

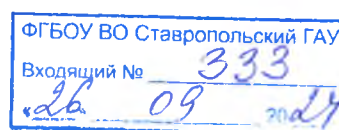
ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата биологических наук Денисковой Татьяны Евгеньевны на диссертационную работу **Егоровой Татьяны Юрьевны** по теме «Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) у овец породы джалгинский меринос для выявления новых генов-кандидатов мясной продуктивности», представленную в диссертационный совет 99.0.123.02 при ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» и ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных

Актуальность избранной темы диссертации. В настоящее время овцеводство – это один из важнейших резервов в обеспечении продовольственной безопасности государства и насыщения рынка качественным экологически чистым сырьем. Домашние овцы способны производить комплекс разнообразной ценной продукции: шерсть, продукты диетического питания (молоко и мясо), сырье для медицинской и фармакологической промышленности. Однако, учитывая потребность населения в качественных мясных продуктах и структуру современного рынка, среди продукции овцеводства на первое место выходит именно баранина.

Считается, что производство мяса овец не может конкурировать по объему, темпам производства и цене с производством мяса птицы и свинины. У овец размеры туловища – важный показатель продуктивности, роста и здоровья животных, а также их адаптации к окружающей среде, а скорость роста и масса тела – это одни из наиболее важных экономически значимых признаков, которые реагируют на направленный отбор, поэтому в последнее время востребованным целевым индикатором программ разведения овец становится совершенствование этих показателей.

В связи с этим, поиск генетических механизмов, влияющих на формирование экономически значимых признаков в овцеводстве – это актуальная задача на сегодняшний день, вызывающая повышенный научный интерес. Для понимания генетических механизмов, формирующих эти признаки, важно точно определить фенотипы, которые описывают качественные и количественные характеристики туши. Фенотипическая оценка качества мяса ограничена возможностью только постубойного измерения. Но при этом существует возможность неинвазивного и точного измерения характеристик туши у живых животных с использованием компьютерной томографии. Однако некоторые факторы такие, как высокая стоимость и ограниченная доступность, препятствуют ее массовому использованию. Таким образом, более привлекательным средством для повышения эффективности отбора является использование маркер-ориентированной селекции (MAS). Выявление локусов количественных признаков (QTL), влияющих на хозяйственно-важные признаки, и их



дальнейшее использование в MAS повысит скорость генетического прогресса. Анализ QTL позволяет идентифицировать участок хромосомы, связанный с вариацией интересующего признака и выявить позиционные гены-кандидаты.

В последнее время для различных видов сельскохозяйственных животных был проведен поиск новых QTL с использованием различных методических подходов, среди которых наиболее эффективным показал себя GWAS. Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) – это высокоинформативный биоинформационный анализ, который позволяет идентифицировать области генома, связанные с различными фенотипами, и способствует углублению знаний о генетической архитектуре сложных количественных признаков.

По сравнению с другими видами сельскохозяйственных животных в популяциях овец идентифицировано наименьшее количество QTL. Так на сегодняшний день международная база данных локусов количественных признаков овец SheepQTLdb содержит информацию о 5110 QTL по сравнению с 191181 QTL у крупного рогатого скота, 48875 QTL у свиней и 15581 QTL у кур.

В связи с этим, поиск новых QTL с использованием GWAS в качестве инструмента для выявления причинных мутаций и генов-кандидатов, влияющих на изменчивость экономически значимых признаков овец, в частности качественных и количественных аспектов мясной продуктивности, перспективен для разработки более прогрессивных программ MAS с целью наращивания темпов производства баранины.

