

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Долматовой И.Ю.  
на диссертационную работу **Шамсиевой Л.В.**

на тему «**Ветеринарно-гигиеническое обоснование продуктивных качеств коров на фоне генетических факторов**», 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 специальностям 06.02.05 – ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза и 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных

### Актуальность темы диссертационной работы

Актуальность темы исследования Шамсиевой Л.В. определяется тем, что 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 устойчивостью животных к болезням и продуктивными признаками.

При современных технологиях производства молока мастит является одним из самых распространенных и относится к категории сложных и убыточных заболеваний, т.к. происходит преждевременная выбраковка высокопродуктивных коров, в связи с чем сельхозпроизводители недополучают молоко.

В качестве генов-кандидатов, обуславливающих устойчивость коров к маститу, а, следовательно, и уровень молочной продуктивности коров, рассматриваются гены лактоферрина (*LTF*) и манноза-связывающего лектина (*MBL1*).

Лактоферрин обладает широким спектром противомикробного и противовирусного действия за счёт стимуляции роста лимфоцитов. Ген лактоферрина имеет несколько аллельных вариантов и рядом исследователей была показана связь аллеля *LTF*<sup>4</sup> с заболеваемостью коров маститом.

Биологическое действие манноза-связывающего лектина заключается в его участии в активации системы комплемента, которая, как известно, относится к неспецифическим факторам иммунитета и тем самым является одной из главных защитных систем организма. Было показано, что мутации гена *MBL1* клинически проявляются повышенной восприимчивостью к инфекционным агентам.

Работа Шамсиевой Л.В. посвящена исследованию полиморфизма генов *LTF* и *MBL1* у крупного рогатого скота в условиях Республики Татарстан и их ассоциативной связи с хозяйственно-полезными признаками.

Всё вышесказанное определяет актуальность настоящего исследования.

### Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Шамсиевой Л.В. написана с соблюдением традиционной структуры и состоит из введения, обзора литературы и основного содержания работы, включающего разделы, в которых описаны материалы и

условия проведения работы, а также методы и методика исследований, результаты собственных исследований, заключения, включающего выводы и практические предложения и списка цитированной литературы. Материал диссертации изложен на 145 страницах компьютерного текста, содержит 24 таблицы и 9 рисунков. Список использованной литературы включает 293 источника, в том числе 148 - на иностранных языках.

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

**Обзор литературы** изложен на 41 страницах и состоит из 6 разделов. В первых трёх разделах рассматриваются паратипические и генетические факторы этиологии мастита. Четвёртый раздел посвящён изложению фактов о физико-химических показателях молока при маститах и его ветеринарно-санитарной экспертизе.

Следующие два раздела посвящены обзору работ о влиянии полиморфизма генов лактоферрина (*LTF*) и манноза-связывающего лектина (*MBLI*) на устойчивость коров к маститу, на основании анализа которых автор приходит к выводу о том, что названные гены могут быть использованы в качестве потенциальных маркеров устойчивости коров к маститу (в том числе и в раннем возрасте), что позволит вести целенаправленную селекционно-племенную работу.

Оценивая обзор литературы, в качестве замечания хотелось бы отметить то, что каждый его раздел желательно было бы завершить кратким резюме, что позволило бы более аргументировано сформулировать актуальность исследования, а также его цели и задачи.

**Материал и методы исследований** описаны во втором разделе (раздел 2.1) «Основное содержание работы» (стр. 50-59). В данном разделе приводятся сведения об объёме выполненных работ, объектах и методах исследования, которые соответствуют поставленным задачам. Эксперименты выполнены на достаточно большом материале с использованием зоотехнических, генетических, органолептических, биохимических и статистических методов, хорошо апробированных практикой. ДНК-диагностика полиморфизма генов-кандидатов устойчивости коров к маститу, а также исследование молочной продуктивности и качества молока проведена у 387 коров-первотёлок голштинской породы.

При ознакомлении с данным разделом в отношении содержания и стиля изложения не возникло никаких замечаний.

**«Результаты собственных исследований исследований» (раздел 2.2)** излагаются автором на 36 страницах. Раздел построен логично, исходя из целей и задач, и состоит из одиннадцати подразделов.

Подразделы 2.2.1 и 2.2.2 содержат материалы об органолептических, физико-химических и микробиологических показателях молока коров при субклиническом мастите, а также о зависимости заболеваемости коров маститом от генотипов по генам *LTF* и *MBLI*. Автором выявлено 27 коров с признаками субклинического мастита и при этом явной закономерности

влияния генотипа коров по гену *LTF* на заболеваемость коров маститом не выявлено. Относительно влияния генотипов по гену *MBL1* автором выявлена некоторая закономерность, заключающаяся в позитивном влиянии гетерозиготного состояния по данному гену (генотип  $MBL1^{TC}$ ).

