

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора сельскохозяйственных наук, профессора, профессора кафедры биологии, морфологии и вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Донской государственный аграрный университет» **Федорова Владимира Христофоровича** на диссертационную работу Лесняка Артёма Васильевича на тему: «Эффективность использования ДНК-маркеров при совершенствовании хозяйственно полезных признаков крупного рогатого скота джерсейской породы», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных в диссертационный совет Д 99.2.123.02 на базе ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» и ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Актуальность темы. В условиях современных экономических вызовов и необходимости импортозамещения, повышение эффективности молочного производства, рост продуктивности животных и улучшение качественных характеристик молока становятся первостепенными задачами. Одним из наиболее перспективных направлений для достижения этих целей является совершенствование генетического потенциала разводимых пород крупного рогатого скота. Адаптационные способности и эффективность конверсии корма делают джерсейскую породу крупного рогатого скота привлекательной для различных систем содержания. Однако для полной реализации генетического потенциала этой породы в конкретных природно-климатических условиях Ставропольского края необходимо проведение углубленных исследований.

Внедрение современных молекулярно генетических методов, в частности, маркер-ассоциированной селекции (MAS), открывает новые возможности для идентификации животных с желательными генотипами на ранних этапах онтогенеза, что позволяет значительно ускорить темпы селекции и повысить точность отбора. Среди множества генов, влияющих на хозяйственно-полезные признаки, особое внимание уделяется генам гормона роста (bGH) и бетаказеина (CSN2). Наряду с изучением генов-кандидатов, оценка общего генетического разнообразия и структуры популяции имеет фундаментальное значение для разработки долгосрочных селекционных программ и сохранения генофонда породы. Использование высокополиморфных микросателлитных

(STR) маркеров позволяет охарактеризовать уровень генетической изменчивости.

В этой связи, диссертационная работа Лесняка Артёма Васильевича по изучению ассоциаций полиморфизма генов гормона роста и бета-казеина с комплексом хозяйственно полезных признаков у коров джерсейской породы, дополненная анализом генетического разнообразия по STR-маркерам, является актуальным научным направлением, имеющим важное теоретическое и практическое значение для повышения эффективности отечественного молочного скотоводства.

Степень обоснованности научных положений выводов и рекомендаций сформированных в диссертации. Выносимые автором на защиту положения сформулированы на основе материалов диссертации. Выводы и рекомендации производству обоснованы и вытекают из результатов собственных исследований автора, в которых отражен научно-практический анализ материалов исследований по изучению полиморфизмов гормонов роста, играющих центральную роль в регуляции развития и лактации, связанных с удоем и составом молока. Выявление связей STR локусов с хозяйственно-полезными признаками, дополняет информацию, полученную от анализа генов-кандидатов по джерсейской породе.

Материалы диссертации были представлены, обсуждены и одобрены на конференциях разного уровня.

Достоверность и новизна научных положений выводов и рекомендаций. Достоверность результатов, полученных в ходе исследований, подтверждается применением общепринятых методов, включая зоотехнические, а полученные данные автор подверг статистической обработке с использованием компьютерных программ. Молекулярно-генетические исследования и биохимический скрининг показателей крови выполнены на базе аккредитованных лабораторий ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»: лаборатории селекционного контроля качества молока и лаборатория

молекулярно-генетической экспертизы, оснащенных высокоточным аналитическим оборудованием.