В связи с этим, тема диссертационной работы, выполненной Егоровой Татьяной Юрьевной, является **актуальной и значимой** для поиска новых генов-кандидатов, связанных с показателями мясной продуктивности у овец породы джалгинский меринос, при помощи полногеномного поиска ассоциаций.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертация Егоровой Татьяны Юрьевны представляет собой завершённое исследование, в рамках которого были изучены и обобщены теоретические сведения, проанализированы и интерпретированы экспериментальные данные. Исследования проведены на 50 баранах породы джалгинский меринос. Учитывая то, что для генотипирования исследуемых животных использовался ДНК-чип высокой плотности, включающий в свой состав 606 006 тыс. SNP, и имеющийся опыт проведения поиска полногеномных ассоциаций в сравнительно малых выборках пород домашних овец, результаты которого отражены в публикациях в высокорейтинговых научных изданиях (например, Pasandideh M, Gholizadeh M, Rahimi-Mianji G. A genome-wide association study revealed five SNPs affecting 8-month weight in sheep. Anim Genet. 2020 Dec; 51(6):973-976. doi: 10.1111/age.12996), то можно считать, что исследования, отраженные в диссертационной работе, проведены на достаточном поголовье для оценки достоверности экспериментальных данных.

Диссертационная работа была основана на реализации нескольких этапов. Были подобраны бараны породы джалгинский меринос, для которых проведена прижизненная оценка мясной продуктивности по ряду параметров: живая масса при рождении и в годовалом возрасте, среднесуточный прирост, высота в холке, высота в крестце, ширина и глубина груди, ширина поясницы, обхват плеча, обхват предплечья, обхват бедра, ширина и толщина мышечного «глазка», толщина бедренной мышцы, толщина жира. Все исследуемые животные были генотипированы с использованием ДНК-чипов. Контроль качества генотипирования, фильтрация SNP, которые были включены в дальнейший анализ и составили 560 813 полиморфизмов в общей сложности, а также непосредственно поиск полногеномных ассоциаций были выполнены с использованием программного обеспечения PLINK V.1.07 в соответствие с общепринятыми в мировой и отечественной науке стандартами.

Исследования проведены на высоком методическом уровне на современном оборудовании с соблюдением общепринятых норм и с применением современных зоотехнических, молекулярно-генетических, биоинформационных и статистических методов. Картирование SNP и поиск генов-кандидатов выполнялись на основе сборке генома домашних овец Oar_v3.1, что согласуется со сборкой, на основе которой были разработаны ДНК-чипы. Аннотация идентифицированных генов выполнена с использованием надёжных онлайн ресурсов – геномных браузеров UCSC, Ensembl и NCBI.

Положения, выносимые автором на защиту, выводы и рекомендации обоснованы и логически вытекают из материалов, представленных в диссертации. Задачи, поставленные в диссертации, выполнены в полной мере в соответствии с заявленной темой.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций. Достоверность полученных данных не вызывает сомнений, что подтверждается объемом экспериментальных исследований. Использование общепринятых методик проведения контроля качества генотипирования и поиска полногеномных ассоциаций также свидетельствует о воспроизводимости и достоверности полученных результатов. Сбор, фиксация и статистическая обработка фенотипических показателей, характеризующих прижизненную оценку мясной продуктивности баранов породы джалгинский меринос, проводили по общепринятым методикам. Переносной аппарат УЗИ Edan DUS 60 VET был использован для измерения ширины и толщины мышечного «глазка» после выстригания шерсти в области 2-3 поясничных позвонков. Статистическая обработка результатов была проведена с использованием t-критерия Стьюдента в программе Excel для Windows (Microsoft, USA), при этом достоверными считали показатели при $p < 0,05$.

Научная новизна исследований и практическая значимость выводов и рекомендаций заключаются в том, что впервые с применением

технологии полногеномного поиска ассоциаций проведена идентификация новых генов-кандидатов мясной продуктивности у овец породы джалгинский меринос, а также впервые для анализа использованы некоторые прижизненные показатели роста и развития, ранее не применяемые в отечественной селекции.

Егорова Татьяна Юрьевна установила статистически значимые связи однонуклеотидных полиморфизмов с изучаемыми признаками мясной продуктивности и определила гены-кандидаты, содержащие в себе обнаруженные замены или располагающиеся рядом с выявленными полиморфизмами. Кроме того, определены локусы и комплексные генотипы, достоверно ассоциированные с прижизненными признаками продуктивности показателями у баранов породы джалгинский меринос.

