

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 006.018.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ВСЕРОССИЙСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КОНЕВОДСТВА»
МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 31 мая 2022 года № 7

О присуждении Блохиной Нине Васильевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора сельскохозяйственных наук.

Диссертация «Использование ДНК-маркеров для идентификации, сохранения и развития генетических ресурсов коневодства Российской Федерации»

по специальности 06.02.07 - Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных, принята к защите 24 февраля 2022 года (протокол заседания № 2) диссертационным советом Д 006.018.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 391105, Российская Федерация, Рязанская область, Рыбновский район, п. Дивово, приказ Рособнадзора о создании диссертационного совета № 2249-1481 от 02.11.2007 г.

Соискатель Блохина Нина Васильевна 16 ноября 1980 года рождения.

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук «Особенности внутривидового полиморфизма систем крови у лошадей русской тяжеловозной породы и их использование в селекции» защитила в 2010 году в диссертационном совете, созданном на базе Государственного научного учреждения Всероссийского научно –

исследовательского института коневодства Российской академии сельскохозяйственных наук,
работает старшим научным сотрудником лаборатории генетики в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории генетики в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный консультант – доктор сельскохозяйственных наук, Калашников Валерий Васильевич, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, работает научным руководителем Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

- Калашникова Любовь Александровна, доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией ДНК-технологий ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»;

- Попов Николай Александрович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела генетики, разведения сельскохозяйственных животных и технологий животноводства ФГБНУ ФИЦ животноводства - ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»;

- Щукина Ирина Владимировна, доктор сельскохозяйственных наук, доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский

государственный аграрный университет», г. Санкт-Петербург, в своем положительном отзыве, подписанном Лаптевым Георгием Юрьевичем, доктором биологических наук, профессором кафедры крупного животноводства; Алексеевой Евгенией Ивановной, доцентом, профессором кафедры крупного животноводства, указала, что диссертационная работа Блохиной Нины Васильевны является актуальной как по новизне, так и по практической значимости, выполнена на высоком методическом уровне.

Соискатель имеет 90 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 60 работ, из них в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК опубликовано 30 работ, в журналах, индексируемых в международных базах Scopus и Web of Science – 10 работ. В числе научных работ соискателя: 6 патентов на изобретение, 2 свидетельства о регистрации баз данных, 1 научно-практическое руководство, 1 статья, опубликованная в зарубежном издании, 55 статей, опубликованные в отечественных журналах; 4 работы опубликованы в материалах международных конференций; 21 работа – в сборниках научных трудов. 82 работы опубликованы в соавторстве. Общий объем публикаций – 38,16 печатных листа, авторский вклад – 24,74 печатных листа. В диссертации отсутствуют достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Наиболее значительные научные работы по теме диссертации:

1. Храброва, Л.А. Оценка генеалогической структуры вятской породы лошадей (*Equus Ferus Caballus*) с использованием анализа ДНК / Л.А. Храброва, Н.В. Блохина, Н.Ф. Белоусова, Е.Г. Котран // Генетика. – 2022. - Т. 58, № 4. - С. 457-462.

2. Kalashnikov, V.V. Dynamics of the inbreeding coefficient and homozygosity in Thoroughbred horses in Russia / V.V. Kalashnikov, L.A. Khrabrova, N.V. Blohina, A.M. Zaitcev, T.V. Kalashnikova // Animals. 2020. Т. 10. №7. С. 1-10.

3. Khrabrova, L. A. Variability of mitochondrial DNA D-loop sequences in Zabaikalskaya horse breed / L.A. Khrabrova, N.V. Blohina, B.Z. Bazarov, T.N. Khamiruev // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2021. Т. 25. №5. С. 486-491.

4. Блохина, Н.В. Влияние степени гомозиготности STR-локусов на плодовитость лошадей чистокровной верховой породы / Н.В. Блохина, А.В. Устьянцева // Генетика и разведение животных. 2021. № 2. С. 22-27.

5. Блохина, Н.В. Генетическая характеристика лошадей рысистых пород по микросателлитным локусам ДНК / Н.В. Блохина, И.С. Гавриличева // АгроЗооТехника. 2020. Т. 3. № 4. С. 3.

