

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента – заместителя директора по НИР и биологической безопасности ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», доктора биологических наук, Чернова Альберта Николаевича на диссертационную работу Гильманова Хамида Халимовича по теме «Генотипирование крупного рогатого скота по генам, определяющим устойчивость к лейкозу, и геноидентификация его этиологического агента», представленную в диссертационный совет при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных; 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

### **Актуальность темы исследования.**

В настоящее время лейкоз является одним из наиболее распространенных заболеваний крупного рогатого скота и наносит большой ущерб животноводству нашей страны. Заболевание свойственно всем видам животных, но для крупного рогатого скота (КРС) имеет особо важное значение. Лейкоз не только приводит к гибели и преждевременной выбраковке животных, но и ставит под угрозу развитие племенных хозяйств, ведение селекционной работы, использование продуктов животноводства. Для искоренения лейкоза крупного рогатого скота в систему противозооотических мероприятий внедряют раннюю ПЦР-диагностику провирусной ДНК с последующим удалением инфицированных животных из стада. Молекулярно-генетические методы исследования позволяют оценить генетическое многообразие вируса бычьего лейкоза, и являются наиболее информативными подходами к его геноидентификации, как при использовании филогенетического анализа секвенируемых нуклеотидных последовательностей ДНК провируса, так и ПЦР-ПДРФ-анализа в соответствии с филогенетической классификацией возбудителя.

Поэтому весьма актуальным представляется изучение генотипирования скота по определенным генам на уровне ДНК, и определяющими устойчивостью к лейкозу крупного рогатого скота.

Разработка эффективных способов профилактики и борьбы с лейкозом крупного рогатого скота является одной из важнейших задач не только ветеринарной медицины, животноводства, но и биологии, и экологии в целом, имеющих непосредственное отношение к безопасности здоровья человека.

В связи с вышеизложенным, можно заключить, что диссертационная работа Хамида Халимовича Гильманова актуальна и имеет большое практическое значение.

#### **Научно-практическая значимость работы.**

Разработан способ проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AN13-1 гена *iNOS*.

Оптимизированы условия проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* до уровня, пригодного для дальнейшей процедуры типирования методом секвенирования (SBT).

Изучена связь генотипов полиморфного маркера AN13-1 гена *iNOS* и гена *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков.

Установлением генотипической принадлежности изолятов вируса бычьего лейкоза, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан.

Усовершенствование стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования вируса бычьего лейкоза, согласуемой с его филогенетической классификацией.

Результаты научных исследований автора позволяют внедрить предложенные научно-методические подходы к генотипированию крупного рогатого скота по генам *iNOS* и *BoLA-DRB3*, а также геноидентификации вируса бычьего лейкоза, в систему скрининговых исследований поголовья по ДНК-маркерам генетической резистентности и восприимчивости к лейкозу, а

также в систему молекулярного мониторинга инфицированности стад генотипами вируса бычьего лейкоза.

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

При подготовке диссертационной работы были использованы современные методы научных исследований – генотипирования с использованием полимеразной цепной реакции последующим рестрикционным анализом и секвенированием. Используемые в работе молекулярно-генетические методы исследований с применением математических и статистических методов при расчете количественных показателей, в совокупности обеспечило получение объективных результатов. В этой связи достоверность и надежность полученных автором экспериментальных данных не вызывает сомнений. Выводы и рекомендации соответствуют представленным в диссертационной работе экспериментальным данным.

Результаты исследований проходили апробацию на следующих конференциях: Международная научно-практическая конференция «Наука сегодня: глобальные вызовы и механизмы развития» (г. Вологда, 2017 г.); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (г. Санкт-Петербург, 2016-2017 гг.); Международная научно-практическая конференция «Вопросы современных научных исследований» (г. Омск, 2018 г.); Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова «Инновационно-технологическое развитие пищевой промышленности – тенденции, стратегии, вызовы» (г. Москва, 2018 г.).

Суммарно по теме диссертационной работы опубликовано 12 статей, в том числе 4 публикации в ведущих рецензируемых научных изданиях рекомендованного перечня ВАК, и 1 публикация в рецензируемом научном издании, входящего в международную реферативную базу данных и систему цитирования (Web of Science / Scopus).

