

ФАНО РОССИИ



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН)

ул. Губкина, д. 3, г. Москва, ГСП-1, 119991
Тел.: (499) 135-62-13, (499) 135-20-41
Факс: (499) 132-89-62

E-mail: iogen@vigg.ru
http: www.vigg.ru

03.05.2018 №112 -01-25/324

На № _____

«УТВЕРЖДАЮ»:
И.о. директора Федерального
бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И.
Вавилова
Российской академии наук,
д.б.н.

С.К. Абышев
« 03 » мая 2018 г.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН по диссертационной работе ЖАРКОВА Николая Александровича на тему «Характер проявления моносомного состояния хромосом в мейозе у *Triticum aestivum* L. и его связь с механизмами мейотических процессов», представленной к защите в диссертационном совете Д 003.011.01 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология и 03.02.07 – генетика

Актуальность темы диссертационной работы

Мейотическое деление – это ключевое событие в жизненном цикле эукариот, приводящее к образованию гаплоидных клеток и обеспечивающее постоянство числа хромосом в поколениях. С момента открытия изучению

мейоза, механизмов его регуляции, описанию особенностей прохождения у разных организмов были посвящены многочисленные исследования. Значительному прогрессу в понимании процессов, лежащих в основе мейоза, способствовали успехи в секвенировании и анализе геномов ряда микроорганизмов, животных и растений, а также разработка новых методов генетики и молекулярной цитогенетики, таких как флуоресцентная гибридизация *in situ* и иммуноцитохимический анализ клеток, а также совершенствование самой микроскопической техники.

Особое место в подобных исследованиях занимают работы по изучению мейоза мягкой пшеницы - аллогексаплоида, содержащего три набора генетически родственных (гомеологичных) хромосом. У пшеницы выявлена сложная система генетического контроля мейоза. Впервые один из генов, контролирующей правильное прохождение мейоза у пшеницы - *Ph1*, был идентифицирован М.Окамото в 1957 г. В дальнейшем этот, а также другие мейотические гены пшеницы активно изучали в разных лабораториях мира, однако до сих пор некоторые вопросы генетического контроля мейоза остались до конца не раскрытыми.

Поскольку мягкая пшеница является гексаплоидом, утрата одной из гомеологичных хромосом в большинстве случаев не приводит к гибели растений. «Буферность генома» служит основой для создания анеуплоидных линий, которые широко использовались и до сих пор используются в генетических исследованиях пшеницы. Первая серия анеуплоидных линий мягкой пшеницы сорта Чайниз Спринг была получена и детально охарактеризована Е.Р. Sears, который обобщил полученные им результаты в статье «Анеуплоиды мягкой пшеницы» (*The aneuploids of common wheat*, 1954). Позже анеуплоидные серии были получены и на других сортах *T. aestivum*: по данным Т. Worland, на 1988 год в мире насчитывалось порядка 70 таких серий, в т.ч. 14 российских. В свете вышеизложенного, **диссертационная работа ЖАРКОВА Николая Александровича**, выполненная на созданной им серии моносомных линий яровой мягкой пшеницы сорта Мильтурум 553, представляется **актуальной**.

Диссертация Н.А. Жаркова начинается с раздела «Введение», в котором дается краткий обзор состояния проблемы, определяются цель и задачи, а также предпринимается попытка обоснования научной новизны, теоретической и практической значимости работы, положений, выносимых на защиту, указан личный вклад автора и приведены сведения об апробации

работы и числе публикаций. Всего в диссертацию вошли 18 работ, в том числе 10 в рецензируемых журналах из списка ВАК, однако не все статьи соответствуют специальностям диссертации. Цель исследования сформулирована не четко, не обоснована связь между характером моносомного состояния хромосом и механизмами мейотических процессов. Поставленные задачи не раскрывают сути работы, непонятно о каких мейотических процессах идет речь, механизмы которых должны быть вскрыты. Странно звучит фраза, что «Основные этапы исследования мейоза достаточно подробно изложены А.А. Прокофьевой-Бельговской... в 1975 (году)». За прошедшие 40 лет было получено много данных, раскрывающих механизмы мейоза и его генетический контроль, например: R. Mercier et al., 2015 (doi: 10.1146/annurev-arplant-050213-035923); C.J.R. Wang et al., 2014 (doi: 10.3389/fpls.2014.00497) и другие.