6. Блохина, Н.В. Генетическая характеристика линий лошадей владимирской породы / Н.В. Блохина // Коневодство и конный спорт. 2019. № 3. С. 6-8.

7. Блохина, Н.В. Характеристика чистокровных верховых жеребцов разных линий по микросателлитным локусам / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва // Генетика и разведение животных. 2019. № 3. С. 11-17.

8. Блохина, Н.В. Влияние методов селекции на молекулярно-генетическую структуру лошадей буденновской породы / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва, А.А. Николаева // Генетика и разведение животных. 2019. № 2. С. 97-102.

9. Блохина, Н.В. Оценка генетического разнообразия микросателлитных локусов у лошадей тяжелоупряжных пород / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва, А.М. Зайцев, И.С. Гавриличева // Генетика и разведение животных. 2018. № 2. С. 39-44.

На автореферат поступили отзывы:

от доктора биологических наук, профессора, члена-корреспондента РАН, и.о. ректора ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» Мирошников С.А.;

от доктора сельскохозяйственных наук, профессора, академика Национальной академии наук Беларуси, первого заместителя генерального

директора РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству» Шейко И.П.; кандидата сельскохозяйственных наук, зав. лабораторией молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования Ганджа А.И.;

от доктора биологических наук, профессора, главного научного сотрудника лаборатории генетики сельскохозяйственных животных ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр – ВИЖ им. Л.К. Эрнста» Марзанова Н.С.;

от доктора сельскохозяйственных наук, профессора кафедры зоологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева» Глазко В.И.;

от доктора сельскохозяйственных наук, профессора, декана факультета ветеринарной медицины и биотехнологии, зав. кафедрой зоотехнии и биологии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева» Быстровой И.Ю.;

от доктора сельскохозяйственных наук, главного научного сотрудника лаборатории разведения и селекции сельскохозяйственных животных ФГБНУ «Северо-Кавказский Федеральный научный центр» Рачкова И.Г., от кандидата сельскохозяйственных наук, доцента, ведущего научного сотрудника лаборатории разведения и селекции сельскохозяйственных животных Кононовой Л. В.;

от доктора сельскохозяйственных наук, доцента, зав. кафедрой «Разведение, генетика, биология и водные биоресурсы» Института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет» Четвертаковой Е.В.; доктора сельскохозяйственных наук, доцента, профессора кафедры «Зоотехния и ТППЖ» Сидоровой А.Л.;

от доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр – ВИЖ им. Л.К. Эрнста» Иолчиева Б.С.;

от доктора биологических наук, профессора, заслуженного деятеля науки, зав. кафедрой морфологии, акушерства и терапии ФГБОУ ВО «Чувашский ГАУ» Семенова В.Г.;

от доктора биологических наук, профессора РАН, зав. кафедрой разведения, генетики и биотехнологии животных, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева» Селионовой М.И.;

от доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника Сибирский федеральный научный центр агробiotехнологий РАН Деевой В.С. и старшего научного сотрудника, кандидата сельскохозяйственных наук Дурова А.С.;

от доктора сельскохозяйственных наук, зав. лаб. селекции и разведения лошадей ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Якутский научный центр Сибирского отделения РАН» Иванова Р.В.;

от доктора сельскохозяйственных наук, главного научного сотрудника лаборатории животноводства Приморского филиала ФГБУН «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лавёрова Уральского отделения РАН - «Архангельский НИИСХ» Прожерина В.П.;

от доктора биологических наук, зав. отделом технологии мясного скотоводства и производства говядины ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» Фролова А.Н.;

от доктора сельскохозяйственных наук, профессора, Почетного работника ВПО РФ, профессора кафедры «Биотехнологии и пищевых продуктов» ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет» Горелик О.В.;

от доктора биологических наук, профессора, декана факультета биотехнологии, зав. кафедрой технологии хранения и переработки

продуктов животноводства ФГБОУ ВО «Курганская государственная сельскохозяйственная академия» Морозовой Л.А.;

от доктора биологических наук, главного научного сотрудника лаборатории биотехнологий Сибирского научно-исследовательского и проектно-технологического института животноводства ФГБУН Сибирского ФНЦ агробiotехнологий РАН Гончаренко Г.М.