Научная новизна положений, выводов и рекомендаций для производства заключается в том, что Лесняк Артём Васильевич впервые в практике молочного скотоводства провел комплексную молекулярно-генетическую оценку популяции джерсейского скота в климатических условиях юга России. Осуществил системный анализ полиморфизма генов *bGH* и *CASB*, в ходе которого выявил достоверные ассоциации их аллельных вариантов с широким спектром хозяйственно полезных признаков: показателями молочной продуктивности и качеством молока, интенсивностью роста молодняка, особенностями экстерьера и воспроизводительными способностями. Провел микросателлитный анализ (по STR-локусам), позволивший охарактеризовать аллели и генетическую структуру стада, а также выявить маркеры, сопряженные с продуктивностью. Доказана экономическая эффективность и целесообразность интеграции ДНК-тестирования по генам *bGH* и *CASB* в селекционные программы для совершенствования племенных качеств коров джерсейской породы.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследований, проведенные Лесняком Артёмом Васильевичем, позволили расширить фундаментальные представления о необходимости генетического контроля хозяйственно полезных признаков у крупного рогатого скота джерсейской породы, уточняя роль генов гормона роста и бета-казеина в детерминации молочной продуктивности, роста, экстерьера и репродукции. Исследование дополняет знания о генетической структуре популяции джерсейского скота, разводимого в условиях юга России, выявляя множественное (плейотропное) действие исследуемых генов через их ассоциации с различными хозяйственно полезными признаками.

Практическая значимость исследования заключается в выявлении ДНК-маркеров, ассоциированных с высокой молочной продуктивностью и другими желательными признаками коров джерсейской породы. Информация об ассоциации генотипа (A1/A2) гена бета-казеина с качественными характеристика-

ми молочной продуктивности, позволит проводить отбор животных для формирования высокопродуктивных стад. В свою очередь, использование полиморфизма гена гормона роста (bGH) представляет высокую практическую ценность для оптимизации количественных показателей продуктивности при выращивании молодняка. Экономическая оценка подтверждает целесообразность применения разработанных подходов на основе ДНК-технологий для повышения рентабельности разведения джерсейского скота.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней. Диссертационная работа Лясняка Артёма Васильевича является завершённой научно-исследовательской работой, посвящённой актуальному вопросу – повышению продуктивности джерсейской породы скота в условиях интенсивного производства молока. Автореферат в необходимом объёме отражает основные научные положения диссертации. Работа в целом соответствует требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней» (от 24.09.2013 года №842), паспорту специальности 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных, а именно пунктам:

1. Совершенствование существующих и создание новых пород, типов, линий, семейств и кроссов сельскохозяйственных животных.
2. Совершенствование и разработка новых методов оценки племенных и продуктивных качеств сельскохозяйственных животных.
3. Изучение молекулярно-генетических механизмов, определяющих биологические и хозяйственно-полезные качества животных, включая продуктивность и резистентность к заболеваниям.

Личный вклад автора в разработку научной проблемы. Автором была обоснована актуальность темы, сформулирована цель и поставлены задачи исследования. Экспериментальная часть работы, включая формирование выборок животных, мониторинг показателей роста и продуктивности, а также анализ генетической структуры стада, выполнена автором лично. Соискатель самостоятельно провел биометрическую обработку данных, интерпретировал

полученные результаты и подготовил их к публикации. В заключении диссертации представил выводы, которые сделал на основе тщательного анализа и обобщения результатов.

Публикации автора. По материалам диссертационной работы опубликовано 11 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 2 статьи в российских журналах, входящих в RSCI, 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе цитирования Scopus, 4 статьи, входящих в сборники научных конференций. **Оценка содержания, завершенность работы и качество оформления диссертации.** Диссертационная работа Лесняка А.В. представлена на 130 страницах машинописного текста. Работа иллюстрирована 35 таблицами и 7 рисунками. Структура рукописи включает введение, обзор литературы, методическую часть, главу собственных исследований, заключение, предложения производству и перспективы развития темы. Список литературы состоит из 260 источников, включая 97 зарубежных авторов. Работа содержит список сокращений.

В разделе «Введение» отражены актуальность диссертационного исследования, степень ее разработанности, цель и задачи исследований, научная новизна, а также теоретическая и практическая значимость работы. Описаны методология и методы исследований, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация работы. Кроме того, представлен личный вклад автора и перечислены публикации результатов исследований.

