

## ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук Гладырь Е.А. на диссертационную работу Телегиной Елены Юрьевны на тему «Полиморфизм гена *MyoD1* у овец российских пород и его связь с мясной продуктивностью», представленную в диссертационный совет Д 999.210.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.07 – «Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных»

### **Актуальность темы диссертационной работы**

Использование современных молекулярно-генетических подходов в животноводстве является насущной потребностью, позволяющей ускорять селекционный прогресс в работе с имеющимися породами и линиями скота, а также для создания новых типов и селекционных форм. Технологии, основанные на анализе единичных SNP посредством метода ПЦР, АС-ПЦР, реал-тайм ПЦР, ПЦР-ПДРФ прочно вошли в современную рутинную практику молекулярно-генетических лабораторий страны и мира, а получаемые результаты в селекционно-племенные программы работы с породами и видами сельскохозяйственных животных. Последние годы в работе с породами сельскохозяйственных животных все активнее используются технологии полногеномного анализа, позволяющие оценить на уровне генома не только племенную ценность и продуктивный потенциал конкретного животного, но и выявить регионы и единичные SNP, ассоциированные с селекционируемыми признаками. Для этих целей используют как технологии анализа ДНК на чипах, так и геномное секвенирование, которое лежало в основе методологического обеспечения выполнения рецензируемой работы.

Исследование Телегиной Е.Ю. посвящено изучению генетической структуры гена миогенной дифференцировки *MyoD1*, играющего ключевую роль в развитии мышечной ткани, и выявления ассоциаций его полиморфных вариантов с признаками мясной продуктивности у овец трех пород Юга России – ставропольской, северокавказской и маньчского меринуса, что является дополнением и логическим продолжением ряда исследований, выполняемых в данной области.

Принимая во внимание все вышеизложенное, актуальность оппонируемой работы не вызывает сомнения.

### **Структура и содержание диссертационной работы**

Диссертационная работа Телегиной Е.Ю. написана с соблюдением требований ГОСТ Р 7.0.11— 2011 и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, включающих материалы и методы исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений, перспектив дальнейшей разработки темы, списка используемых сокращений и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, содержит 25 страниц, 1 рисунок; список литературы включает 253 цитируемых источника, из них 162 на иностранных языках.

Во **введении** автором четко определены цель и задачи исследования, проведен краткий анализ литературных источников по теме диссертации, аргументировано сформулирована актуальность проблемы, ее новизна и практическая значимость. Сформулированы научные положения, выносимые на защиту, показана степень достоверности и апробация результатов, отмечено личное участие в выполнении работы на уровне 85%.

**Обзор литературы** изложен на 30 страницах и состоит из четырех разделов. В первом разделе дается представление о геномной и MAS селекции в животноводстве; во втором перечисляются применяемые в животноводстве молекулярно-генетические маркеры, показаны их плюсы и минусы; в третьем приводится информация о строении и функции гена-кандидата *MyoD1*, как маркера мясной продуктивности у сельскохозяйственных животных, в заключительном четвертом разделе приводится описание пород овец, перспективных, по мнению автора, для получения мяса.

В разделе **«Собственные исследования»** (стр. 40-50) приводятся сведения о месте и сроках проведения исследований, объектах исследования; методах исследования, включающих выделение ДНК, оценки ее качества, создания ДНК библиотек, ЛМ-ПЦР, эмПЦР, высокопроизводительного секвенирования, картирования и описания полученных SNP и инсерций с использованием программного обеспечения GS Reference Mapper v. 2.9, «Unipro UGENE» и информационных ресурсов открытого доступа. В отдельном подразделе подробно приведены методы и методика оценки мясной продуктивности овец.

Третий раздел, в котором изложены **результаты собственных исследований** включает 9 подразделов, и содержит 55 страниц. В подразделе 3.1 изложены результаты секвенирования и анализ строения гена-кандидата *MyoD1*, у овец трех российских пород, представленных каждая 15 головами, показаны выявленные полиморфные варианты с точным местом локализации в основных структурных частях гена. В подразделах 3.1.1. – 3.1.3 представлен анализ полиморфизмов изучаемого гена-кандидата *MyoD1* в ставропольской, манычский меринос и северокавказской породах овец. Подробно проанализированы идентифицированные SNP, с указанием места локализации, хромосомальной позицией, частотами встречаемости аллелей и генотипов. Впервые в кодирующих и регуляторных участках гена-кандидата *MyoD1* у баранов ставропольской, манычский меринос и северокавказской пород выявлены 10, 11 и 12 SNP, соответственно. Выполнен анализ образующихся, посредством обнаруженных однонуклеотидных замен и их положения в структуре гена, вариантов условных генотипов в каждой породе овец. Проведено сравнение полученных данных по частотам встречаемости аллелей гена *MyoD1* у исследованных пород с аналогичными данными по марокканским и иранским породам, представленными в базе Ensembl. Автором реконструированы аминокислотные последовательности кодируемого пептида в каждой породе, проведен сравнительный анализ на референсную последовательность и проанализированы изменения аминокислотного состава белка.