Практическая значимость полученных результатов заключается в том, что заложена основа для проведения селекционно-племенной работы у мериносовых овец по предложенным молекулярным маркерам с целью улучшения качества отбора и для повышения точности раннего прогноза их продуктивных качеств. Все SNP, идентифицированные в ходе выполнения диссертационной работы, могут быть использованы в качестве самостоятельных маркеров при разработке тест-систем для проведения маркер-ассоциированной селекции по повышению продуктивных качеств овец российских пород.

Практическая значимость исследований также подтверждается наличием акта о внедрении результатов диссертационной работы в производственную деятельность СПК «Племзавод Вторая Пятилетка» Ипатовского района Ставропольского края. Кроме того, результаты исследования уже используются в образовательном процессе Северо-Кавказского федерального университета и Ставропольского государственного аграрного университета в качестве справочного материала при составлении лекций и проведении лабораторно-практических занятий.

Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней». Диссертация и автореферат соответствуют критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24.09.2013. Диссертация Егоровой Татьяны Юрьевны характеризуется внутренним единством, написана грамотным научным языком и содержит принципиально новые научные результаты и положения, выносимые на защиту, а именно: однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с прижизненными показателями мясной продуктивности у овец породы джалгинский меринос; гены-кандидаты мясной продуктивности у животных породы джалгинский меринос, и комплексные генотипы, связанные с показателями мясной продуктивности баранов породы джалгинский меринос.

В диссертации Егорова Татьяна Юрьевна формулирует практические рекомендации по использованию полученных результатов в работе племенных овцеводческих хозяйств для генотипирования овец породы джалгинский меринос по новым молекулярно-генетическим маркерам:

rs425574552, rs425471808, rs398681747, rs407293377, rs417213266, rs403712100, rs427196452, rs406848373, rs429375956, rs418752484, rs414911966, rs406848373, rs420593909, rs410532735, rs411348870, rs426028142, rs161648030, rs420787493, rs404092476, rs425134710; для оценки и прогнозирования мясной продуктивности овец породы джалгинский меринос рекомендуем использовать комплексные генотипы по заменам rs161648030, rs427877945, rs415654848, rs413531430, расположенным в генах *RTL8A*, *RTL8C* и *MOSPD1*.

Автореферат содержит основные разделы диссертации и раскрывает ее научные положения. Выводы и практические предложения, изложенные в автореферате и диссертации, совпадают.

Апробация результатов исследований. Основные результаты, полученные в рамках выполнения диссертации, доложены и обсуждены в ходе ежегодных отчетов отдела генетики и биотехнологии, на заседаниях Ученого совета ВНИИ овцеводства и козоводства – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» в 2020–2023 гг. (г. Ставрополь), а также на международных, всероссийских и региональных научно-практических конференциях: «Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса» ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ», г. Михайловск (2020, 2021); «Перспективные разработки молодых ученых в области производства и переработки сельскохозяйственной продукции» СтГАУ, г. Ставрополь (2020, 2021, 2022); выставка инновационных проектов молодых ученых Северного Кавказа, посвященная Дню Российской науки в Кабардино-Балкарском государственном университете им. Х.М. Бербекова, г. Нальчик (2021, 2022, 2024); «Инновационные направления научных исследований в земледелии и животноводстве как основа развития сельскохозяйственного производства» ФГБНУ «Белгородский ФАНЦ РАН», г. Белгород (2021); «IX Информационная школа молодого ученого» УрО РАН, г. Екатеринбург (2021); «Молекулярно-генетические технологии анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям» МГАВМиБ –МВА имени К.И. Скрябина, г. Москва (2021); «Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства» УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия», г. Горки, Беларусь (2022); «Научные основы повышения продуктивности, здоровья животных и продовольственной безопасности», посвященная 95-летию со дня рождения профессора А.Н. Ульянова ФГБНУ КНЦЗВ, г. Краснодар (2022); «Современные проблемы зоотехнии», посвящённая памяти доктора сельскохозяйственных наук, профессора Муслимова Бакытжана Муслимовича КРУ имени Ахмета Байтурсынова, г. Костанай, Р. Казахстан (2022, 2023).

