

ОТЗЫВ

официального оппонента Щукиной Ирины Владимировны, доктора сельскохозяйственных наук, доцента кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» Министерства сельского хозяйства РФ, на диссертационную работу Блохиной Нины Васильевны на тему «Использование ДНК-маркеров для идентификации, сохранения и развития генетических ресурсов коневодства Российской Федерации», представленную к защите в диссертационный совет Д 006.018.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства» (ФГБНУ «ВНИИ коневодства») на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных.

Актуальность темы. Проблема сохранения генетического разнообразия разводимых животных в составе окружающей среды приобретает всё большее значение. В животноводстве главной задачей генетических исследований является изучение генетико-биохимических механизмов формирования высокой продуктивности. Целенаправленное использование полученных знаний в селекционных программах позволит совершенствовать оценку генетического потенциала используемых животных и с высокой достоверностью прогнозировать их племенную ценность, будет способствовать эффективному ведению отрасли животноводства.

Диссертационная работа Блохиной Нины Васильевны посвящена комплексному изучению и характеристике заводских и местных пород лошадей Российской Федерации с использованием ДНК-маркеров. На современном этапе проблема диссертационного исследования Блохиной Н.В. считается очень важной, поскольку коневодство является одной из старейших, традиционных подотраслей животноводства, и несмотря на радикальное сокращение численности лошадей, остается эффективной и многоцелевой структурной единицей животноводства страны. Поэтому объективная и точная идентификация поголовья, и паспортизация пород лошадей является весьма своевременной задачей.

В связи с этим диссертационные исследования Блохиной Н.В. являются актуальным и представляет научную ценность для развития современного коневодства Российской Федерации.

Целью диссертационной работы являлось комплексное изучение и характеристика культурных (заводских) и аборигенных (местных) пород лошадей Российской Федерации с использованием молекулярно-генетических маркеров для определения уровня биоразнообразия, особенностей генетической структуры популяций и их филогенетических связей, а также для применения в селекционных программах.

Для достижения цели были поставлены задачи: изучить генетические характеристики 30 заводских и местных пород лошадей по 17-ти микросателлитным локусам ДНК; провести сравнительную оценку их филогенетических связей на молекулярно-генетическом уровне; изучить характеристику гаплотипов мтДНК у лошадей разных пород, оценить их общность по матрилинейной структуре; проанализировать вариабельность гаплотипов мтДНК в маточных семействах чистокровной верховой, донской и вятской пород; изучить влияние инбридинга на степень гомозиготности лошадей по STR-локусам; сравнить молекулярно-генетические особенности жеребцов-производителей разных линий по микросателлитным локусам ДНК; провести генетический мониторинг популяционных параметров лошадей чистокровной верховой породы на основе микросателлитных локусов ДНК; изучить влияние гомозиготности STR-локусов на плодовитость и работоспособность лошадей чистокровной верховой породы; определить частоту мутации *GYS1* и полиморфизм генов *MSTN* и *DMRT3*.

Научная новизна работы заключается в том, что автором впервые в коневодстве России проведены:

- оценка полиморфизма 17-ти микросателлитных локусов ДНК у лошадей 30 пород;

- генетическая паспортизация и идентификации лошадей с использованием информации о митогеноме, установлены филогенетические связи;

- сравнительная характеристика аллелофонда лошадей верховых, рысистых, тяжелоупряжных и местных пород;
- дифференциация распределения аллелей и генотипов микросателлитов ДНК в разных породах лошадей,
- выявление наличия приватных аллелей,
- изучение матрилинейной структуры митохондриального генома лошадей отечественных пород,
- паспортизация маточных семейств на основе гаплотипов и гаплогрупп мтДНК;
- отслеживание влияния инбридинга на степень гомозиготности лошадей орловской рысистый и чистокровный верховой пород;
- мониторинг генетической структуры чистокровный верховой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК за три последних десятилетия;
- оценка уровня стабильности для сохранения генетической структуры чистокровный верховой породы в условиях интенсивной интродукции генов,
- изучение влияния полиморфизма генов *MSTN* и *DMRT3* на хозяйственно-полезные признаки лошадей местных пород;
- исследования по изучению у лошадей отечественных пород распространения мутации *GYS1*.

Практическая значимость и реализация результатов исследований.

Результаты исследований позволяют совершенствовать селекционные программы для 30 пород лошадей, разводимых в Российской Федерации; использовать информацию о последовательности D-петли при идентификации и оценки достоверности происхождения лошадей; определять работоспособность лошадей и темпы воспроизводства ценного генофонда в коневодстве; для заводских и местных породах лошадей систематически проводить генетический мониторинг мутации в гене гликогенсинтазы (*GYS1*).

Основные положения диссертации апробированы и получили одобрение на научно-практических конференциях с международным участием в 2018-2021 годах, проводимых в Российской Федерации. Основными из них являются:

международная научно-исследовательская конференция по продовольственной безопасности и сельскому хозяйству «CFSA 2021» (г. Ялта); V Международная конференция «Агробизнес, экологический инжиниринг и биотехнологии» AGRITECH-V 2021 (г. Красноярск).

Степень обоснованности, достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Основные положения, выносимые на защиту, и выводы диссертационной работы Блохиной Н.В. являются обоснованными результатами проведенного исследования. Автором получен большой объем данных, математический анализ которых выполнен корректно с помощью современных программ. Достоверность результатов работы подтверждается большим объемом проведенных исследований, значительным по численности животных включенных, в исследование и никаких сомнений не вызывает.

