

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Долматовой И.Ю. на диссертационную работу Рачковой Екатерины Николаевны на тему **«Ассоциации генов, связанных с молочной продуктивностью и резистентностью к маститу крупного рогатого скота»**, представленную в диссертационный совет Д 220.034.02 на базе ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных

Актуальность темы диссертационной работы

Внедрение в практическое животноводство генной диагностики (ДНК-диагностики) является актуальной задачей фундаментальной и прикладной биотехнологии, поскольку делает возможным дополнительно к традиционным методам отбора животных вовлекать в селекцию ценные с хозяйственной точки зрения варианты генов, связанные с продуктивными признаками.

В качестве генов-кандидатов, обуславливающих уровень молочной продуктивности коров, в первую очередь рассматриваются гены гормонов, и, в частности, пептидные гены пролактин и тиреоглобулин, которые необходимы для регуляции постнатального роста, углеводного, липидного, азотного и минерального обмена. Биологическое действие пролактина связано с репродуктивной функцией т.к. он стимулирует развитие молочных желёз и молокообразование в период лактации. Тиреоглобулин также играет важную роль в регуляции метаболизма и влияет на рост и дифференциацию клеток тканей и гомеостаз жировых отложений.

Гены белков молока в настоящее время также считаются удобными генами – кандидатами, обуславливающими технологические свойства молока, а по некоторым данным, и уровень молочной продуктивности. Полиморфизм гена β – лактоглобулина интересен с той точки зрения, что по данным ряда исследователей он оказывает влияние на жирность молока, а также отвечает за белкомолочность и показатель биологической ценности молока.

Однако степень влияния полиморфизма генов PRL, TG5, BLG на предрасположенность к маститу и их ассоциации с воспроизводительными качествами изучены недостаточно.

Работа Рачковой Е.Н. посвящена исследованию ассоциаций полиморфизма названных генов с молочной продуктивностью и воспроизводительными качествами коров голштинской породы и с этой точки зрения является достаточно актуальной.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Рачковой Е.Н. написана с соблюдением традиционной структуры и состоит из введения, обзора литературы и основного содержания работы, включающего разделы, в которых описаны

материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, заключения, включающего выводы и рекомендации производству, списка использованной литературы и одного приложения (акта результатов научно-хозяйственного опыта). Материал диссертации изложен на 115 страницах компьютерного текста, содержит 13 таблицу и 7 рисунков. Список использованной литературы включает 210 источников, в том числе 103 - на иностранных языках.

Во введении определены цели и задачи исследования, проведён анализ степени разработанности темы, что позволяет сформулировать актуальность проблемы, её новизну, теоретическую и практическую значимость.

Обзор литературы изложен на 40 страницах и состоит из 8 разделов. В первом разделе даётся краткая характеристика генетических и экологических факторов, влияющих на продуктивные признаки молочного скота, а во втором рассматривается возможность применения маркерной селекции в разведении крупного рогатого скота.

Следующие три раздела (1.3-1.5) посвящены обзору работ о современных методах молекулярно-генетической диагностики, и, в частности, метода ПЦР и его разновидности - ПЦР-ПДРФ, используемого в данном исследовании для выявления полиморфизма генов PRL, TG5 и BLG.

В разделах 1.6 и 1.7 рассмотрены работы о структуре и функциях изучаемых гормонов, а также исследования о полиморфизме кодирующих их генов. Завершается обзор рассмотрением воспроизводительной способности коров на эффективность селекции.

Анализируя данный раздел, хотелось бы отметить недостаточно полное освещение имеющихся в этой области работ, особенно работ отечественных учёных.

Материал и методы исследований описаны во втором разделе «Основное содержание работы» (стр. 41-47). В данном разделе приводятся сведения об объёме выполненных работ, объектах и методах исследования, которые соответствуют поставленным задачам.

В проведении исследования использованы зоотехнические методики постановки опыта, а также молекулярно-генетические и вариационно-статистические методы.

Эксперименты выполнены на достаточно большом материале (было генотипировано 184 коровы-первотелки из СХПК им. Ленина Атнинского района республики Татарстан).

При ознакомлении с данным разделом возникли некоторые замечания. Так, следовало бы привести формулы для оценки РИБ и коэффициента постоянства лактации, поскольку в результатах эти коэффициенты описываются.

«Результаты собственных исследований исследований» (раздел 2.2) излагаются автором на 31 странице. Раздел построен вполне логично, исходя из целей и задач, и состоит из десяти подразделов.