Полнота опубликованных результатов. Всего Егоровой Татьяной Юрьевной по теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 3 статьи в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК Министерства науки и высшего образования РФ («Животноводство и кормопроизводство»), в том числе 2 статьи, входящие в RSCI («Зоотехния», «Достижения науки и техники АПК»), 2 статьи в журналах, индексируемых в международной базе

цитирования Scopus («Gene Reports», «Genes»), 6 статей – в иных журналах и сборниках научных трудов.

Оценка личного вклада соискателя в разработку научной проблемы, репрезентативность эмпирического материала. Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, написана грамотным научным языком. Диссертация была написана автором самостоятельно и представляет собой научное исследование, выполненное автором в период с 2019 по 2023 гг. Личный вклад соискателя выражается в анализе научно-информационных источников по рассматриваемой теме, обосновании цели и задач работы, разработке схемы, выборе методов исследования, проведении лабораторных исследований, интерпретации и анализе полученных данных, формулировании выводов и практическую значимость для дальнейшего внедрения в производство не вызывает сомнений. Публикации по теме диссертации подготовлены автором самостоятельно, так и в соавторстве.

Оценка содержания и завершенности диссертации. Диссертационная работа Егоровой Татьяны Юрьевны, изложенная на 171 страницах печатного компьютерного текста, содержит 21 рисунок и 23 таблицы. Диссертационная работа включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материал и методика, результаты исследований и их обсуждение, заключение, включающее предложения производству, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список использованной литературы. Список использованной литературы включает 275 источников, в том числе 192 на иностранном языке.

В разделе «Введение» отражены сведения об актуальности темы и степени её разработанности, объект и предмет исследования, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методы и методология исследования, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов. Представлена информация о личном вкладе соискателя и о публикациях по теме работы, а также сведения об объеме и структуре диссертации.

В разделе 1 «Обзор литературы» обобщены и проанализированы современные литературные данные по состоянию разрабатываемой темы диссертации. В разделе представлена краткая характеристика геномных технологий в овцеводстве, проанализированы преимущества и недостатки разных подходов к анализу геномов овец, перечислены генетические маркеры мясной продуктивности овец и новые гены-кандидаты, влияющие на мясные показатели овец. Описана история создания породы джалгинский меринос, дана характеристика основных линий в породе, проанализированы перспективы использования породы джалгинский меринос при производстве баранины

В разделе 2 «Материалы и методика исследования» представлена информация о природно-климатических условиях проведения исследований; дана характеристика объекта исследования, включая рационы питания исследуемого поголовья, и схема исследований; перечислены показатели,

характеризующие мясную продуктивность овец породы джалгинский меринос, и методика их измерения; описаны молекулярно-генетические исследования, включая генотипирование; описана методика генетического и статистического анализа.

В разделе 3 «Результаты исследований и их обсуждение» подробно описаны данные, экспериментально полученные, статистически обработанные и проанализированные в ходе выполнения диссертационной работы. Первая часть посвящена анализу прижизненных показателей мясной продуктивности у исследуемых животных, для которых были рассчитаны лимиты, среднее, стандартная ошибка среднего, медиана, стандартное отклонение, коэффициент вариации (3.1). Вторая часть раздела включает в себя результаты, полученные в ходе полногеномного поиска ассоциаций SNP с прижизненными параметрами мясной продуктивности и выявление новых генов-кандидатов, связанных с динамикой живой массы (3.2.1), с промерами туловища (3.2.2), с качественными характеристиками мяса баранчиков породы джалгинский меринос (3.2.3). В третьей части продемонстрирована связь комплексных генотипов по идентифицированным SNP с показателями мясной продуктивности у баранов породы джалгинский меринос.