Следующие три раздела (2.2.3 – 2.2.5) посвящены описанию полиморфизма изученной выборки коров голштинской породы по генам *LTF* и *MBL1*. Автором показано, что 70,0 % исследованных коров имели гомозиготный генотип  $LTF^{AA}$ , 30,0 % -  $LTF^{AB}$ . Гомозиготных генотипов  $LTF^{BB}$  не выявлено. По гену *MBL1* выявлено следующее распределение генотипов: 41,6 % - генотип  $MBL1^{CC}$ ; 43,4 % -  $MBL1^{TC}$ , и 15,0 % - генотип  $MBL1^{TT}$ .

Автор приходит к выводу, что апробированные ПЦР-ПДРФ-протоколы для генотипирования крупного рогатого скота по генам *LTF* и *MBL1* явились действенными подходами к определению генотипической принадлежности исследуемой выборки первотёлок голштинской породы.

С моей точки зрения, данные три раздела более логично было бы изложить в начале результатов собственных исследований

Анализ ассоциаций полиморфизма генов *LTF* и *MBL1* с молочной продуктивностью и качественным составом молока описан в разделах 2.2.6 и 2.2.7. Показано, что коровы с генотипами  $LTF^{AB}$  и  $MBL1^{TC}$  в сравнении с аналогами с другими генотипами имели больше: удои на 302 кг и 157-320 кг, выход молочного белка на 10,1 кг и 12,3-15,1 кг, выход молочного жира на 11,7 кг и 9,2-11,8 кг, соответственно. Описанная закономерность в основном сохраняется и при анализе ассоциаций в разрезе линейной принадлежности коров.

В разделах 2.2.8 и 2.2.9 описывается сопряжённость признаков молочной продуктивности у коров с разными генотипами по генам *LTF* и *MBL1*, в том числе и в разрезе отдельных линий. При этом отмечаются довольно противоречивые как по направлению, так и по силе величины коэффициентов корреляции. Например, в зависимости от линейной принадлежности коров величина коэффициента корреляции между удоём и массовой долей жира колеблется от -0,11 до +1.

Последние два раздела результатов собственных исследований диссертации (2.2.10 и 2.2.11) посвящены анализу встречаемости комплексных генотипов генов *LTF* и *MBL1* и их влиянию на молочную продуктивность коров. Всего автором выявлено 6 комплексных генотипов генов *MBL1* и *LT*, причём наиболее частыми оказались генотипы  $MBL1^{CC}LTF^{AA}$  (29,72%) и  $MBL1^{TC}LTF^{AA}$  (29,44%). При этом наибольшим удоём, характеризовались коровы с комплексными генотипами  $MBL1^{TC}LTF^{AB}$  (их частота составила 12,66%) и  $MBL1^{TT}LTF^{AB}$  (4,13%).

В разделе «**Заключение**» Лейсан Варисовна кратко суммирует полученные результаты и формулирует 7 выводов, которые вытекают из результатов собственных исследований и логично отвечают на поставленные автором задачи.

Стиль изложения всех разделов грамотный, доступный и интересный.

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

По результатам проведённых исследований соискателем на защиту выдвинуты 3 положения, основным, практически значимым из которых, с моей точки зрения, является выявление желательных генотипов по полиморфным генам *LTF* и *MBLI*, сопряжённых с молочной продуктивностью и качеством молока, а также резистентностью к маститу.

Обоснованность результатов проведённых исследований определяется их методологией. Эксперименты выполнены на достаточно большом материале (387 голов первотёлок голштинской породы шести генеалогических линий из СХПК племзавода им. Ленина Атнинского района республики Татарстан). Аналитическая работа проведена на базе ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» с использованием достаточно нового метода ПЦР-ПДРФ, а 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 8 работ (из них 4 - в журналах, рекомендованных ВАК). Результаты исследований апробированы на одной Всероссийской и двух Международных конференциях.

Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации и полученным результатам.

#### **Степень новизны, научная и практическая значимость результатов**

Новизна исследования заключается в том, проведена оптимизация метода ПЦР-ПДРФ-анализа для генотипирования крупного рогатого скота по генам лактоферрина и манноза-связывающего лектина. Впервые в условиях Республики Татарстан изучен полиморфизм генов *LTF* и *MBLI* у первотёлок голштинской породы с учетом частоты встречаемости генотипов и аллелей исследуемых генов в разрезе линейной принадлежности коров.