В подразделах 2.2.1 – 2.2.3 приводятся электрофореграммы результатов ПЦР-ПДРФ анализа полиморфизма изученных генов и описываются частоты

генотипов и генов. При анализе частот встречаемости аллелей пролактина автором показано очевидное преобладание частоты аллеля *A* (0,87) над частотой аллеля *B* (0,13). Для гена тиреоглобулина характерно преобладание частоты генотипа *CC*, и соответственно аллеля *C* – 0,71. Для гена бета-лактоглобулина характерно небольшое преобладание аллеля *B* – 0,52. При этом генотип *AA* имели 18,5% первотелок, генотип *AB* – 58,2%, а генотип *BB* – 23,4% особей исследованной выборки.

Взаимосвязь полиморфизма изученных генов с молочной продуктивностью и качественным составом молока коров изученной выборки проанализирована в разделах 2.2.4 – 2.2.7. Автором отмечен наивысший удой у коров, имеющих генотип *PRL^{AA}* по гену пролактина, *TG5^{CC}* по гену тиреоглобулина и *BLG^{AA}* по гену лактоглобулина. Более высокая массовая доля жира (4,3%) имеется в молоке коров с генотипами *PRL^{AA}* по гену пролактина и *BLG^{BB}* по гену лактоглобулина, а белка – у коров с генотипами *PRL^{AB}* и *PRL^{BB}* по пролактину и *TG5^{CC}* по тиреоглобулину.

В разделе 2.2.8 излагаются результаты изучения взаимосвязи полиморфизма генов с предрасположенностью коров к маститу. О предрасположенности к маститу автор судит по количеству соматических клеток в 1 мл молока и отмечает, что исследованная выборка в целом благополучна по заболеваемости маститом, однако наименьшая предрасположенность к данному заболеванию вымени, измеренная количеством соматических клеток, наблюдается у коров с генотипом *TG5^{TT}* гена тиреоглобулина и *BLG^{AA}* бета-лактоглобулина, также впрочем, как и для остальных генотипов. Поэтому автор высказывает мнение, что изученные гены не могут служить маркерами заболеваемости маститом, также как и предрасположенности к нему.

Раздел 2.9 посвящён анализу селекционно-племенной работы в исследуемом хозяйстве, в рамках которого проведено определение плодовитости стада по индексу Дохи и изучено влияние продолжительности сервис- и межотельного периодов на воспроизводительные качества коров. Показано, что практически все генотипированные по полиморфным генам *PRL*, *TG5*, *BLG* коровы имеют высокий индекс плодовитости, однако наибольший характерен для особей с генотипом *AA* гена *BLG*, а наименьший – для коров с генотипом *TG5^{TT}* по гену тиреоглобулина. Также выявлено, что наибольшие потери молока при увеличении продолжительности сервис-периода (792 кг) наблюдаются у животных, имеющих генотип *BB* бета-лактоглобулина, а при продлении межотельного периода до 386 и более дней, наибольшие потери молока (772 кг) отмечаются у коров с генотипом *TC* тиреоглобулина.

В разделе 2.10 автор рассматривает степень наследуемости признаков молочной продуктивности. Раздел совсем небольшой, изложен на одной странице, и из его содержания не совсем понятно, наследуемость каких именно признаков (величина надоев, мдж или мдб) описывает автор. Полученные результаты для наглядности следовало бы свести в таблицу.

В разделе «**Заключение**» Екатерина Николаевна кратко суммирует полученные результаты и формулирует 8 выводов, которые вытекают из результатов собственных исследований.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

По результатам проведённых исследований соискателем на защиту выдвинуты 5 положения, основным, практически значимым из которых, с моей точки зрения, является выявление желательных с точки зрения хозяйственной ценности генотипов PRL, TG5, BLG, а именно: гомозиготные генотипы PRL^{AA}, TG5^{CC}, BLG^{AA} и BLG^{BB}.

Обоснованность результатов проведённых исследований определяется их методологией. Эксперименты выполнены на достаточно большом материале (184 головы коров-первотёлок из КФХ «им. Ленина Атнинского района республики Татарстан»). Аналитическая работа проведена на базе ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» с использованием новых молекулярно-генетических методов исследования и оборудования (определение полиморфизма генов-кандидатов методом ПЦР-ПДРФ) и также статистически обработаны с использованием компьютерной аналитической программы Microsoft Excel, что обосновывает получение достоверных результатов, а следовательно, и выводов, также как и практических рекомендаций.

Обоснованность и достоверность положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется также полнотой их освещения в научных публикациях и апробацией на конференциях различного уровня. Всего по теме диссертации соискателем опубликовано 10 работ (из них 5 - в журналах, рекомендованных ВАК). Результаты исследований апробированы на двух Международных и одной Всероссийской конференциях.

