

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО «Московская
государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии – МВА имени К.И.
Скрябина», доктор ветеринарных наук,
профессор, академик РАН



Ф.И. Василевич
2019 г.

О Т З Ы В

ведущей организации ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» на диссертационную работу Тюлькина Сергея Владимировича на тему: «Молекулярно-генетическое тестирование крупного рогатого скота по генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных

Актуальность темы. В сложнейших коммерческих условиях сегодняшнего дня скотоводство не может позволить себе отставать от передовых технологий. Внедрение в традиционную селекцию новейших молекулярно-генетических методов ведёт к увеличению эффективности отрасли скотоводства. Новые открытия в молекулярной генетике позволяют выделять и изучать специальные участки генома, которые влияют на важные продуктивные и хозяйствственные признаки. Животные, имеющие эти маркерные участки, могут быть отобраны для использования в программах маркерной селекции. Этот подход оказался перспективным для признаков, имеющих низкую наследуемость и проявления, ограниченные полом – таких, как, например, показатели молочной продуктивности. Благодаря большой роли, которую играют показатели молочной продуктивности в эффективности животноводства, многие исследования сфокусированы на изучении генов, влияющих на эти показатели. Гены белков молока (CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA), гормонов (GH, PRL, LEP, TG5), фермента

(DGAT1) признаны генами-кандидатами, влияющих на молочную продуктивность и качество молока у коров.

Наряду с этим, для формирования здорового племенного и высокопродуктивного поголовья животных важной задачей ветеринарных врачей и специалистов по племенному делу является своевременная диагностика и искоренение источника, вызывающего генетически обусловленные заболевания.

В связи с этим, в работе обоснованно поставлена цель исследований, направленная на изучение полиморфизма генов белков молока, гормонов, фермента и наследственных мутаций у разных пород крупного рогатого скота разработанными и усовершенствованными способами проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ, а также выявление ассоциации отдельных и комплексных генотипов с молочной продуктивностью коров.

Научная новизна и практическая значимость работы. Разработаны и усовершенствованы способы выделения из биоматериала крупного рогатого скота и способы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по семнадцати генам, а именно генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных дефектов (CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA, GH, PRL, LEP, TG5, DGAT1, CD18, SLC35A3, F11, PYGM, UMPS, ASS, MSTN). Впервые в условиях Республики Татарстан изучена молочная продуктивность коров чёрно-пёстрой и холмогорской пород с учётом отдельных и комплексных генотипов по генам белков молока, гормонов и фермента.

Практическая значимость работы состоит в том, что автором получены данные о достоверном влиянии ряда отдельных и комплексных генотипов по генам белков молока, гормонов и фермента на показатели молочной продуктивности коров разных пород.

Полученные результаты о наличии влияния отдельных и комплексных генотипов генов белков молока, гормонов и фермента на продуктивные качества животных дают возможность совершенствования крупного рогатого

скота молочных пород с использование ДНК-маркеров в направлении повышения молочной продуктивности и могут быть использованы при составлении программ племенной работы с чёрно-пёстрой и холмогорской породами.

Достоверность и обоснованность научных положений сформулированных в диссертации. Научные положения, выводы и рекомендации сформированы автором на основании проведённых экспериментальных исследований, согласуются с целью и задачами исследований, они обоснованы фактическими данными и логически вытекают из содержания работы.

Работа выполнена на достаточном поголовье быков-производителей голштинской породы и коров чёрно-пёстрой и холмогорской пород. В проведении исследований использованы общепринятые зоотехнические, физико-химические, экономические, статистические методы, а также современные молекулярно-генетические, часть которых разработаны при личном участии автора.

Полученные экспериментальные данные обработаны биометрическим методом с использованием программы Microsoft Excel. Достоверность полученных результатов оценена с учётом критерия Стьюдента.