В раздел «Обзор литературы» соискатель представил теоретический материал по вопросам: «Состояние и перспективы использования молочных пород крупного рогатого скота в России», «История формирования и современное состояние джерсейской породы крупного рогатого скота», «Традиционные и современные подходы к оценке признаков продуктивности крупного рогатого скота молочного направления», «Молекулярно-генетические методы в животноводстве», «Генетические маркеры продуктивности и их роль в селекции крупного рогатого скота». Раздел подготовлен на основе анализа 260 источников, составляет 17,7% от общего объема диссертации. К положительной сто-

роне анализа литературных источников соискателем можно отнести тщательность проработки научных исследований последних 20 лет.

В разделе «Материал и методы исследований» соискателем представлена общая схема исследования, которая включает проведение основного научно-производственного опыта на базе ООО «Агроальянс Инвест» Александровского района, Ставропольского края, также представлен перечень методов исследования и изучаемых показателей, что позволяет четко определить параметры, на которые будет ориентироваться исследование. Приведены частные методики исследования: оценки роста и развития, экстерьера и типа телосложения, репродуктивных функций, контроля молочной продуктивности и качественно-го состава молока, биохимический анализ сыворотки крови, генотипирования, статистической обработки, экономической эффективности.

В разделе «Результаты собственных исследований» представлен детальный анализ экспериментальных данных, полученных в ходе научных исследований по оценке генетического разнообразия и структуры популяции по генам bGH и CASB на 361 корове джерсейской породы. Представлен анализ полиморфизма p.Leu127Val (rs41923484) гена гормона роста (bGH) и полиморфизма p.Pro67His (rs43703011) гена бета-казеина (CASB), ассоциированных с хозяйственно-полезными признаками. Автором установлено, что в популяции по гену bGH преобладает аллель G (0,59), а по гену CASB аллель C (0,61). Следующий этап исследований включал анализ распределения частот генотипов среди животных исследуемой популяции. Выявленная закономерность выразилась в дефиците гетерозигот по гену bGH ($\chi^2 = 4,79$; $p < 0,05$), где частота генотипов составила: C/C 19,9%, C/G 42,9%, G/G 37,2%. Напротив, в исследуемом полиморфизме гена CASB наиболее часто встречался гетерозиготный генотип C/A (77,0%), что свидетельствует о значительном избытке гетерозигот ($\chi^2 = 137,77$; $p < 0,001$).

Ассоциация полиморфизма в генах bGH и CASB с показателями роста и развития молодняка изучалась по динамике живой массы и приростов ремонтных телок в зависимости от генотипа. Выявлены взаимосвязи полиморфных

вариантов с интенсивностью роста молодняка. Установлена закономерность преимущества генотипов по величине среднесуточного и абсолютного приростов в период 6–10 месяцев. Наибольшей энергией роста обладали животные с генотипом $bGH^{G/G}$, превосходящие гетерозиготных особей по абсолютному приросту на 2,79кг, по среднесуточному – на 23,26г ($p < 0,05$). Аналогичное преимущество в данный возрастной период выявлено у носительниц гомозиготного генотипа $CASB^{C/C}$, превосходивших аналогов (C/A) на 2,97кг и 24,66г соответственно ($p < 0,05$). Поскольку ген $CASB$ связан с молочной продуктивностью, выявленная ассоциация с ростом носит косвенный характер и, вероятнее всего, обусловлена его генетическим сцеплением с локусами количественных признаков (QTL), регулирующими развитие молодняка.

Анализ комплексных генотипов позволил установить, что их влияние носит выраженный период-зависимый характер. Выявлено, что комплексный генотип $bGH^{C/C}CASB^{C/C}$ обеспечивает максимальный стартовый рост (абсолютный прирост от рождения до 6 месяцев составил 147,8кг), в то время как генотип $bGH^{G/G}CASB^{C/C}$ обуславливает высокую интенсивность развития в период полового созревания (прирост за 6–10 месяцев достиг 97,48кг, $p < 0,05$). К 12-месячному возрасту статистически значимые различия в живой массе между группами нивелировались, что свидетельствует о выравнивании темпов роста по мере приближения к физиологической зрелости.