**Общая характеристика работы.**

Структура диссертационной работы является логичной и обоснованной. Диссертация изложена на 163 страницах компьютерного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение, практические предложения, список сокращений и условных обозначений, список литературы (196 источников, в т.ч. 73 отечественных и 123 зарубежных) и приложения. Диссертация иллюстрирована 18 рисунками и включает 29 таблиц.

Во **введении** диссертант обосновывает выбор темы и ее актуальность, определяет цели и задачи исследования, формулирует ее новизну и практическую значимость. Все перечисленные пункты изложены четко и обоснованно.

**Обзор литературы** состоит из 10 глав. В обзоре дана характеристика возбудителя лейкоза крупного рогатого скота его структура и геномная организация. Уделено внимание гену *iNOS* и *BoLA-DRB3*, что оправдано темой диссертационной работы. В целом проведен глубокий анализ данных литературы по изучаемой проблеме, свидетельствует о высоком методологическом уровне диссертанта, что позволило научно обосновать адекватность выбора цели исследования и методически корректного решения поставленных задач.

В разделе «**Материалы и методы исследований**» подробно описаны методы исследований представленных в форме протокола, наглядно представлены этапы работы, приведены ссылки на методы статистической обработки. Экспериментальные методы и статистические методы обработки данных являются современными и адекватны поставленным задачам, что обеспечивает достоверность полученных результатов.

В разделе «**Результаты собственных исследований**» состоит из 9 глав включающие в себя несколько разделов. Представлены результаты оценки аллельного полиморфизма гена *iNOS* на основе разрабатываемого способа проведения ПЦР-ПДРФ, оптимизация условий проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3*, полиморфизм гена *BoLA-DRB3* и генетический статус выборки быков-производителей, изучение

ассоциативной связи генотипов гена *iNOS* и *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков, эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Татарстан за 2013-2017 гг., генотипическая принадлежность изолятов вируса бычьего лейкоза, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан, типизация изолятов ВБЛ с расшифрованными нуклеотидными последовательностями локуса *env*-гена в зависимости от выбранной стратегии геноидентификации возбудителя и Совершенствование стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ согласуемой с филогенетической классификацией возбудителя.

Все полученные данные являются новыми и приоритетными, представляя значительный интерес и подводящие итог проделанной автором работы.

В разделе «**Заключение**» широко и раскрыто, представлены выводы, полученные на основе выполненных Гильмановым Х.Х. исследований, предложения производству и перспективы дальнейшей разработки темы. Автореферат отражает основное содержание работы, которые логически вытекают из результатов проведенных исследований.

Принципиальных замечаний по работе нет. Оценивая в целом диссертационную работу Гильманова Х.Х. положительно, как высокопрофессиональное, методически зрелое научное исследование, хотелось бы высказать некоторые замечания и получить ответы на ряд вопросов:

1. Почему в данной работе используете аббревиатуру ВБЛ а не ВЛКРС?
2. С чем связано отсутствие данных по эпизоотической ситуации за 2018 год?
3. В чём выражаются отличия выявленных Вами генотипов вируса бычьего лейкоза друг от друга?

Указанные замечания не снижают общей положительной оценки диссертационной работы, и во многом носят дискуссионный характер.

## **Заключение.**

На основании анализа диссертации, представленного автореферата и публикаций автора полагаю, что рассматриваемая диссертационная работа Гильманова Хамида Халимовича на тему: «Генотипирование крупного рогатого скота по генам, определяющим устойчивость к лейкозу, и геноидентификация его этиологического агента» является самостоятельным и завершенным исследованием. По своей актуальности и уровню экспериментальных исследований, теоретического анализа полученных данных, научной новизне и значимости рассматриваемая диссертационная работа соответствует всем требованиям п.9 «Положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям, представляемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных; 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук.

### **Официальный оппонент:**

доктор биологических наук,  
заместитель директора по НИР  
и биологической безопасности.  
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»  
(Федеральное государственное  
бюджетное научное учреждение  
Федеральный центр токсикологической,  
радиационной и биологической  
безопасности)



Чернов Альберт Николаевич

Подпись докт. биол. наук А.Н. Чернова заверяю:  
ученый секретарь ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»,  
канд. вет. наук

  
21.03.2019.

Владимир Иванович Степанов

Чернов Альберт Николаевич, доктор биологических наук, 420075, г. Казань, Научный городок-2, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), тел. 8(843) 239-53-12, E-mail: rt-kazan@mail.ru