В подразделе 3.1.4. представлен сравнительный анализ полиморфизма гена-кандидата *MyoD1* у трех исследованных российских пород овец. Генотип ни одного из 45 исследованных баранчиков не совпал с референсной последовательностью. Проанализированы частоты встречаемости общих для всех трех пород и породоспецифичных SNP между российскими породами, а также в сравнении с марокканскими и иранскими овцами.

Подраздел 3.1.5. посвящен поиску связей полиморфизмов гена-кандидата *MyoD1* с показателями мясной продуктивности у баранчиков ставропольской породы. Показана достоверная ассоциация полиморфизмов с.-1687T>C и с.\*2171A>G с некоторыми прижизненными промерами и убойными показателями.

В подразделе 3.1.6 показана достоверная связь полиморфизмов с.-1235G>A и совокупного с.\*442C>T и с.\*473G>T гена-кандидата *MyoD1* с показателями мясной продуктивности у баранчиков-годовичков породы манычский меринос.

Выявлены достоверные связи SNP с.-1235G>A, с.\*1279A>C и с.-412G>T с некоторыми показателями мясной продуктивности у баранчиков северокавказской породы по изучаемому гену-кандидату (подраздел 3.1.7).

Последний подраздел 3.1.8, главы 3, посвящен заключительному анализу достоверных ассоциаций между аллелями и генотипами гена-кандидата *MyoD1*, и показателями предубойной живой массы, массы парной туши и абсолютной массы мякоти, указывающих на мясную продуктивность баранчиков изучаемых пород. В ставропольской породе потенциально желательными являются генотипы с.-1687CC и с.\*2171GG, в породе манычский меринос - генотипы с.-1235AA, с.\*442CC и с.\*473GG, и в северокавказской породе с.\*1279AA ( $p \leq 0,05$ ).

В разделе 4 **Заключение** Елена Юрьевна кратко суммирует полученные результаты и отмечает, что у овец ставропольской породы с показателями продуктивности связаны однонуклеотидные замены с.-1687T>C и с.\*2171A>G. У овец породы манычский меринос с мясной продуктивностью связаны замены с.-1235G>A, с.\*442C>T и с.\*473G>T. У овец северокавказской породы с параметрами мясной продуктивности связаны замены с.-1235G>A и с.\*1279A>C.

Резюмируют работу 7 выводов, которые в основном отражают результаты собственных исследований.

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

По результатам проведенных исследований соискателем на защиту выдвинуты 3 положения, основным, практически значимым из которых, по моему мнению, является выбор маркерных аллелей гена-кандидата *MyoD1* для оценки и прогнозирования мясной продуктивности овец пород ставропольская, северокавказская и манычский меринос. Стоит отметить, что соискателем получены первичные достоверные результаты, позволяющие говорить о тенденции влияния полиморфных вариантов гена *MyoD1* на мясную продуктивность овец. Необходимо дополнительно на расширенной выборке

племенных животных изученных пород оценить влияние потенциальных маркерных аллелей на показатели мясной продуктивности животных.

Обоснованность результатов проведенных исследований определяется их методологией. Исследования выполнены на базе кафедры физиологии, хирургии и акушерства ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», в лабораториях Научно-Диагностического и Лечебного Ветеринарного Центра ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» и лабораториях ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНЦ» с использованием современных молекулярно-генетических методик, оборудования и программ обработки больших массивов генетических данных, что в ряде случаев позволило получить обоснованные научные данные, нашедшие свое отражение в выводах и практических предложениях. Эксперименты проведены на баранчиках-годовиках трех пород по 15 голов от каждой.

Во многом обоснованность положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется качеством и количеством научных публикаций, и апробацией результатов на различных конференциях. Автором опубликовано 10 статей, в т.ч. 1 WoS (Journal of the Hellenic veterinary medical society, 2017, №68(3)), 1 Scopus (Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 2018, №1), 3 в журнале ВА Минобрнауки РФ журналах (Актуальные вопросы ветеринарной биологии, 2017, №2; Вестник Курской ГСХА, 2018, №1; Аграрный научный журнал, 2018, №6), 2 методические рекомендации и представлено на 4-х конференциях.

Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

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

Научная новизна исследований заключается в получении новых знаний о структуре гена-кандидата *MyoD1*, выявленных в нем SNP, в т.ч. впервые описанных автором. Изучена частота встречаемости отдельных аллелей гена-кандидата *MyoD1*, а также проведена оценка связи его различных аллельных вариантов с показателями мясной продуктивности на примере баранчиков российских пород: ставропольская (n=15), северокавказская (n=15) и манычский меринос (n=15).

Полученные результаты, несомненно, необходимо широко апробировать на племенных животных вышеназванных пород, для подтверждения полученных при выполнении диссертационной работы тенденций и закономерностей.

Выявленные закономерности и предложения представляют также определенный интерес и могут быть использованы в научных целях, при составлении учебных пособий, чтении лекций, а также при проведении практических занятий по генетике, селекции и разведению овец.

**Вопросы и замечания к диссертационной работе.** Оценивая в целом положительно диссертацию Телегиной Елены Юрьевны, считаю необходимым остановиться на некоторых недостатках и сделать следующие замечания:

1. По тексту диссертации существуют расхождения в частотах встречаемости аллелей в ставропольской породе «...встречаемость мутации с.-1687Т>С составляет 60 %. Частота встречаемости замены с.\*2171А>G составляет 30 %» (стр. 82). Однако в таб. 2 на стр.55-56 частоты встречаемости аллелей С в поз. с.-1687 и G в поз. с.\*2171 составляют 70 и 20 %%, соответственно. Аналогично встречены расхождения по породе манычский меринос, где «частота встречаемости замен с.-1235G>А, с.\*442С>Т и с.\*473G>Т составляет 30 %», в то время, как в таб. 5 стр. 63-64 частота встречаемости с.-1235А, с.\*442Т и с.\*473Т составляют 20, 10 и 10 %%, соответственно. Автором допущена неточность (стр. 95) в указании частоты встречаемости аллеля с.-1235А, равной 50 %; замена с.\*1279С встречается с частотой 67 %, в то время как в табл. 8 стр. 70 частоты аллеля с.-1235А и с.\*1279С равны 37 и 63 %%, соответственно.
2. Считаю дискуссионным суждение автора о «близкой» частоте встречаемости мутантных аллелей у овец ставропольской, иранских и марокканских пород (стр. 60). Данное утверждение верно лишь для ряда позиций гена *MyoD1*. Например, для позиций с.\*1279С, с.\*2065G, с.\*2171G разница между ставропольской и марокканскими породами составила 25, 38 и 70%%, соответственно. Аналогичная тенденция наблюдается и для северокавказской породы (стр. 75) в позициях с.\*1840Т и с.\*2065G, где разница с иранскими породами составила 20 и 42%%, соответственно.
3. В главе 2 стр. 48 автором сказано, что «Согласно используемым методическим рекомендациям для более глубокого изучения мясных качеств после 60-ти дневного откорма был произведен контрольный убой всех исследуемых баранчиков в 12-ти месячном возрасте». Анализ табл. 12, 14, 16, 18, 20, 22 и 24, показывает, что среднесуточные привесы животных на откорме составляли для ставропольской породы 64,66-86,17 гр., для манычского мериноса 80,83 - 97,00 гр., для северокавказской породы 124,17 – 146,67 гр. Хотелось бы получить пояснение автора по интенсивности откорма опытных животных и как следствие, эффективности реализации их генетического потенциала.
4. Не совсем понятно, на основании каких генотипов гена *MyoD1*: гомо- или гетерозиготных, сделаны выводы о достоверных влияниях мутаций на мясную продуктивность животных изучаемых пород. В табл. 12, 14, 16, 18, 20, 22 и 24 в последнем столбце некорректно указаны уровни достоверности различий, вместе с тем, в примечании к таблицам сказано: «Достоверность различий с группой гомозигот по дикому аллелю обозначена: \* –  $p \leq 0,05$ ». Хотелось бы получить пояснения.
5. В северокавказской породе в позиции с.\*1279 указано, что частота встречаемости генотипа АА равна 0,27 (таб. 8, стр. 71), что соответствует 4 головам, однако в таблицах 21-22 (стр. 99-100) показано, что животных с АА генотипом 5 гол. Исходя из этого

вызывают некоторое сомнение представленные в этих таблицах данные и сделанные на их основе выводы. Хотелось бы получить пояснение.