Результаты исследований по теме диссертации доложены, обсуждены и одобрены на международных и всероссийских научно-практических конференциях, проходящих в г. Казане (2007-2010, 2012 гг.) и г. Москве (2012, 2014, 2017-2018 гг.). По ним опубликовано 58 научных работ, в т.ч. 35 в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобразования и науки РФ (из них 4, включённые в базы данных Scopus и/или Web of Science). Получено 2 Патента РФ (№ 2528743, № 2619167), разработаны 2 научно-методические рекомендации.

Рекомендации по использованию результатов исследования, приведённых в диссертационной работе. Результаты исследований диссертационной работы Тюлькина С.В. внедрены в производство АО

«Головное племенное предприятие «Элита», ЗАО «Бирюли» Высокогорского района, ООО «Дусым» Атнинского района Республики Татарстан и рекомендованы для использования в других племенных предприятиях.

Отдельные разработки и результаты научных исследований используются лабораторией ДНК-технологий ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела», а также рекомендованы для применения молекулярно-генетическим лабораториям, входящим в государственный племенной регистр Минсельхоза РФ.

Оценка содержания работы. Диссертационная работа Тюлькина С.В. по структуре составлена в соответствии с требованиями ВАК РФ, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, заключения, предложений производству, перспектив дальнейшей разработки темы, списка использованной литературы, приложений. Диссертация изложена на 349 страницах компьютерного текста, содержит 70 таблиц, 52 рисунка. Список литературы включает 425 источников, в т.ч. 229 на иностранном языке.

Обзор литературы изложен в четырёх главах. Диссертант глубоко проанализировал источники информации отечественных и иностранных авторов, что позволило обосновать научный подход к совершенствованию молочного скота. Внимание сконцентрировано на использовании ДНК-маркеров при оценке генетического полиморфизма генов белков молока, гормонов, фермента и наследственных мутаций.

Раздел «Материалы и методы исследований» изложены в соответствии с поставленными задачами. Наряду с классическими методиками изучения показателей молочной продуктивности животных соискателем также использованы молекулярно-генетические. Представлен полный список использованного лабораторного оборудования, наборов, реагентов и расходных материалов

Глава «Результаты собственных исследований» содержит шесть основных разделов.

Первый раздел посвящён разработанным способам выделения ДНК из биологического материала (кровь и сперма) крупного рогатого скота. Представлены аммиачный и комбинированный щелочной способы экстракции ДНК, описаны их преимущества и недостатки.

Во втором разделе автор приводит обширные данные по разработке и совершенствованию способов проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов генов белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний крупного рогатого скота. В частности, представлены результаты четырёх разработок – способы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам каппа-казеина (CSN3), диацилглицерол-О-ацилтрансферазы (DGAT1) и миостатина (MSTN). Следует отметить, что по двум из разработок с наименованием «Способ проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1» и «Способ проведения ПЦР в реальном времени для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1» автором получен Патент на изобретение РФ.

В третьем разделе представлены частоты встречаемости отдельных аллелей и генотипов по локусам генов CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA, GH, PRL, LEP, TG5, DGAT1, CD18, SLC35A3, F11, PYGM, UMPs, ASS, MSTN и комплексных генотипов белков молока (CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA), гормонов и фермента (GH, PRL, LEP, TG5, DGAT1) у крупного рогатого скота разных пород. Среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей выявлено носительство CVM-мутации (ген SLC35A3) и FXID-мутации (ген F11). При этом, частота мутантного генотипа и аллелей в данной выборке быков составила 2,9% – 0,014 и 1,4% – 0,007, соответственно.