Глава Обзор литературы начинается с раздела «Клеточный цикл, митоз, мейоз», в котором рассматриваются стадии клеточного цикла и молекулярные механизмы его регуляции, описаны стадии митоза и мейоза и генетический контроль этих процессов. В целом обзор характеризуется перечислением литературных данных, относящихся к биохимическим и молекулярным процессам регуляции клеточного цикла – митоза соматических клеток, и минимально затрагивает мейоз – процесс редукционного деления и формирования гаметофита растений. Основные данные о цикле деления соматических клеток (не относящиеся к мейозу) излишне подробны и получены на таких объектах, как дрожжи, дрозофила, млекопитающие, человек. Они не имеют непосредственного отношения к диссертационной работе. Вместе с тем в обзоре отсутствуют ссылки на статьи, посвященные митозу у растений. Литература по анализу молекулярных процессов в контрольных пунктах вхождения и завершения клеточного митотического цикла не имеет непосредственного отношения к диссертационной работе.

Страницы 22-35 снова посвящены описанию митоза. Опять-таки странно звучит фраза «**Митотическое деление** клеток у растений и животных **наиболее полно** было описано W. Flemming (1882) и E. Strasburger (1882)». Это ссылки на работы, опубликованные 140 лет назад! Раздел обзора, где приводятся данные по формированию веретена деления в митозе, также избыточен данными, полученными не на растительных объектах (стр. 24).

Данные о том, что «Белки семейства кинезин-4 и -10...связывают вблизи находящиеся к хромосомам микротрубочки и перемещаются к их плюс-концу. В результате плечо хромосомы оказывается связано с плюс-концом, а минус конец – дистанцирован» не относится к растительной клетке, у растений такие данные не подтверждены (С. Zhu and R. Dixit, 2011 (doi: 10.1007/s00709-011-0343-9)).

По механизмам и процессу прикрепления кинетохоров к веретену клеточного деления использована информация по дрожжам и круглому червю *C. elegans*, которая имеет мало отношения к расхождению хромосом у растений (стр. 29-35). При этом работ по изучению структуры центромерного района хромосом растений много, написаны обстоятельные обзоры, например, Lermontova et al., 2015 (doi: 10.1111/trj.12875), но в диссертации нет упоминания этих статей.

Основная часть Обзора литературы посвящена мейозу, что определяется темой самой работы. В частности, описаны стадии мейоза, приведена информация о его молекулярных механизмах и генетическом контроле, рассмотрены особенности мейоза у мягкой пшеницы. В этой части обзора также много неточностей и ошибок.

Высказывание: «В прелептотене наблюдается своеобразная укладка хромосом в виде «прохромосом» у животных и стадия профазной спирализации (spiral prophase stage) у растений. Данное состояние хромосом сменяется их полной деконденсацией в лептотене» не подкрепляется ссылкой на источник.

«Лептотена, или стадия тонких нитей, во многом напоминает состояние хромосом в ранней профазе митоза» (стр. 36). Смысл данного предложения непонятен, так как лептотена является ранней стадией профазы мейоза, а в прелептотене, согласно мнению автора диссертации, хромосомы «спирализованы». Существует путаница в понимании процесса конденсации хромосом в профазе мейоза.

Стадия зиготены не является началом «сворачивания хромосом в спираль», этот процесс начинается раньше (стр. 36).

стр. 38. После **лептотены** наступает стадия **зиготены**, а не **пахитены**. Именно во время зиготены происходит формирование СК.

Стр. 42 опечатка микрогамитогенез.

Раздел 1.2.2 в основном пересказывает главу И.Н.Голубовской из книги «Цитология и генетика мейоза» 1975 г. Современные работы по регуляции

мейоза у растений, например упомянутые выше R. Mercier et al., 2015 (doi: 10.1146/annurev-arplant-050213-035923); C.J.R. Wang et al., 2014 (doi: 10.3389/fpls.2014.00497) диссертантом не рассматриваются.

В разделе 1.2.3 практически отсутствуют современные данные, не упоминаются работы группы G. Moore, в которой провели тщательный анализ локуса *Ph1* и механизмов его функционирования (например, Griffiths S. Et al., 2006 (doi: 10.1038/nature04434); Al-Kaff N. et al., 2007 (doi: 10.1093/aob/mcm252); Moore G. Early stages of meiosis in wheat- and the role of *Ph1*, Genetics and Genomics of the Triticeae, 2009 и другие). Кстати, этот локус, как и локус *Ph2*, должен писаться *курсивом*.

