

ОТЗЫВ

официального оппонента **Калашниковой Любови Александровны** на диссертационную работу **Блохиной Нины Васильевны** на тему «Использование ДНК-маркеров для идентификации, сохранения и развития генетических ресурсов коневодства Российской Федерации», представленную на соискание учёной степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных.

Современные методы генетики являются инструментом для идентификации сельскохозяйственных животных, определения степени родства, уровня генетического разнообразия, мониторинга популяционных процессов. С их помощью можно выявить в геноме ДНК-маркеры наследственных заболеваний или наличие вариантов генов, связанных с желательными признаками. Исследования автора по использованию ДНК-маркеров для оценки генетических ресурсов выполнены в актуальном направлении совершенствования племенного дела в коневодстве.

Научная новизна. Автором впервые проведены сравнительные исследования 30 пород лошадей по 17 микросателлитным локусам ДНК, установлены различия между ними и выявлены приватные аллели. Сформирована база данных генетических маркеров более 20 тысяч голов лошадей. Определена вариабельность гаплотипов мтДНК, проведена паспортизация маточных семейств. Установлен уровень гомозиготности лошадей по микросателлитным локусам в зависимости от степени инбридинга. Показана стабильность генетической структуры чистокровной верховой породы лошадей по микросателлитным локусам генома в течение 30 лет. Исследован полиморфизм генов MSTN и DMRT3, связанных с хозяйственно-полезными признаками лошадей. Установлена частота мутации гликогенсинтазы (GYSI), вызывающей нарушения работы мышц.

Теоретическая значимость. Полученные знания о наличии молекулярно-генетических особенностей у лошадей разных пород вносят вклад в теорию пороодообразования и открывают возможность изучения

генетической обусловленности формирования фенотипических селекционных признаков у лошадей.

Практическая значимость результатов исследования основывается на возможности использования микросателлитных маркеров для повышения эффективности племенной работы в коневодстве путем паспортизации пород, определения их генетической структуры, уровня гетерозиготности, генетических дистанций, степени влияния улучшающих пород, мониторинга селекционных процессов. Высокий уровень полиморфизма участка Д-петли мт ДНК может найти применение в идентификации и контроле происхождения лошадей. В племенной работе могут быть использованы маркерные гены MSTN и DMRT3, влияющие на формирование значимых для селекции признаков. Высокая частота встречаемости мутации в гене GYS1, вызывающей миопатию, является основанием для введения обязательного мониторинга мутации у лошадей тяжелоупряжных пород.

Исследования проводились с использованием общепринятых зоотехнических и статистических методов, а также современных методов молекулярно-генетического анализа.

Структура диссертации соответствует требованиям ВАК. Диссертация изложена на 271 странице, состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов исследований, результатов исследований и их обсуждения, выводов, предложений производству, списка использованной литературы и приложений. Работа содержит 44 рисунка и 43 таблицы. Список использованной литературы включает 509 источников, в том числе 267 на иностранных языках.

Автореферат в краткой форме отражает основные положения диссертационной работы.

В первом разделе автор представляет результаты использования микросателлитных локусов при контроле происхождения лошадей. Исследования показали, что микросателлитные маркеры являются эффективным инструментом для идентификации и паспортизации пород,

определения их генетической структуры, уровня генетического разнообразия и родственных связей. Филогенетический анализ показал наличие двух субкластеров, в один из которых вошли лошади теплокровных пород, в другой – местные породы, включая орловскую рысистую и отечественные тяжелоупряжные породы. Оказалось, что чистокровная верховая, буденновская, тракененская и ганноверская породы лошадей имеют высокие коэффициенты генетического сходства (0,922-0,961), в то время как ахалтекинская и арабская породы сформировали отдельные ветви. Установлено близкое генетическое сходство между американским, русским и французским рысаками (0,935-0,978) и обособленность орловского рысака. Среди трех отечественных тяжелоупряжных пород высокий коэффициент сходства (0,941) имели русские и советские тяжеловозы, при этом сходство владимирской и советской тяжеловозной пород было минимальным (0,680). Местные породы лошадей отличались высоким уровнем генетического разнообразия, у них было выявлено 16 новых аллелей, не встречающихся у лошадей заводских пород. Приватные аллели найдены у лошадей тувинской, мезенской, алтайской, бурятской, приобской и якутской породы.

