

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный
аграрный университет»,
доктор ветеринарных наук

Морозов Виталий Юрьевич

«21» апреля 2022 г.



ведущей организации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет» на диссертационную работу **Блохиной Нины Васильевны на тему: «Использование ДНК-маркеров для идентификации, сохранения и развития генетических ресурсов коневодства Российской Федерации»**, представленной на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных в диссертационный совет Д 006.018.01 ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства»

Актуальность темы исследования. Коневодство является одной из традиционных отраслей животноводства с богатейшей историей использования лошадей в различных целях. В настоящее время коневодство является одной из многогранных отраслей, которая не снижает возможности использования лошадей в различных видах профессионального и любительского конного спорта, туризме, лечебной верховой езде, иппотерапии и др.

В нашей стране генетический контроль происхождения племенных животных является обязательным условием для проведения эффективной селекционной работы с породами сельскохозяйственных животных. При оценке племенной ценности животного обязательно учитывается

генетическая чистота его происхождения, как гарантия успешного решения селекционных задач.

Очень важно контролировать количество и качество племенных лошадей заводских и местных пород. Современная идентификация и паспортизация лошадей является весьма актуальной задачей, которая позволяет управлять селекционными процессами во всех направлениях развития отрасли.

Связь выполненной работы с планами отраслевой науки и производства. Результаты, представленные в этой работе, получены при поддержке Российского научного фонда (проект №. 19-7620058) «Исследование популяционно-геномной структуры и характера генетической дивергенции пород лошадей (*Equus caballus* L.) для разработки стратегии управления генетическими ресурсами коневодства Российской Федерации».

Научные разработки последних лет показали высокую эффективность ДНК-маркеров при оценке генетического разнообразия популяций сельскохозяйственных животных. Новые системы тестирования целого ряда маркерных генов, ассоциированных с высоким уровнем работоспособности лошадей, а также описаны наследственные болезни лошадей, возникшие в результате мутации структурных и регуляторных генов.

Научная новизна исследований заключается в том, что впервые проведена сравнительная оценка полиморфизма 17-ти микросателлитных локусов ДНК у лошадей 30 пород, проведена их генетическая паспортизация и проанализированы филогенетические связи. Дана сравнительная характеристика аллелофонда лошадей верховых, рысистых, тяжелоупряжных и местных пород, сформировавшихся при различных векторах селекции. Установлены статистически значимые различия в распределении аллелей и генотипов микросателлитов ДНК между разными породами лошадей. У лошадей ряда отечественных пород выявлено наличие частных аллелей, что свидетельствует об уникальности их генофонда.

Впервые изучена матрилинейная структура митохондриального генома лошадей отечественных пород и проведена паспортизация маточных семейств на основе гаплотипов и гаплогрупп мтДНК. Установлена возможность использования информации о митогеноме при генетической сертификации и идентификации лошадей.

Впервые изучено влияние инбридинга на степень гетерозиготности лошадей орловской рысистой и чистокровной верховой пород по 17-ти локусам микросателлитов ДНК и определена незначительная корреляция между этими показателями.

Впервые проведен мониторинг генетической структуры чистокровной верховой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК за три последних десятилетия, показавший стабильность сохранения генетической структуры породы даже в условиях интенсивной интродукции генов.

У лошадей местных пород впервые изучен полиморфизм генов *MSTN* и *DMRT3* влияющих на хозяйственно-полезные признаки.

Впервые у лошадей отечественных пород изучено распространение мутации гликогенсинтазы (*GYS1*), вызывающей нарушения работы мышц и координации движений.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций проведённых исследований подтверждены большим объемом проведенных исследований, значительной по численности, репрезентативной выборкой животных, включенных в исследование, а также результатами статистической обработки полученных данных.

Теоретическая и практическая значимость заключается в том, что в рамках работы получены новые данные, позволяющие совершенствовать селекционные программы в коневодстве. По результатам работы была сформирована база электронных данных, обеспечивающая проведение генетической паспортизации 30 пород лошадей разводимых в РФ. Установлено наличие молекулярно-генетических особенностей у лошадей разных породных групп специализированных по разным направлениям

селекции. Выявлены существенные различия в генетической структуре лошадей заводских и местных пород, изучены их филогенетические отношения и степень генетического влияния улучшающих пород на местные популяции. Доказано существование молекулярно-генетических различий в линейной структуре изученных пород лошадей по ряду популяционных параметров, включая спектр аллелей, уровень полиморфности, степень гетерозиготности и генетические дистанции по STR- локусам. Генетический мониторинг чистокровной верховой породы лошадей выявил стабильность сохранения ее генетической структуры на протяжении трех десятилетий, даже в условиях интенсивной интродукции генов, что свидетельствует об эффективности системы чистопородного разведения.