В четвёртом и пятом разделах приводятся результаты исследований по изучению молочной продуктивности коров и ближайших женских предков быков-производителей с разными отдельными и комплексными генотипами

по генам белков молока, гормонов и фермента. Проведённые исследования показали, что более высокие показатели РИБ (родословный индекс быка) по удою и жиру у быков с комплексными генотипами белков молока (CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA), гормонов и фермента (GH, PRL, LEP, TG5, DGAT1) BB/AA/AA/AB, BB/AA/AB/AA (9539 кг и 9502 кг), BB/AA/AA/AB, BB/AA/BB/AA (4,0% и 4,07%) и LL/AA/CT/CT/AA, LL/AA/CT/CT/AK (9564 кг и 9465 кг), LL/AA/CC/CC/AK, LL/AA/CT/CC/AA (4,0% и 4,05%) соответственно. При этом, наибольшими показателями по молочности, количеству молочного жира и белка обладали коровы с комплексными генотипами белков молока (CSN1S1, CSN2, CSN3, BLG, LALBA) BB/AA/AB/AB, BB/AA/AB/AA, BB/AA/AB/BB/AB (по чёрно-пёстро × голштинской породе), BB/AB/AB/AB/AA, BB/AB/AB/AB/AB, BB/AB/AB/AB/VB (по холмогорской породе татарстанского типа) и с комплексными генотипами гормонов и фермента (GH, PRL, LEP, TG5, DGAT1) LL/AA/CC/CC/AK, LL/AA/CT/CT/AK, VL/AA/CC/CC/AK (по чёрно-пёстро × голштинской породе), LL/AA/CC/CC/AA, VL/AA/CC/CC/AA, VL/AA/CT/CT/AA (по холмогорской породе татарстанского типа) соответственно.

В последнем шестом разделе представлены расчёты экономической эффективности использования первотёлок чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа с разными генотипами по гену каппа-казеина. Расчёты показали, что при содержание коров разных пород с генотипами AB и BB каппа-казеина в условиях Республики Татарстан можно получить прибыль в размере 5510,41-6800,32 руб. на 1 голову по сравнению с аналогами с генотипом AA.

В главе «Заключение» приводится обобщение по проведённым исследованиям. В итоге автором сделано восемь выводов, которые обоснованы и логически вытекают из существа проведённых исследований. Они достаточно аргументированы и объективны.

Выводы и предложения производству подтверждены результатами проведённых исследований

Содержание автореферата Тюлькина С.В. полностью отражает основные материалы и выводы диссертации, показывающие вклад автора в проведённые исследования, степень новизны и практическую значимость полученных результатов.

В ходе изучения материалов возникли некоторые вопросы и замечания:

1. Большинство из разработанных вами способов проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования по генам-маркерам крупного рогатого скота посвящаются гену диацилглицерол-О-ацилтрансферазы (стр. 134-138), с чем это связано?
2. Как Вы думаете, при широком распространении ПЦР в формате гибридизационно-флуоресцентной детекции в режиме «реального времени» для генотипирования животных будут использоваться в лабораторной практике другие способы, например: АС-ПЦР и ПЦР-ПДРФ?
3. Вследствие чего выбраны для исследования в диссертации именно эти генетические мутации: BLAD, CVM, FXID и другие?
4. Почему при оценке экономической эффективности производства молока первотёлок разных пород (стр. 236-237), как возможные факторы влияния учитывались только генотипы гена каппа-казеина, а не отдельные или комплексные генотипы других генов?
5. В диссертационной работе встречаются орфографические и стилистические ошибки.

Отмеченные недостатки и замечания не имеют принципиального значения, легко устранимы и не снижают научную и практическую значимость диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Тюлькина Сергея Владимировича на тему «Молекулярно-генетическое тестирование крупного рогатого скота по генам

белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную на высоком научно-методическом уровне, имеющую теоретическое и практическое значение. Работа выполнена диссидентом на достаточном материале с использованием современных молекулярно-генетических методов исследования и сертифицированного оборудования.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов, представленная работы отвечает требованиям ВАК Министерства образования и науки РФ п. 9. «Положение о порядке присуждения учёных степеней», предъявляемым к диссертационным работам, а её автор Тюлькин Сергей Владимирович заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных.

Диссертация и отзыв обсуждены и одобрены на заседании кафедры генетики и разведения животных имени В.Ф. Красоты ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (протокол № 9 от 25 апреля 2019 г.).

Профессор кафедры генетики и разведения
животных имени В.Ф. Красоты,
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор

Бакай Анатолий Владимирович



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»
109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23