В отзывах отмечается, что в рамках работы получены новые данные, позволяющие совершенствовать селекционные программы в коневодстве. По результатам работы сформирована база электронных данных, обеспечивающая проведение генетической паспортизации 30 пород лошадей, разводимых в РФ. Избранное направление исследований – «Использование ДНК-маркеров для идентификации, сохранения и развития генетических ресурсов коневодства Российской Федерации», является актуальным и обоснованным. Научная новизна исследований заключается во всесторонней характеристике заводских и местных пород лошадей Российской Федерации с использованием молекулярно-генетических маркеров для определения особенностей генетической структуры популяций, уровня их биоразнообразия и филогенетических связей. Выводы носят конкретный характер, логично и аргументировано вытекают из приведенных в диссертации материалов и отвечают на вопросы, поставленные в цели и задачи диссертационной работы. Результаты исследований имеют большое научно-теоретическое и практическое значение для племенного коневодства. Актуальность темы исследований, научная новизна, объем работы, ее теоретическая и практическая значимость соответствуют требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ N 842 от 24 сентября 2013, предъявляемым к докторским диссертациям.

В отзыве доктора сельскохозяйственных наук Иванова Р.В. есть вопросы:

В проведенных исследованиях разная выборка подопытных животных, на 30 стр., абзац 2 присутствует, цитата – «отсутствовал только у якутских лошадей колымского типа». Объектом исследования в вашей работе были лошади колымского типа якутской породы? Возможно ли, что в каждом из конкретных исследований были разные типы лошадей якутской породы? Почему это не отражено в материалах и методах исследований, ведь у каждого типа своя генетическая структура.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой научной квалификацией и компетенцией ученых, подготавливающих отзывы на диссертацию, их большим опытом научной работы в области молекулярной генетики, племенного и продуктивного животноводства, заслуженным авторитетом выбранных ученых и выбранной ведущей организации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

сформирована электронная база данных генетических маркеров, обеспечивающая проведение генетической паспортизации 30 пород лошадей разводимых в Российской Федерации, являющаяся основой для контроля происхождения, оценки и мониторинга биологического разнообразия в коневодстве страны;

предложено учитывать гаплотипы мтДНК при генетической сертификации и изучении филогенетических связей пород лошадей, использовать митогеномы в качестве инструмента в программах разведения животных, что позволит оценивать дифференциацию маточных семейств в породах лошадей и повысить эффективность контроля происхождения по материнской линии;

доказана детерминация молекулярно-генетических различий в генеалогической структуре изученных пород лошадей по ряду популяционных параметров, включая спектр аллелей, уровень

полиморфности, степень гетерозиготности и генетические дистанции по STR- локусам;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

полученные знания о наличии молекулярно-генетических особенностей у лошадей разных пород вносят вклад в теорию породообразования и открывают возможности изучения генетической обусловленности формирования фенотипических селекционных признаков у лошадей;

доказаны молекулярно-генетические особенности у лошадей разных породных групп специализированных по разным направлениям селекции, что может быть использовано в качестве инструмента в программах разведения животных;

применительно к проблематике диссертации результативно **использован** комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе программы MEGA 7, MS Excel 2010, Statistics 12, GENEPOP 1,3., POPULATIONS.

изложены доказательства о необходимости тестирования жеребцов-производителей на наличие генетических породных аномалий, чтобы в дальнейшем избежать накопления генетического груза в популяциях и породах;

раскрыты и выявлены существенные различия в генетической структуре лошадей заводских и местных пород, **изучены** их филогенетические отношения и степень генетического влияния улучшающих пород на местные популяции;

проведена генетическая паспортизация 30 заводских и местных пород лошадей, разводимых в Российской Федерации по 17 локусам микросателлитов ДНК, используемых при контроле происхождения.