Рукопись автореферата в достаточно полной мере соответствует содержанию рассматриваемой диссертации и полученным результатам.

Степень новизны, научная и практическая значимость результатов

Научная новизна проведённых исследований заключается в том, что соискателем изучена взаимосвязь генотипов по генам PRL, TG5, BLG с молочной продуктивностью первотёлок, содержащихся в условиях СХПК «Племенной завод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан, а также для каждого генотипа описан характер молочной продуктивности, отраженный в лактационных кривых и коэффициентах постоянства лактации. Впервые изучена взаимосвязь между различными генотипами пролактина, тиреоглобулина и бета-лактоглобулина с предрасположенностью к маститу коров, выращенных в условиях Республики Татарстан.

Практическая значимость заключается в том, что в данном исследовании были выявлены желаемые аллели генов, которые в последующем могут быть использованы в дальнейших селекционно-племенных работах при подборе родительских пар, для получения потомства

с наилучшими показателями молочной продуктивности и хорошими воспроизводительными качествами.

Замечания и вопросы и к диссертационной работе

Замечания:

1. Название диссертации, с моей точки зрения, не совсем удачное и к тому же не полностью раскрывает содержание, поскольку в названии никак не отражено исследование воспроизводительной функции коров, а в диссертации этому вопросу посвящены три раздела.

2. Выводы не в полной мере соответствуют задачам (например, выводы 4 и 5 взялись непонятно откуда, т.к. в задачах исследований нет ни изучения характера молочной продуктивности (вывод 4) ни оценки предрасположенности к маститу (вывод 5).

3. Имеются замечания к оформлению и стилю изложения диссертационного материала. Так, литературные ссылки во всей работе расставлены кое-как, где цифрами в квадратных скобках, где фамилия и год публикации, хотя на этот счёт имеется определённый стандарт ВАК.

Встречаются некорректные и непрофессиональные выражения, например: «молочный гормон» (стр.3 и 55); «биохимические показатели белков» (стр. 4); «...увеличиваются показатели беременности»; «белки бета-лактоглобулина и каппа-казеина находятся в области шестой хромосомы» (стр. 33); «коэффициент наследуемости между исследованными животными и их предками» (стр.7).

4. Коэффициенты постоянства лактации в разделе 2.2.7 следовало бы привести в отдельной таблице, а они по ходу изложения упоминаются вскользь, между прочим.

Вопросы:

1. На предрасположенность к маститу, в том числе и на количество соматических клеток влияет множество факторов, в том числе происхождение по быкам, уровень продуктивности коров, период лактации, даже сезон и месяц. Учитывались ли в вашем исследовании эти факторы? (Раздел 2.2.8)

2. Как с научной точки зрения можно обосновать механизм влияния генотипа коровы по гену лактоглобулина на её молочную продуктивность и воспроизводительные качества?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа **Рачковой Екатерины Николаевны на тему «Ассоциации генов, связанных с молочной продуктивностью и резистентностью к маститу крупного рогатого скота»** является вполне законченной научно-квалификационной работой, в которой соискатель проводил исследование ассоциаций полиморфизма генов PRL, TG5, BLG с молочной продуктивностью, устойчивостью к маститу и воспроизводительными качествами коров голштинской породы. Автором выявлены желаемые аллели генов, которые в последующем могут быть

использованы в дальнейших селекционно- племенных работах при подборе родительских пар, для получения потомства с наилучшими показателями молочной продуктивности и хорошими воспроизводительными качествами.

Оценивая кандидатскую диссертационную работу Е.А. Рачковой в целом, считаю, что она соответствует специальности 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных и является актуальной, цельной, законченной научной работой, выполненной на достаточно высоком профессиональном уровне.

По своей научной новизне, практической значимости и объему полученных данных диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 N 842 (ред. от 02.08.2016), а ее автор Рачкова Екатерина Николаевна заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных

Официальный оппонент:

Профессор кафедры пчеловодства, частной зоотехнии и разведения животных ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», зав. лабораторией молекулярной генетики, доктор биологических наук, специальность 06.02.07 - разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных



Долматова Ирина Юрьевна

Адрес:

450001, г. Уфа,
ул. 50-летия Октября,
тел.(347)228-91-77
Web-сайт: www.bsau.ru
E-mail: bgau@ufanet.ru
dolmat@list.ru

Подпись И.Ю. Долматовой заверяю

Учёный секретарь ФГБОУ ВО
Башкирский ГАУ, доктор
сельскохозяйственных наук



Султанова Рида Разябовна

08.12.2017 г.