Практическая значимость заключается в том, что результаты исследований, касающиеся генотипов *LTF*, *MBLI* и их комбинаций, возможно использовать в скотоводстве для улучшения хозяйственно-полезных признаков в контексте продуктивности и качества молока, а также устойчивости к маститу.

Основные положения и выводы диссертационной работы позволяют пополнить теоретические данные, касающиеся селекции крупного рогатого скота методами ДНК-технологий.

#### **Вопросы и замечания к диссертационной работе**

1. На мой взгляд, название диссертации не совсем удачное. В чём конкретно заключается ветеринарно-гигиеническое обоснование продуктивных качеств коров с разными генотипами по изученным генам-кандидатам? В целях и задачах этого пункта нет.

2. Использование метода  $\chi^2$  (табл. 10 и 11) для выявления генетического равновесия в популяциях рекомендовано, как известно, для панмиктических популяций. Можно ли назвать изученное стадо первотёлок голштинской породы

такой популяцией, поскольку, во-первых, в оценке частот генотипов и аллелей быки не использованы и во-вторых имеется ограничение свободы скрещиваний. Чем можно объяснить высокое значение  $\chi^2$  при оценке равновесия по гену *LTF*?

3. На предрасположенность к маститу, в том числе и на количество соматических клеток, кроме происхождения по быкам, влияет ещё множество факторов, а именно: уровень продуктивности коров, период лактации, даже сезон и месяц года. Учитывались ли эти факторы?

Кол-во от 300 до 400 тыс. соматических клеток считается нормальным. Значит у всех исследованных коров (таблицы 14-17) с разными генотипами по исследованным генам состояние вымени нормальное. О какой же предрасположенности к маститу идёт речь?

4. У коров с генотипами *MBL1<sup>CC</sup>* линии Соверинга кол-во сом. клеток составляет 675,5 тыс. (табл.17). Скорее всего, одна из двух (или даже обе коровы) больны маститом. Вы их не исследовали отдельно? К тому же, удои у них один из самых низких по группе.

5. С какой целью изучалась сопряжённость признаков молочной продуктивности в разрезе отдельных линий? Например, коэффициент корреляции между удоем и массовой долей жира в молоке известен в качестве классического примера отрицательной (т.е. разнонаправленной) связи. В таблице 18 (стр. 82) указаны коэф-ты корреляции между названными признаками от -0,11 до +1. Чем можно объяснить такую функциональную зависимость ( $r=+1$ ) между удоем и жиром у коров линии Чифа с генотипами *LTF<sup>AA</sup>*? К тому же ошибка коэф-тов ( $m_r$ ) почти во всех случаях практически равна самим коэффициентам (или даже превышает их). Какие корректные выводы можно сделать при анализе полученных данных?

6. Выводы следовало бы изложить в соответствии с задачами. Например, задача 1 – «генотипировать крупный рогатый скот по генам...» и далее по тексту, а вывод относительно частот аллелей и генотипов идёт под номером 6. Вывод под номером 1 вообще в задачах не звучит.

7. Предложения производству следовало бы изложить конкретнее, т.е. указать какие именно аллели и генотипы являются «более желательными» с хозяйственной точки зрения.

Высказанные замечания никоим образом не снижают научной и практической значимости оппонируемой диссертации, а носят лишь рекомендательный или уточняющий характер.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Шамсиевой Лейсан Варисовны на тему «Ветеринарно-гигиеническое обоснование продуктивных качеств коров на фоне генетических факторов» является законченной научно-квалификационной работой, в которой соискатель изучала полиморфизм генов *LTF* и *MBL1* у крупного рогатого скота в условиях Республики Татарстан в связи с хозяйственно-полезными признаками и устойчивостью к маститу. Оценивая кандидатскую диссертационную работу Л.В. Шамсиевой в целом,

считаю, что она соответствует специальностям 06.02.05 – ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза и 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных и является актуальной, цельной, законченной научной работой, выполненной на высоком профессиональном уровне.

По своей научной новизне, практической значимости и объему полученных данных она 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 Шамсиева Лейсан Варисовна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 06.02.05 – ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза и 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](http://www.bsau.ru)  
E-mail: [bgau@ufanet.ru](mailto:bgau@ufanet.ru)  
[dolmat@list.ru](mailto:dolmat@list.ru)

### **Подпись И.Ю. Долматовой заверяю**

Учёный секретарь ФГБОУ ВО  
Башкирский ГАУ, доктор  
сельскохозяйственных наук



  
Султанова Рида Разябовна

04 июня 2018 г