заложена основа для генотипической оценки животных и популяций для проведения генетического мониторинга.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждаются тем, что:

разработаны и внедрены дальнейшие перспективы применения микросателлитных маркеров ДНК для генетической идентификации и контроля происхождения лошадей, а также генотипической оценки степени гомозиготности и других параметров при составлении селекционных программ в коневодстве. Апробированы методики идентификации трех генов (MSTN, DMRT3, PSSM1), ассоциированных с рабочими качествами, у лошадей ряда заводских и местных пород, что позволяет **определять** стратегию дальнейших генетических исследований и использования генов-кандидатов продуктивных признаков в программах улучшения пород.

созданная база данных позволяет вести генетический мониторинг и контроль биологического разнообразия во всех породах лошадей. Изучение мтДНК позволит оценивать дифференциацию маточных семейств в породах лошадей и повысить эффективность контроля происхождения по материнской линии.

представлены желательные генетические варианты по генам MSTN, DMRT3, PSSM1 у лошадей отечественных пород.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на современном сертифицированном оборудовании, обработка экспериментальных данных реализована статистическими методами с использованием соответствующих программ;

теория, изложенная в диссертации, согласуется с ранее полученными результатами, представленными в литературных источниках;

идея базируется на обобщении полученных данных в экспериментах, передового опыта отечественных и зарубежных исследователей;

использованы данные, полученные в экспериментах и аналитическим путем, научно проанализированы, статистически обработаны и на основе этого сформулированы выводы о влиянии генетических маркеров на селекционируемые признаки лошадей;

установлены существенные различия в генетической структуре лошадей, изучены их филогенетические отношения и степень генетического влияния улучшающих пород на местные популяции, согласующие с данными, представленными в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные методики сбора и обработки первичной информации, и ее анализа с применением компьютерных программ.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы: анализе современного состояния, проведении исследований, освоении новых методик исследований, сборе и обработке экспериментального материала, его статистической обработке, подготовке научных докладов и публикаций по материалам исследований и апробации полученных данных на конференциях, написании диссертации и автореферата.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания.

В отзыве ведущей организации отмечено:

1. В предложениях производству желательно было бы указать возраст лошадей, в котором следует проводить тестирование животных на наследственные аномалии.
2. Известно, что в гене миостатина (MSTN) имеются несколько полиморфизмов, поэтому было бы интересно узнать их влияние на работоспособность лошадей.
3. Хотелось бы узнать мнение автора о наиболее перспективных методах детекции однолокусных мутаций у лошадей, которые можно использовать в генетических лабораториях.

4. Чем обусловлена, и как можно объяснить такую высокую частоту встречаемости полисахаридной миопатии у лошадей тяжелоупряжных пород?
5. Было бы желательно узнать о перспективах дальнейших исследований по генетике лошадей и их использования в практической селекции.
6. Хотелось бы видеть большее количество актов внедрения в производство от специалистов ведущих конных заводов РФ.

В отзыве официального оппонента доктора биологических наук, профессора Калашниковой Л.А. отмечено:

1. В основные положения автор выносит методы детекции наследственных аномалий лошадей, но сами методы описывает не полностью, не указывая ключевые этапы, такие, как последовательность праймеров. В таком виде метод к использованию другими лабораториями непригоден, подтвердить полученные данные таким образом невозможно.
2. В основные положения автор включил методы повышения эффективности использования молекулярно-генетических маркеров в селекции. Следовало бы изложить методы использования маркеров и баз данных в методических рекомендациях для селекционеров и специалистов племенного дела. В списке опубликованных работ есть только методические рекомендации по генотипированию микросателлитов за 2012 год.
3. В автореферате нарушена нумерация разделов, пропущен ряд номеров.
4. В автореферате в списке опубликованных работ следует исправить опечатки в пунктах 2 и 3, где написано, что «эта ссылка отключена», и указать doi.