Ряд использованных в Обзоре литературы терминов в русскоязычной литературе не используется, а понять смысл некоторых фраз невозможно. Они представляют собой *подстрочный, лишенный смысла перевод из иностранного источника - примечание рецензентов*). Так, например:

Стр. 16: АТФ-связывающим участком...киназ является **расселина**...

Стр. 17: «Одна из них, спираль L12, которая прибывает как раз перед Т-петлей в начале последовательности оснований, становится **β -берегом** и помогает перестроить Т-петлю...». Ниже: «Одной из киназ, которая имеет **фосфат тирозина**...?» «Анализ кристаллической структуры CDK6-INK4 комплекса показал, что закрепление INK4 скручивает CDK и тем самым искажает закрепление циклина и деятельность киназы?»

Стр. 19: «Когда повреждение найдено, **контрольно-пропускной пункт** использует механизм сигнала для того чтобы остановить клеточный цикл, пока проводится **ремонт** или, если ремонт не может быть осуществлен, чтобы разрушить клетку через апоптоз», и так далее. Но всё это выписанное из литературы о митозе не имеет отношения к мейозу и экспериментальным данным диссертации.

Стр. 28: «У почкующихся дрожжей центромера определяется в пределах 125 последовательностей bp (basepair) ДНК. У высших эукариотов количество **последовательностей нуклеотидных пар** намного больше (примерно около 1 Mbp) и состоит в основном из **повторных** элементов...»; «Кинетохоры многоклеточных организмов собраны из **повторных подъединиц** ..., где каждое **повторение** могло бы отразить модуль единицы кинетохора дрожжей».

Стр. 29: «сбор белка на кинетохорах зависит от **многих ветвей** и является **взаимосвязанным**».

Стр. 32: «Увеличение **соотношения микротрубочек к противоположным полюсам** – основа для второго механизма...»

Стр. 33: «неприкрепленный кинетохор – предлог, чтобы преобразовать **цитозольный бассейн Mad2** в форму, которая может изолировать Cdc20...»

Смысл текста на стр. 34 не понятен: «Aurora В граничит с внутренней центромерой, а ее **противостоящая фосфатаза локализована на внешнем кинетохоре...** Это позволяет Aurora В производить **фосфорилирование, происходящее от центромеры.** В **отсутствии высокой напряженности** она в состоянии достигнуть своих кинетохорных оснований, которые приводят к дестабилизации кинетохорных микротрубочек», и т.д.”.

Стр. 45: в молекуле белка или в белковых комплексах нет **терминалов** (стр. 45). Как понимать фразу «Перестановка же кинетохор с мейотического (редукционного) на митотическое (эквационное) в мейозе II требует их **приложения к веретену**»? Что такое «**трехмерная проблема конъюгации**» (стр. 37)? Что такое «**полулокализованное**» распределение хиазм (стр. 39)? Нет термина «**количественный состав хромосом**», **центромеры не могут распадаться на гомологичные пары!** Диплоидная пшеница называется *Triticum urartu* (стр. 53). Как понимать «Первоначально происхождение генома D отработывалось на аналогии *T. spelta*» (стр. 54)?

Большинство приведенных в обзоре литературы данных далее в диссертации не используются. Сам раздел не дает четкого представления о проблеме исследования, которой посвящена диссертационная работа. Нет четкого обоснования необходимости проведения работы и ее приоритетов.

В главе 2 подробно рассмотрены особенности сорта Мильтурум 553 и описана история создания моносомных линий (эти результаты уже вошли в кандидатскую диссертацию Н.А. Жаркова «Создание и использование новой серии моносомных линий сорта Мильтурум 553 в селекционно-генетических исследованиях», защищенную 24 октября 1997 года на заседании диссовета 120.32.01 при Новосибирском аграрном государственном университете). Не понятен смысл ссылки диссертанта на разработанный им способ очистки оптики (стр. 64), который не имеет непосредственного отношения к теме работы. Н.А. Жарков также ссылается на разработанный им метод «получения растений с двумя замещенными хромосомами (А.С. 1009349)», однако в тексте диссертации не поясняется, в чем именно состоит суть этого метода? Не понятно, что подразумевается под «двумя» хромосомами – это пара гомологичных хромосом или две негомологичные хромосомы?

