты, во многом повторяются результаты исследований других авторов. В связи с вышеизложенным считаю, что диссертационная работа Жаркова Николая Александровича не соответствует требованиям ВАК РФ,

предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор Н.А. Жарков не заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология и 03.02.07 – генетика.

Отзыв подготовила: Муратова Елена Николаевна
доктор биологических наук по специальности 03.02.01 – ботаника,
профессор, зав. лабораторией лесной генетики и селекции
Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии
наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН
660036, Красноярск-36, Академгородок, 50, строение 28,
Тел. (391)2494184, E-mail: elena-muratova@ksc.krasn.ru
<http://www.forest.akadem.ru>

Е.Н. Муратова

28.04.2018



Муратова

Муратова заверяю
Зав. лабораторией *Варшавская*