В отзыве официального оппонента доктора биологических наук, профессора Попова Н.А. отмечено:

1. При характеристиках генотипов культурных, распространённых пород привлечён термин «дефект» в гене RYOM1 (стр. 173), который повторен в выводе №18. На стр. 189 автором замечено противоречие по содержанию MSTN C и T у спортивных лошадей и, таким образом, подтверждена

(осталась незамеченной) общебиологическая значимость и, главное, — превосходство по некоторым параметрам гетерозигот. Предполагаю, что это не «дефект», а нормальная структура в геноме лошадей этих пород. Докажите обратное, или аллели с частотой 0,016 — 0,9000 действительно следует элиминировать отбором как «дефект»!?

2. Практикой животноводства всесторонне показаны пути и факты отрицательной роли инбридинга и его положительных сторон при направленном подборе пар. Расчёт корреляций между коэффициентами, индексами, повторяемостью, разнонаправленных по сути вычисления, ведёт объяснение фактов в тупик, а не к совершенствованию продуктивных и племенных качеств лошадей. Он удобен лишь для «Программ» и маскировки проблемы малочисленности популяции и, таким образом, оправдания близких степеней инбридинга из-за обстоятельств, возникающих в определённых условиях?

3. Выполнение исследований и достижение, собственно, цели исследований диссертанта было направлено на внесение в пункты Программ селекции пород и отдельных популяций уровней показателей или наименований генетических факторов, обязательных к выполнению. Приведите примеры интеграции зоотехнических и генетических методов по совершенствованию Вами животных.

4. В соответствии с обзором литературы, собственными данными, предложениями производству п.3 и п.4, раскройте примерами последние два положения, выдвигаемые на защиту: «методов детекции наследственных аномалий лошадей»; «методов повышения эффективности использования молекулярно-генетических маркеров в селекции лошадей».

В отзыве официального оппонента доктора сельскохозяйственных наук, доцента Щукиной И.В. отмечено:

1. Структура породного состава лошадей, протестированного в период с 2006 по 2020 годы по микросателлитам ДНК, представленная на рисунке 7

диссертационной работы, не дана в процентном отношении, что затрудняет ее изучение.

2. В работе использован термин «приватные аллели» и не обоснована целесообразность его использования селекционной работе на уровне хозяйств.

3. Целесообразно раздел 3.1.1. «Описание лаборатории, в которой проводились исследования» перенести в раздел «Материалы и методы исследований».

4. В работе не прослеживается взаимосвязь мутации в гене бУ51 с деловым выходом жеребят, ее влияем на течение выжеребки кобыл и на темпы воспроизводства поголовья.

5. Предложения производству целесообразно дифференцировать конкретно по породам или по группам пород.

6. В предложениях производству целесообразно было указать возраст жеребцов и кобыл, в котором рекомендуется проводить идентификацию лошадей с использованием ДНК-маркеров.

7. В своей работе соискатель описывает влияние гена миостатина на рост и развитие скелетных мышц лошади, но в результатах собственных исследований не рассматривает влияние этого гена на продуктивные качества лошадей местных пород. Это могло бы значительно приукрасить диссертационную работу.

В отзыве на автореферат, полученном от доктора сельскохозяйственных наук Иванова Р.В. есть вопросы. В проведенных исследованиях разная выборка подопытных животных, на 30 стр., абзац 2 присутствует, цитата – «отсутствовал только у якутских лошадей колымского типа». Объектом исследования в вашей работе были лошади колымского типа якутской породы? Возможно ли, что в каждом из конкретных исследований были разные типы лошадей якутской породы? Почему это не отражено в материалах и методах исследований, ведь у каждого типа своя генетическая структура.

Соискатель Блохина Н.В. согласилась с рядом замечаний и дала подробные и исчерпывающие ответы и пояснения на заданные ей в ходе заседания вопросы и полученные замечания.

На заседании 31 мая 2022 года диссертационный совет принял решение за решение научной проблемы, имеющей важное хозяйственное значение, и вносящей значительный вклад в развитие зоотехнической науки, присудить Блохиной Нине Васильевне ученую степень доктора сельскохозяйственных наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 5 докторов наук по специальности 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за 15, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета



Захаров В.А.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Зайцев А.М.

3 июня 2022 года