В начале раздела 3.2 Экспериментальной части написано, что «Первые исследования морфологии хромосом... позволили разделить хромосомный набор *Triticum aestivum* L. на три генома». Однако на **невозможность точной идентификации монохромно окрашенных хромосом** указывал еще E. Sears (1954). Это подтверждают и данные самой диссертации: на метафазных хромосомах, показанных на рисунке 3.1, нельзя определить положение центромеры, «анафазная» 3А по длине существенно меньше 1А, а 1А морфологически неотличима от 4В! В этой части диссертации **вообще не упоминаются современные работы, выполненные с использованием дифференциального окрашивания или метода FISH**, которые позволяют точно идентифицировать все хромосомы в митозе или мейозе. Метод цитогенетического анализа, использованный в диссертации, **необратимо устарел и непригоден для идентификации хромосом и их ассоциаций**.

Отдельно следует обсудить вопрос о трактовке «спутничных» хромосом. Автор так называет все хромосомы, содержащие вторичную перетяжку, независимо от наличия в ней локусов рДНК генов. Методом гибридизации *in situ* J. Jiang и B.S. Gill 1994 (doi: 10.1007/BF00368010) определили хромосомы, содержащие кластеры рДНК, и предложили символы для их обозначения (работа в диссертации не цитируется). У мягкой пшеницы **спутники** есть только на хромосомах 1В и 6В, несущих мажорные локусы рДНК. Дополнительные рДНК локусы, не образующие вторичную перетяжку, выявлены на хромосомах 1AS, 3DL, 5DS, 5AL, 7DL и 1BL. Говорить о наличии **деяти пар спутничных** хромосом у сорта Мильтурум 553 **ошибочно и не соответствует действительности**.

В разделе 3.3 излагаются результаты работы, проделанной автором с целью получения серии анеуплоидных линий и анализа передачи моносом при самоопылении. Часть этих результатов уже вошло в кандидатскую диссертацию Жаркова, а таблица 3.2 докторской диссертации (стр. 78) практически полностью повторяет таблицу 1 автореферата кандидатской (стр. 6). В таблице 3.4 дано недопустимое название колонки «**Использование...(1976)**» (стр. 81). На стр. 83 написано: «**Моносомики, дисомики, нуллисомики** и ...можно отнести к одной совокупности форм...Совсем иную ассоциацию представляют **гипо-** и **гиперанеуплоиды**». Н.А. Жарков не понимает терминологии, о которой пишет: моносомики и нуллисомики как раз и являются **гипоанеуплоидами**. Результаты, приведенные в этом разделе, показали особенности моносомных линий,

полученных на основе сорта Мильтурум 553, и выявили зависимость передачи моносом от генотипа сорта пшеницы и от конкретных хромосом. Эти результаты **не являются принципиально новыми**, поскольку сходные данные уже были опубликованы Сирсом в 1954 г, а позже и другими авторами, изучавшими этот вопрос.

Во вводной части к главе 4 диссертант перечисляет пять методов цитогенетического анализа пшеницы, ссылаясь на работу 1971 г. **Информация значительно устарела:** с того времени количество методов цитогенетического анализа пшеницы значительно увеличилось!

В разделе 4.1 приводятся данные по анализу мейоза у моносомиков и исходного сорта пшеницы. Здесь диссертант использовал только монохромное окрашивание, а с помощью этого метода **идентификация хромосом** в мультивалентах (например, 2A-2D, стр. 86 или 6A-6D, 7A-7D, стр. 89) абсолютно произвольна. Таким образом, заключение: «В связи с тем, что, как было показано выше, формирование мультивалентов ...связано с **синапсисом гомеологов**» (стр. 89) **экспериментально не доказано**. Более того, на микрофотографиях (рис. 4.1) четко видны только униваленты, а остальные хромосомы образуют конгломераты, в которых невозможно выделить би- или поливалентные ассоциации. **Низкое качество цитологических препаратов Н.А. Жаркова** неизбежно приводит к ошибкам в идентификации хромосомных ассоциаций и определении частот отдельных классов и искажает, таким образом, результаты статистического анализа.