При рассмотрении показателей молочной продуктивности с учетом полиморфности генов установлено, что особи с генотипом $bGH^{C/C}$ превосходили животных других групп по валовому удою на 258–393кг ($p < 0,05$), выходу белка на 15,3 кг (на 5,8%) больше, чем у группы G/G ($p < 0,05$) и выходу жира на 15,0кг (на 4,2%) больше, чем у сверстниц той же группы G/G ($p < 0,05$). Животные с генотипами C/G и G/G достоверно ($p < 0,05$) превосходили коров с генотипом C/C по содержанию общего сухого обезжиренного остатка (СОМО общ.) на 0,24% и 0,28% соответственно. Содержание казеина у носителей аллеля G (генотипы C/G и G/G) было на 0,05-0,06% выше, соответственно.

Таким образом, исследования проведенные соискателем доказывают, что для достижения максимального экономического эффекта селекционной работы необходимо формировать стада с оптимальным сочетанием генотипов по нескольким генам-маркерам. Комплексный генетический подход является наиболее эффективной стратегией для повышения рентабельности и конкурентоспособности молочного скотоводства.

Диссертационная работа включает обсуждение результатов исследований автора и других учёных, выводы, предложения производству, основанные на полученных данных и направленные на решение поставленных целей и задач. По итогам работы Лесняк А.В. сформулировал 7 выводов, которые вытекают из результатов исследований. Все разделы диссертации логически взаимосвязаны, но каждый из них является самостоятельным. Работа отличается завершенностью и выполнена на высоком научно-методическом уровне. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Отмечая актуальность, научную новизну, научно-практическую значимость проведенных исследований и оценивая в целом работу положительно, хотелось бы получить разъяснения на вопросы, которые возникли в процессе ознакомления с диссертацией и авторефератом:

1. В разделе «Обзор литературы» ссылки на авторов приведены в скобках с указанием автора и года публикации, а ссылок в квадратных скобках на номер источника в библиографическом списке диссертации нет (ГОСТ. Р.7.0.5.-2008).
2. В разделе «Материал и методика исследований» Вы указываете, что сформировано три группы: 1 -361 гол.; 2 – 2382 гол.; 3 группа – контрольная - 350 гол. Поясните, почему в своих исследованиях Вы не приводите данных по росту, развитию, продуктивности, в частности молочной продуктивности, репродуктивности у контрольной группы (в диссертации разделы: 3.2.1., 3.3., 3.4.). При наличии таких данных можно было бы дать объективную сравнительную оценку показателей выборки и показателей генеральной совокупности.
3. Как Вы обосновываете выбор гена гормона роста и гена бета-казеина в Ваших исследованиях? По анализу научных работ: Габидуллина В.М., Алимова С.А.,

Фролова А.Н., Максименко В.Ф., Сулимовой Г.Е., Калашниковой Л.А., Кулешовой Е.А. и др. эти гены и их полиморфизмы достаточно изучены.

4. Поясните, имеют ли существенное значение для молочного направления продуктивности, выявленные Вами STR-локусы, ассоциированные с живой массой и среднесуточным приростом?
5. В главе 3.1 при анализе генетической структуры стада по гену *bGH* выявлен статистически значимый дефицит гетерозигот. Как можно объяснить данное отклонение от равновесия Харди-Вайнберга? Является ли это следствием специфики формирования групп животных в хозяйстве или результатом направленного селекционного давления?
6. Вами выявлены 5 локусов: ETH3, CSSM66, CSRM60, BM2113 и BM1824, ассоциированных с молочной продуктивностью. Поясните, используется ли полученная информация в селекционной работе со стадом? Возможно, есть какие-либо акты внедрения?
7. В таблице 31, стр. 96, Вы приводите биохимические показатели сыворотки крови коров выборки и контрольной группы. На наш взгляд перечень биохимических показателей, для достоверной репрезентации, необходимо было расширить, добавив фракции белка, холестерол, триглицериды, некоторые ферменты.
8. В разделе 3.7., таблица 33 максимальная рентабельность у генотипа *bGH^{cc}* - 40,9%. В таблице 34 у генотипа *CASB^{cc}* - 37,9%. У комплексного генотипа *bGH^{cc}/CASB^{cc}* - 45,2%. За счет чего так выросла рентабельность у комплексных генотипов? Как Вы это объясните?
9. В тексте диссертации встречаются некорректные выражения: на стр. 57 «разница с лидерами», на стр. 63 «с высотными промерами», на стр. 80, 81 «максимизации удоя», «максимизации выхода белка», на стр. 83 «конечного фенотипа молока», а также ошибочные словосочетания: на стр. 74 «ассоциация полиморфизма генов...на количественные и ... показатели», на 79 стр. «анализ ассоциаций комплексных ... на молочную продуктивность».