Во втором разделе автор излагает результаты сравнения гаплогрупп мтДНК у лошадей разных пород. Изучение участка Д-петли мтДНК позволило помимо 17-ти известных гаплогрупп (A-R) выявить еще 8 новых гаплогрупп у лошадей донской (S, V, X и Y), бурятской (T, Y, Z), вятской (U и Y) и мезенской (U) пород. В чистокровной верховой, донской и вятской породе лошадей дифференциация маточных семейств по гаплотипам и гаплогруппам позволяет с помощью анализа мтДНК устанавливать принадлежность лошадей к определенной материнской линии.

В третьем разделе приведены результаты изучения взаимосвязи инбридинга со степенью гомозиготности микросателлитных локусов ДНК у лошадей орловской рысистый и чистокровной верховой породы. Выявлена тенденция постепенного увеличения коэффициента инбридинга и степени

гомозиготности у лошадей всех половозрастных групп чистокровной верховой породы, что согласуется с мировым трендом.

Генетический мониторинг чистокровной верховой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК (раздел 4) показал, что наиболее высокий уровень генетического разнообразия отечественной популяции наблюдался в конце 90-х годов. На протяжении трех десятилетий порода сохраняла свою генетическую структуру и основные характеристики ($A_e = 3,41-3,51$; $H_o = 0,674-0,686$), несмотря на возросший импорт лошадей.

Сравнительная характеристика линейной структуры чистокровных верховых лошадей (раздел 5) выявила достоверные различия по перечню, частотам аллелей, уровню полиморфности, степени гетерозиготности и генетическим дистанциям практически всех генеалогических линий. Оказалось, что все базовые линии, восходящие к Фэлариусу, объединяются в один общий кластер.

Анализ ассоциаций гомозиготности с показателями плодовитости и работоспособности лошадей чистокровной верховой породы (раздел 6) не выявил существенного влияния этого показателя у кобыл на деловой выход жеребят, при этом связь между степенью гомозиготности и числом плодовых лет оказалась более выраженной и достоверной ($F=6,723$ $p<0,001$). Влияние степени гомозиготности микросателлитных локусов на успех скаковых выступлений лошадей отсутствовало, выявлена достоверная корреляция между степенью гомозиготности и индексом побед ($r=0,112$, $p<0,05$).

Результаты изучения мутаций генов, связанных с хозяйственно-полезными признаками и наследственными заболеваниями лошадей, приведены в разделе 7. Мутация в гене MSTN, влияющая на формирование мышечной системы, была выявлена у восьми местных пород лошадей с частотой от 0,100 до 0,286. Высокая частота встречаемости мутации отмечена у лошадей алтайской (0,286) и вятской (0,217) породы.

Мутация гена DMRT3, влияющая на устойчивость аллюра, обнаружена у лошадей вятской (0,043), мезенской (0,250) и тувинской породы (0,167).

Мутация в гене GYS1, связанная с накоплением гликогена в мышцах, найдена у лошадей башкирской 3,2%, бурятской 10%, вятской 9,5%, советской тяжеловозной 30%, русской тяжеловозной 49,9% и першеронской породы 90%. Мутация GYS1 не была обнаружена у протестированных лошадей владимирской, донской, орловской рысистой и чистокровной верховой породы.

В целом необходимо отметить, что материал диссертационной работы Блохиной Н.В. представляет значительный научно-теоретический и практический интерес. Основные положения диссертации опубликованы в соответствии с требованиями ВАК РФ и обсуждены на конференциях.

Выше изложенное позволяет дать рецензируемой работе положительную оценку. Вместе с тем по работе имеются некоторые замечания:

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.

Приведённые замечания не снижают значимости полученных результатов для расширения использования ДНК-маркеров в коневодстве. Представленная работа направлена на решение актуальных проблем отрасли, и её результаты могут быть полезны для повышения эффективности селекционно-племенной работы в коневодстве в масштабах Российской Федерации.

Заключение. Работа Блохиной Нины Васильевны по актуальности, новизне, объему проведенных исследований, теоретической и практической значимости результатов отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор заслуживает присвоения искомой степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных.

Официальный оппонент:

зав. лабораторией ДНК-технологий

ФГБНУ ВНИИ племенного дела,

доктор биологических наук,

профессор

Калашникова Любовь Александровна

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела» 141212 Московская обл., г.о. Пушкино, п. Лесные Поляны, ул. Ленина, д.13, тел. 8 (495) 515-95-57, lakalashnikova@mail.ru

Подпись Л.А. Калашниковой заверяю.

Ученый секретарь ВНИИплем, к.с.-х.н.

29 апреля 2022 г.



Л.Н. Григорян