При анализе цитогенетического контроля конъюгации гомологичных хромосом (раздел 4.2) автор исходит из предположения, что появление дополнительных унивалентов в мейозе моносомных линий обусловлено асинапсисом, что, однако, не подкрепляется экспериментально. Непонятно, что автор понимает под выражением: «**Среди кольцевых бивалентов наблюдались конфигурации хромосомных пар открытого типа**» и затем «**открытых кольцевых бивалентов**» (стр. 92, 93 и далее)? Кольцевые и открытые биваленты - это **взаимоисключающие конфигурации и понятия**. По какому критерию автор отличает «открытый кольцевой бивалент» от палочковидного? Введение несуществующих классов в базу для статистического анализа неизбежно **искажает результаты и ведет к неправильным выводам**. Что такое «уровень недостоверной значимости» (стр. 97)? Это – искажение общепринятых понятий статистического анализа.

Анализ анеуплоидных линий, в т.ч. моносомных, активно использовался и продолжает использоваться в мире для выявления новых (особенно рецессивных) генов и их локализации на хромосомах, включая гены мейоза. Это показано и в диссертационной работе Жаркова подтвердившего наличие генов, влияющих на синапсис, на многих хромосомах пшеницы. В современной литературе, однако, мы не нашли работ, в которых оценку «значимости» (хромосом) проводили только на основании «сохранения эффекта моносомии у сестринских дисомиков». Автор не приводит убедительных фактов в пользу правомерности своего подхода. Таким образом, заключение диссертанта: «По обобщенным данным...частоту образования асинаптических клеток у анализируемого сорта определяли 13 хромосом»...и так далее (стр. 112-114) является умозрительным и не подтверждается экспериментальными данными.

Из вводной части к главе 5 совершенно не понятно, какова связь между механизмами инициации мейоза и поведением унивалента в анафазе I? Почему «уникальным объектом для его расшифровки является серия моносомных линий»? Что такое «менделевский подход» к обработке...экспериментальных данных (стр. 116)? Как понимать фразу «По классификации, разработанной Э. Сирсом (1952), у анализируемого (кем?) материала встречались все выделенные им классы...»? Некорректно формулировка заголовка столбца: «с унивалентом/ хроматидами (количество клеток)» в табл. 5.3. Цитологические препараты, представленные на рис. 5.3 и 5.32, низкого качества не дают возможности однозначно оценить характер разделения унивалента, что ставит под сомнение достоверность результатов работы. В работе отсутствует рис. 4в (стр. 122). На стр. 122 диссертант утверждает, что «поперечный разрыв центромеры на уровне целой хромосомы» у сорта Мильтурум 553 проявляется довольно часто, тогда как у Чайниз спринг – в единичных случаях. На стр. 125 утверждается прямо противоположное: «акт поперечного деления центромеры унивалентной хромосомы у Мильтурум 553 происходил значительно реже...(чем) у сорта Чайниз Спринг».

На стр. 126-127 автор пишет: «При сопоставлении экспериментальных данных ... (табл. 5.1 и табл. 5.2) видно, что... к концу анафазы I происходило увеличение количества клеток без отставаний. Исключение составила только 1D хромосома...Такое явление могло быть обусловлено асинхронностью функции кинетохорных нитей веретена деления...» - утверждение чисто

умозрительное. Фактически не доказано, что «относительной автономностью коордации связи центромер с полюсом обладает один из гомологов, в то время как второму гомологу для этого требуется наличие партнера (стр. 131)», как и что «смена полюсной ориентации одного из гомологов определяет синапс хромосом» (стр. 132). Рассуждения диссертанта о том, что «способность унивалента с частотой около 50% устанавливать униполярную ориентацию ...предполагает наличие связи хромосом с зоной исходного полюса в предмейотический период» **необходимо подтверждать иммуноцитохимическим и FISH анализом**, чего сделано не было. Экспериментальные данные, полученные в ряде зарубежных лабораторий с помощью 3D иммунофлуоресцентного окрашивания и FISH, показали, что для нормального формирования бивалентов и сегрегации хромосом в мейозе растений необходимо взаимодействие **ДВУХ АКТИВНЫХ** центромер (J. Zhang et al., 2013 (doi: 10.1105/tpc.113.117846) или Sepsí A. et al., 2016 (doi:10.1111/tpj.13379, первая работа цитировалась диссертантом!). Таким образом, предложенная диссертантом концепция «разводящих нитей» противоречит имеющимся фактам.