Структура и содержание работы. Диссертационная работа Блохиной Н.В. изложена на 271 странице компьютерного текста, написана хорошим литературным языком по традиционному плану и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, практические рекомендации и приложение. Диссертационная работа проиллюстрирована 43 таблицами и 44 рисунками. Библиографический список включает 509 публикации, в том числе 267 на иностранных языках.

В разделе «**Введение**» соискателем представлена актуальность и новизна исследований, приведены цель и задачи исследований, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, основные положения, выносимые на защиту, в которых заключается результативность и новизна полученных автором результатов.

Раздел «**Обзор литературы**» представлен пятью подразделами и содержит информацию об имеющихся на сегодняшний день данных по изучаемой проблеме, начиная с описания генетических маркеров лошадей и заканчивая совершенствованием пород сельскохозяйственных животных на основе методов геномной селекции. Содержание обзора литературы свидетельствует о хорошем знании диссертантом современного состояния решаемой научной проблемы, что

генетической структуры на протяжении трех десятилетий, даже в условиях интенсивной интродукции генов.

Дополнительно исследованиями Блохиной Н.В. были выявлены 8 новых митотипов нуклеотидных последовательностей контрольного участка D-петли митохондриальной ДНК, подтверждающих уникальность лошадей разных пород. Изучение распространения вариантов генов, определяющих работоспособность лошадей разных пород являются перспективными направлениями исследований. Среди них особый интерес представляет выявление негативной мутации в гене гликогенсинтазы (*GYS1*) у лошадей тяжелоупряжных пород. Анализ результатов исследований показал необходимость проведения генетического мониторинга этого дефекта в заводских и местных породах лошадей.

Результаты собственных исследований соискателя изложены четко и последовательно, хорошо иллюстрированы.

Результаты исследования подробно обсуждены в разделе **«Обсуждение полученных результатов»**. Этот раздел заслуживает особого внимания, поскольку представляет собой глубокий и всесторонний анализ полученных в ходе работы научных фактов. В процессе обсуждения результатов диссертант опирается на представленные в литературе точки зрения относительно рассматриваемых вопросов и делает обоснованные теоретические обобщения и заключения.

Диссертационная работа Блохиной Н.В. содержит 18 выводов, которые отражают результаты проведенных исследований и полностью соответствуют поставленным автором задач. Предложения производству в диссертации также обоснованы и вытекают из результатов исследований, достоверность которых не вызывает сомнений.

Диссертация Блохиной Н.В. представляет собой важное и профессионально выполненное исследование, законченной научно-квалифицированной работой. Полученные в диссертационной работе данные отражены в 57 статьях, в том числе: входящих 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

подтверждается цитированием большого количества статей, опубликованных за последние годы.

В разделе **«Материал и методы исследований»** соискателем приведена общая схема исследований, основные этапы работы, описаны методы и методики исследований. Для статистического анализа полученных данных автором было использовано программное обеспечение MS Excel 2010, Statistics 12, GENEPOP 1,3., POPULATIONS 1.2.28. (Langella O., 2002), FSTAT version 1.2 (Goudet J., 1995) и построен алгоритм обработки и анализа полученных результатов.

В разделе **«Результаты собственных исследований»** отражаются итоги, проведенных автором собственных исследований, по изучению генетической паспортизации лошадей, разводимых в Российской Федерации. Автором установлены молекулярно-генетические особенности у лошадей многочисленных породных групп, специализированных по разным направлениям селекции. Во всех обследованных популяциях отечественных пород автором установлены породные особенности и стабильная породная структура.

Для разных пород лошадей выявлены типичные аллели и оценена степень генетического сходства между ними. Популяция лошадей местных пород охарактеризована сравнительно высоким уровнем генетического разнообразия и большим числом уникальных аллелей.

Проведенный кластерный анализ уровня генетического сходства 30 пород лошадей по локусам микросателлитов ДНК дал основание Блохиной Н. В. утверждать, что заводские и местные породы существенно различаются между собой и представляют две различные филогенетические ветви.

На примере чистокровной верховой породы соискателем показана взаимосвязь микросателлитных локусов ДНК с плодовитостью и работоспособностью лошадей. Приведённая в работе характеристика линейной структуры жеребцов чистокровной верховой породы, показала межлинейные различия по частотам встречаемости исследуемых локусов.

Важное внимание в работе автора уделено генетическому мониторингу чистокровной верховой породы, который показал стабильность сохранения

регистрации базы данных, опубликовано научно-практическое издание «Руководство по использованию микросателлитов ДНК при генотипической оценке лошадей».

Автореферат диссертации в лаконичной форме и одновременно в полной мере отражает сущность данной работы.

Оценивая положительно диссертационную работу Блохиной Н. В., считаю необходимым обратить внимание автора на следующие замечания и предложения:

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 обосновано 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 *GYS1* 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.

Сформулированные замечания и предложения не влияют на общую положительную оценку работы Блохиной Н. В.

Заключение. Диссертационная работа Блохиной Нины Васильевны «ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ, СОХРАНЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ КОНЕВОДСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ» выполнена на высоком научно-методическом уровне, с использованием современного оборудования и статистической обработкой экспериментального материала и представляет интерес для решения важных проблем в коневодстве. 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, а ее автор Блохина Н. В. заслуживает присуждения ученой степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 06.02.07 - разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных.

Официальный оппонент:

Доктор сельскохозяйственных наук, доцент
кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
аграрный университет имени И.Т. Трубилина»
350044 г. Краснодар, ул. Калинина, д. 13.
т. +7(861)221-58-46, iv_shukina@mail.ru

 И.В. Щукина

Личную подпись тов.

Начальник отдела