Следует подчеркнуть, что вышеперечисленные замечания носят уточняющий и дискуссионный характер, не снижают научную и практическую значимость диссертационной работы и могут быть рассмотрены в качестве предложений для продолжения исследований в будущем.

Заключение. Диссертационная работа Лесняка Артёма Васильевича на тему: «Эффективность использования ДНК-маркеров при совершенствовании хозяйственно полезных признаков крупного рогатого скота джерсейской породы» является завершённой научно-исследовательской работой, выполненной на современном методическом уровне. Представляет перспективное решение актуальной задачи по формированию высокопродуктивных стад джерсейского скота путём отбора животных-носителей ценных генотипов p.Leu127Val в гене *bGH* и p.Pro67His в гене *CASB*, а также использования идентифицированных ассоциаций микросателлитных (STR) локусов с показателями молочной продуктивности и интенсивности роста молодняка.

Считаю, что диссертация по актуальности и новизне исследований, научной и практической значимости полученных результатов, их объективности и достоверности соответствует паспорту специальности 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных и требованиям согласно пп. 9, 10, 11, 13, 14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней» ВАК Российской Федерации от 24.09.2013 года №842, а ее автор Лесняк Артём Васильевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных.

Официальный оппонент:

гражданин Российской Федерации, доктор сельскохозяйственных наук (по специальности 06.02.01 – Разведение, селекция, генетика и воспроизводство сельскохозяйственных животных, 1998), профессор, профессор кафедры биологии, морфологии и вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Донской государственный аграрный университет»

Федоров Владимир Христофорович

e-mail: 9286109975@mail.ru

346493, Ростовская область, Октябрьский район, п. Персиановский, ул. Кривошлыкова, д. 24. Телефон: +7(86360)3-61-50; 3-51-70. Сайт: <https://www.dongau.ru/> E-mail: dongau@mail.ru

Подпись доктора сельскохозяйственных наук, профессора Федорова Владимира Христофоровича заверяю: Учёный секретарь Учёного совета университета, кандидат с.-х. наук, доцент

«08» _____



Мажуга Геннадий Евгеньевич

346493, РФ, Ростовская область, Октябрьский (с) р-он, пос. Персиановский, ул. Кривошлыкова 24, ФГБОУ ВО «Донской ГАУ»

Я, Федоров Владимир Христофорович, согласен на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных, необходимых для процедуры защиты диссертации **Лесняка Артёма Васильевича** исходя из нормативных документов Правительства, министерства науки и высшего образования и ВАК, в том числе на размещение их в сети Интернет на сайте ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ», на сайте ВАК, в единой информационной системе.

Доктор сельскохозяйственных наук

(по специальности 06.02.01 – Разведение, селекция, генетика и воспроизводство сельскохозяйственных животных, 1998),

профессор, профессор кафедры биологии, морфологии и вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Донской государственный аграрный университет».

Федоров Владимир Христофорович

Подпись доктора сельскохозяйственных наук, профессора Федорова Владимира Христофоровича заверяю: Учёный секретарь Учёного совета университета, кандидат с.-х. наук, доцент

«08» _____



Мажуга Геннадий Евгеньевич

346493, РФ, Ростовская область, Октябрьский (с) р-он, пос. Персиановский, ул. Кривошлыкова 24, ФГБОУ ВО «Донской ГАУ».