Стр. 157-158: **ассоциации центромер** гомеологичных хромосом не являются **МУЛЬТИВАЛЕНТАМИ**. Что значит «**приложение**» хромосом к веретену и далее «**не расположение кинетохор на центромере**»? **Низкое качество** рисунка 5.16 (стр. 165) **не позволяет** разглядеть микротрубочки или определить факт взаимодействия кинетохорных микротрубочек с полюсными. Микротрубочки – структуры субмикроскопические: это молекулы тубулина, соединенные тандемно и видимые только при разрешающей способности электронного микроскопа, который Н.А. Жарков не использовал. Элементарно грамотный в клеточной биологии специалист, работающий со световым микроскопом, может говорить только о нитях веретена, являющихся комплексами параллельно лежащих микротрубочек.

На рис. 5.22 (стр. 175) также нельзя отличить отстающие хромосомы от отстающих хроматид. В современной научной литературе нет термина «**отброшенная хромосома/хроматида**» (стр. 167 и далее). Рассуждения автора, изложенные на страницах 179-180, 200-202 не опираются на конкретные факты.

Глава 6 посвящена изучению роли хромосомы 3D в стабильности прохождения второго деления мейоза. Автор предполагает, что только по фенотипическому проявлению признака, представив и описав

микрофотографии, он выявил у сорта Мильтурум 553 новый мейотический ген. Однако генетического анализа, необходимого для доказательства существования предполагаемого гена, не проводилось. В работе отсутствуют статистические данные, не использовались методы иммуноцитохимии и молекулярной биологии. Таким образом, говорить об идентификации «нового» гена и утверждать, что «функция хромосомы 3D связана с детерминацией точки контроля (checkpoint), определяющей взаимосвязь кариокинеза с цитокинезом во времени и пространстве», преждевременно и неправомочно.

По анализу мейоза у межвидовых гибридов пшеницы разного уровня ploidy (*Triticum aestivum* L. x *Triticum durum* Desf.) (глава 7) опубликовано достаточно много работ и полученные в диссертации данные в основном подтверждают результаты более ранних работ. Интересен случай выявленного диссертантом асинаптического мейоза у гибридов сорта Омская 36. Однако высказанная в диссертации гипотеза, что «у растений с асинаптическим мейозом формирование синаптонемального комплекса не нарушено и его образование определялось степенью соответствия взаимного расположения плеч гомологичных хромосом» не выдерживает критики, поскольку автор не проводил ни электронно-микроскопического исследования мейоза мутантных форм, ни иммунофлуоресцентного окрашивания с использованием антител к белкам СК. Говорить о выявлении нового гена (стр. 216) в данном случае также преждевременно, поскольку тесты на аллелизм известным генам не проводились.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ диссертации строится в основном на рассуждениях и убежденности автора в своей правоте и не подкреплены фактическими экспериментальными данными или ссылками на литературные источники. Единственная ссылка на современную работу, приведенная в разделе ЗАКЛЮЧЕНИЕ (стр. 218), как раз противоречит предположению диссертанта. Следует отметить, что в диссертационной работе в целом используются достаточно старые публикации. Так, из 427 источников, перечисленных в списке литературы, 267 опубликованы до 2000 г (из них существенная часть – в середине 50-60-х гг.). Большинство современных публикаций относится к разделу «Литературный обзор» и не имеют отношения к содержанию диссертации. Список литературы оформлен не по правилам; в частности, видовые названия, как и наименования генов должны

быть написаны *курсивом*, Фамилии некоторых исследователей в ссылках и списке литературы написаны с ошибками.

ВЫВОДЫ диссертации.

Вывод 1 не обоснован: в диссертации нет доказательств, что «Использование сестринских дисомиков в цитогенетических исследованиях может быть принято как способ, позволяющий устанавливать характер действия и взаимодействия генов, контролирующих мейотические признаки».

Вывод 2 не подтвержден собственными данными диссертанта. Никакие гены, тем более гены промоторы и гены ингибиторы, не подвергались генетическому анализу и все умозаключения автора, перечисленные в выводе, заимствованы из мировой литературы.

Вывод 3. Не вызывает возражений, но и не является новым для мировой литературы.

Вывод 4. Теоретическая частота отхождения унивалента в первом делении мейоза к одному из полюсов всегда равна 50 %. Такие утверждения нельзя вносить в выводы, а «пусковой механизм перехода хромосом от митоза к мейозу» - это запуск экспрессии первого из генов программы мейоза. У пшеницы это, возможно, контролируется еще не идентифицированным геном, гомологичным гену *ameiotic1* кукурузы. Ориентация центромер в метафазе I – это одно из последних, но не первых элементарных событий мейоза, управляемых специфическими генами мейоза, которых Н.А. Жарков не изучал. Вывод не состоятелен.