У лошадей отечественных пород выявлены новые митотипы нуклеотидных последовательностей контрольного участка D-петли митохондриальной ДНК, подтверждающие уникальность их матричной структуры и связь с древними геномами лошадей разных географических зон Евразии. Высокий уровень полиморфности гаплотипов мтДНК в породах лошадей позволяет эффективно использовать информацию о последовательности D-петли при идентификации и контроле происхождения лошадей. Изучено распространение вариантов генов, определяющих работоспособность лошадей разных пород. Выявлена сравнительно высокая встречаемость негативной мутации в гене гликогенсинтазы (*GYS1*) у лошадей тяжелоупряжных пород, что свидетельствует о необходимости проведения генетического мониторинга этого дефекта в заводских и местных породах лошадей.

Соответствие содержания автореферата диссертации, уровень отражения полученных результатов в печати. Содержание автореферата и диссертации полностью совпадает и соответствует с опубликованными работами в открытой печати.

Значимость для науки и производства полученных соискателем результатов. Автором была сформирована база данных генетических

маркеров, включающая более 20 тысяч голов лошадей 30 пород. Проанализировано современное состояние проблемы, сформулированы цели и задачи исследования, разработана программа и определены методы исследования. Автор принимал участие на всех этапах работы: в подготовке материала, лабораторных исследованиях, обработке, обобщении и анализе результатов. Печатные работы по теме диссертации были подготовлены автором самостоятельно и в соавторстве.

По материалам диссертации опубликовано 57 статей, в том числе: входящие в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК 30; 10 – в журналах, индексируемых в международных базах Scopus и Web of Science. В соавторстве получено два свидетельства о регистрации базы данных RU 2016621345 (2016) и RU 2016620649 (2016): «Результаты молекулярно-генетического анализа лошадей» для проведения контроля достоверности происхождения и популяционно-генетического анализа. Издано практическое руководство: по использованию микросателлитов ДНК при генотипической оценке лошадей (Л.А. Храброва, Н.В. Блохина, 2012).

Оценка содержания диссертации. Диссертация изложена на 271 странице компьютерного текста, включает введение, обзор литературы, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, практические рекомендации и приложение. Работа проиллюстрирована 43 таблицами и 44 рисунками. Библиографический список включает 509 публикации, в том числе 267 на иностранных языках.

Во введении соискатель аргументированно раскрывает актуальность темы исследования, определяет цель и задачи, формулирует научную новизну, практическую значимость работы и положения, выносимые на защиту. Автор рассматривает проблемы сохранения генофонды и повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных с использованием генетических технологий. Применяются молекулярно-генетические методы, позволяющие углубленно исследовать идентичность и полиморфизмы

генетических структур популяций в целях их сохранения и эффективного управления селекционным процессом во всех направлениях совершенствования пород лошадей.

В разделе «Обзор литературы» обобщены и проанализированы научные публикации российских и зарубежных ученых. Автор рассматривает вопросы о применении паспортизации лошадей по микросателлитным локусам ДНК и гаплогруппы митохондриальной ДНК у лошадей. Данные из обзора литературы свидетельствуют об использовании ДНК-маркеров в селекции животных и о совершенствовании пород сельскохозяйственных животных на основе методов геномной селекции.

В целом «Обзор литературы» показывает, что соискатель представил убедительные сведения, которые необходимы для обоснования актуальности темы и выполнения диссертации.

Результаты исследований обобщены, подвергнуты статистической обработке и проанализированы. Достоверность полученных автором данных и сделанных на их основе выводов и рекомендаций не вызывает сомнений.

В главе «Материал и методика» автор подробно описывает методику исследовательской части работы. При проведении исследований методологической основой послужили классические научные положения в области генетики, селекции и биотехнологии животных. В качестве объекта исследований были использованы лошади 30 заводских и местных пород, разводимых на территории РФ. Исследования проводили на лошадях в соответствии с инструкциями и рекомендациями Russian Regulations, 1987 (Order No.755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C., 1996). При выполнении диссертационной работы были использованы общепринятые методы отбора, подготовки и анализа лабораторного материала. Дана авторская трактовка полученных результатов и проведена сравнительная оценка научных данных с показанными другими исследованиями в области молекулярной генетики и биотехнологии

животных в Российской Федерации и в мире. Лабораторные исследования проведены на современном оборудовании в ФГБНУ ВНИИ коневодства и в ООО «Генетика», г. Москва. Обработка экспериментальных данных проведена статистическими методами с использованием программных пакетов MS Excel 2010; Statistics 12, MEGA7, POPULATIONS 1.2.28.