6. В гл. 3.1.8 (стр. 104) автор пишет: «С целью повышения мясной продуктивности у овец ставропольской породы, необходимо элиминировать из популяции аллели с.-1687Т и с.\*2171А, у баранчиков породы маньчский меринос аллели с.-1235G, с.\*442Т и с.\*473Т. У северокавказской породы необходимо исключить из разведения особей, несущих аллель с.\*1279С». Достаточно ли, по мнению автора, используя информацию по определенному генотипу баранчиков, представленных в экспериментальной выборке животными от двух до 5 голов в группе (таб. 25) делать вывод о всей породе. Считаю преждевременным делать на основании исследования лишь 15 голов вывод о необходимости элиминации тех или иных аллелей из популяции животных определенной породы. Для таких рекомендаций необходимо проведение более широкой апробации с целью подтверждения выявленных тенденций на большем поголовье животных.
7. Хочется пояснить, что аббревиатуры генов всегда пишутся *курсивом*. Необходимо исправить во всем тексте диссертации, включая выводы, количество нуклеотидных замен, идентифицированных в гене *MyoD1* у овец северокавказской породы с 39 на 40 (см. табл. 9). В таблицах 2, 5, 8 желательно частоты встречаемости аллелей и генотипов в гене *MyoD1* привести к единообразию до второго знака после запятой. В работе имеются неточности, описки, повторы фраз, некорректное использование терминов (стр. 32, северокавказская порода «Мясная продуктивность молодняка в девятимесячном возрасте составляет: среднесуточный прирост живой массы -233,3 г/сут, живая масса перед убоем – 49,5 кг... (В.А. Отрадных с соавт., 2005; А.А. Омаров, 2012)» и стр. 34, ставропольская порода «Мясная продуктивность молодняка в девятимесячном возрасте составляет: среднесуточный прирост живой массы – 233,3 г/сут, живая масса перед убоем – 49,5 кг... (А.М. Беляева, 2009)»); стр. 47. встречается 2 раза описание индекса сбитости; стр. 49 - в диссертационной работе не представлен расчет «индекса генетического сходства между породами... по формуле М. Нея (1981)»; стр. 51 – в названии раздела 3.1. повтор «Строение гена-кандидата *MyoD1* у овец российских пород овец»; стр. 83 - «Носители мутации с.-1687Т>С превосходят животных с диким генотипом по ширине зада на 7,5 %. По ширине лопаток животные...»; в табл. 12, 14, 16, 18, 20, 22 и 24 используется показатель мясной продуктивности «**Косая длина туши, кг**», следует внести корректировку в значения столбцов 5 и 6 таб. 25 (стр. 105), и т.д.).

Указанные замечания носят в основном редакционный характер и не снижают существенно общей оценки работы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Телегиной Елены Юрьевны на тему «Полиморфизм гена *MyoD1* у овец российских пород и его связь с мясной продуктивностью» является в целом завершенной научно-квалификационной работой, в которой соискатель изучила структуру гена-кандидата *MyoD1* у овец трех российских пород методом высокопроизводительного секвенирования нового поколения. В структуре гена-кандидата *MyoD1* у овец пород ставропольская, северокавказская и манычский меринос выявлены SNP, часть которых описана впервые. Изучена частота встречаемости отдельных аллелей гена-кандидата *MyoD1* на примере баранчиков трех российских пород. Автором выявлены достоверные связи части аллельных вариантов гена-кандидата *MyoD1* с показателями мясной продуктивности баранчиков. Диссертация написана научным языком, аккуратно оформлена. Автор старалась по каждой главе и работе в целом делать четкие выводы. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Оценивая кандидатскую диссертационную работу Е.Ю. Телегиной в целом, считаю, что она соответствует специальности 06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных, и является актуальной, законченной научной работой, выполненной на хорошем научном уровне. По своей научной новизне, практической значимости и объему полученных данных она соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (ред. от 02.08.2016), а ее автор Телегина Елена Юрьевна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных.

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук (03.00.23),  
ведущий научный сотрудник лаборатории  
молекулярных основ селекции  
ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста

Е.А. Гладырь

Подпись Елены Александровны Гладырь заверяю

*Начальник отдела регистрации*



05.03.2019

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение - Всероссийский федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста

Адрес: 142132, Московская обл., Городской округ Подольск, п. Дубровицы, д. 60

Тел.: +7(4967) 65-11-63, +7(4967) 65-11-01

e-mail: priemnaya-vij@mail.ru