Вывод 5. Явление, которое диссертант называет «аполярным типом поведения унивалента в анафазе I» свидетельствует только о случайном отхождении унивалента к одному из двух полюсов деления. Всё остальное содержание этого вывода является предположением автора, ибо никакой «митотической ориентации» хромосом во время их синапсиса в ранней профазе I не существует. «Митотическая ориентация» хромосом прекращается, когда они вступают в профазу I мейоза: теломеры прикрепляются к ядерной мембране и возникает «фигура букета», характерная для мейоза. Эта закономерность для растений известна свыше 50 лет, а экспериментами Н.А.Жаркова не проверяется и не опровергается.

Вывод 6. На основе статистического исследования поведения унивалента (одной хромосомы) в анафазе I невозможно реконструировать

взаимодействие трех пар гомеологичных хромосом из семи генетических групп! В 1970-1980-е гг П. Хольмом методом электронной микроскопии (сотни серийных срезов!) были выполнены трехмерные реконструкции синапсиса гомологичных и гомеологичных хромосом пшеницы (P.V. Holm, 1986 (doi: 10.1007/BF02906837)). Две из этих работ есть в списке литературы диссертации, но ничего подобного тому, что постулирует Жарков в выводе 6, ни Хольмом, ни другими исследователями (Namant O., et al., 2006, doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105255) обнаружено не было. А это были прямые цитологические (морфологические) исследования. Таким образом, вывод 6 не доказан.

Вывод 7. Этот вывод сформулирован как «концепция», предлагаемая диссертантом, но его предположение не подтверждено экспериментально.

Вывод 8, вопреки заявлению Н.А Жаркова, не основан на его цитологических наблюдениях. В диссертации нет прямых наблюдений клеточного веретена в анафазе II. Вывод недостоверен.

Вывод 9 содержит декларативное заявление о «дифференциации хромосом по их геномной принадлежности» во время метафазы и анафазы второго деления мейоза. Оно не доказано экспериментально, ибо хромосомы гексаплоидной пшеницы в диссертации не идентифицировались на основе объективных критериев.

Вывод 10 не правомочен, ибо в работе нет доказательства наследования признака «связь цитокинеза и кариокинеза» в зависимости от наследования неизвестного гена, которым, якобы обладает хромосома 3D.

Вывод 11 не доказан. В работе не проводилось генетического анализа генов мейоза, тем более анализа на аллелизм.

Таким образом, **ВЫВОДЫ** диссертации либо повторяют уже известные данные, или непонятно сформулированы, или основаны только на личной убежденности диссертанта и не подтверждены экспериментально. В целом, выводы неправомочны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании изложенного выше можно заключить, что диссертация **ЖАРКОВА Николая Александровича «Характер проявления моносомного состояния хромосом в мейозе у *Triticum aestivum* L. и его связь с механизмами мейотических процессов»** не содержит принципиально новой информации и повторяет результаты других авторов. Используемые при выполнении исследований методы значительно устарели и не соответствуют

современным требованиям, в связи с чем ряд изложенных в диссертации результатов и сделанных на их основе выводов представляются необоснованными. При обсуждении полученных результатов были использованы в основном значительно устаревшие литературные источники. Полученные диссертантом данные в дальнейшем не могут быть рекомендованы для использования в научно-исследовательских или учебных институтах. Таким образом, диссертационная работа Жаркова Н.А. **НЕ соответствует** критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемого к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук.

Отзыв на диссертационную работу ЖАРКОВА Н.А. рассмотрен и одобрен на заседании совместного Семинара лаборатории цитогенетики и отдела генетики растений с участием сотрудников лаборатории генетики растений, лаборатории генетических основ идентификации растений и лаборатории молекулярно-генетических основ иммунитета растений Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Протокол № 262 от «28» апреля 2018 г.).

Отзыв составили

Ведущий научный сотрудник
Лаборатории генетических
основ идентификации растений
ИОГен им. Н.И. Вавилова РАН
доктор биологических наук

Бадаева Екатерина Дмитриевна

Главный научный сотрудник
Лаборатории цитогенетики
ИОГен им. Н.И. Вавилова РАН
доктор биологических наук,
Заслуженный деятель науки РФ

Богданов Юрий Федорович

Данные об организации:

Федеральное государственное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, адрес: 119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, д. 3; телефон: 499 135-62-13, электронный адрес: iogen@vigg.ru