В главе «Результаты исследований». Проведенный анализ генетической структуры 30 изученных пород лошадей по 17-ти микросателлитным локусам ДНК выявил существенные различия между лошадьми заводских и местных пород. Анализ филогенетических связей пород показал, что все отечественные местные породы лошадей образуют общий кластер, включающий орловского рысака и тяжелоупряжные породы. Это обусловлено тем, что эти заводские породы долгое время использовались для улучшения многих местных пород, что конечно и повлияло на генетическую структуру многих местных популяций. Данные межпородные различия были выявлены и при тестировании лошадей ряда заводских и местных пород по полиморфным системам белков, ферментов и групп крови многими исследователями. Высокий уровень полиморфизма был обнаружен исследователями и при изучении участков микросателлитной ДНК.

Развитие каждой породы лошадей неразрывно связано с изучением её генеалогии. Основными моментами в данном случае являются исследования генетической структуры отечественных пород лошадей на основе молекулярно-генетических методов. В частности, исследование полиморфизма митохондриальной ДНК является одним из эффективных методов оценки генетического разнообразия и филогенетических связей.

Впервые проведенная оценка матрилинейной структуры лошадей отечественных пород выявила сравнительно высокий уровень индивидуального разнообразия мтДНК. Дополнительно были выделены 8 новых гаплогрупп (у лошадей донской и местных пород), что вполне согласуется с мнением группы исследователей, о том, что регион Южной Европы (низовья Волги и Дона) явился донором для создания многих

культурных пород лошадей. Кабардинская порода лошадей, имеющая начало с этого же региона имеет огромную вариабельность гаплотипов мтДНК, которые были обнаружены у местных пород Сибири.

Проведенный автором анализ экспериментальных данных свидетельствует о должном высоком уровне научной квалификации диссертанта. Получены объективные данные, позволившие сделать аргументированные, обоснованные выводы и рекомендации производству.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Результаты исследования достаточно информативны, научно и методически обоснованы и рекомендуются к использованию: Генетическую паспортизацию пород использовать как базу данных для оценки биологического разнообразия и трендов дальнейших селекционных процессов, а также селекционного совершенствования пород.

Использовать гаплотипы митохондриальной ДНК для оценки матрилинейной структуры пород, а также при контроле происхождения лошадей по материнской линии.

Жеребцов-производителей необходимо своевременно тестировать на наличие генетических породных аномалий, чтобы в дальнейшем избежать накопления генетического груза в популяциях и породах.

Замечания по диссертации. При общей положительной оценке диссертационной работы к автору имеется ряд вопросов и замечаний:

1. В предложениях производству желательно было бы указывать 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?

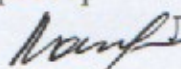
5. Было бы желательно узнать о перспективах дальнейших исследований по генетике лошадей и их использования в практической селекции.

6. Хотелось бы видеть большее количество актов внедрения в производство от специалистов ведущих конных заводов РФ.

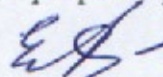
Диссертация, автореферат и отзыв на работу Блохиной Н.В. «Использование ДНК-маркеров для идентификации, сохранения и развития генетических ресурсов коневодства Российской Федерации», рассмотрены на расширенном заседании кафедры крупного животноводства ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет» (протокол № 11 от 11 апреля 2022 г.).

Отзыв подготовили:

доктор биологических наук (03.01.06),
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
«Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»
кафедра крупного животноводства, профессор

 Лаптев Георгий Юрьевич

доктор с.-х. наук (06.02.10), доцент,
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
«Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»,
кафедра крупного животноводства, профессор

 Алексеева Евгения Ивановна

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный аграрный
университет»

196601, Санкт-Петербург, город Пушкин, Петербургское шоссе, 2, лит. А

E-mail: alekseevaei@list.ru; georg-laptev@rambler.ru

Телефон: +7(812)470-04-22, доб. 305. E-mail: agro@spbgau.ru

Подписи: Лаптева Георгия Юрьевича, Алексеевой Евгении Ивановны
заверяю

Врио проректора по научной и инновационной работе Васильев Н.В.