В разделе «Заключение» представлено обобщение наиболее значимых результатов и подведены итоги работы, которые логически вытекают из анализа полученных результатов и представляют собой аргументированные ответы на заявленные задачи диссертационной работы.

В разделе «Предложения производству» автор формулирует конкретные рекомендации по внедрению полученных результатов в селекционный процесс для раннего отбора и прогнозирования продуктивных качеств животных породы джалгинский меринос по комплексные генотипы по заменам rs161648030, rs427877945, rs415654848, rs413531430, расположенным в генах *RTL8A*, *RTL8C* и *MOSPD1*.

В последнем разделе намечены перспективы дальнейшей разработки темы.

Наряду с высокой положительной оценкой диссертационной работы **Егоровой Татьяны Юрьевны** считаю возможным обратить внимание на некоторые замечания и высказать отдельные пожелания:

1. В «Обзоре литературы» представлена краткая характеристика линий, существующих в породе джалгинский меринос. Интересно было бы узнать, к какой линии принадлежали исследуемые бараны.

2. Из раздела 2. Материал и методика исследований непонятно, был ли проведен тест для проверки нулевых гипотез по Бонферрони для подтверждения достоверного влияния SNP. Если соответствующий тест не проводился, то было бы интересно получить комментарий автора по этому поводу.

3. В описании научной новизны отмечено, что «впервые для анализа использованы некоторые прижизненные показатели роста и развития, ранее не применяемые в отечественной селекции». Хотелось бы уточнить, имеет ли в виду автор под этими показателями те, которые оценивались с помощью УЗИ

сканнера (толщина и ширина мышечного «глазка», толщина жира и толщина бедренной мышцы).

4. Показано, что более высокие достоверные ассоциации были обнаружены с шириной поясницы, а также шириной и глубиной груди. Интересно было бы узнать, имеется ли у автора какая-либо гипотезе по поводу наблюдаемой тенденции.

5. Был ли проведен анализ пересечений новых QTL с известными QTL домашних овец, информация о которых содержится в базе данных Sheep QTLdb (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/index>)?

6. Автор часто сопоставляет полученные данные по идентифицированным генам-кандидатам с ортологами у человека и мыши. Означает ли это то, что идентифицированные гены не были обнаружены ранее у овец (если какие-то были, то укажите их, пожалуйста) или других сельскохозяйственных животных (в частности, у крупного рогатого скота и коз)?

7. Имеется небольшое количество опечаток. Например, не везде названия генов выделены курсивом.

8. В качестве пожелания на будущее рекомендую не описывать так подробно методику анализа, если она не авторская (как например, методику выделения ДНК согласно стандартному протоколу производителя).

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

Заключение

Диссертация **Егоровой Татьяны Юрьевны** по теме «Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) у овец породы джалгинский меринос для выявления новых генов-кандидатов мясной продуктивности», представленную в диссертационный совет 99.0.123.02 при ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» и ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности **4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных** является законченной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно, на высоком методическом уровне.

Представленная диссертационная работа соответствует паспорту специальности **4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных** и имеет научное и практическое значение для оценки и прогнозирования мясной продуктивности овец породы джалгинский меринос на основе анализа комплексных генотипов по заменам rs161648030, rs427877945, rs415654848, rs413531430, расположенным в генах *RTL8A*, *RTL8C* и *MOSPD1*.

Диссертационная работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно пп. 9, 10, 11, 13, 14 «Положения о

порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.), а её автор Егорова Татьяна Юрьевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных.

«06» сентября 2024 г.

Официальный оппонент: гражданка Российской Федерации, кандидат биологических наук (по специальности 03.02.07- Генетика, 2012), ведущий научный сотрудник группы генетики и геномики мелкого рогатого скота ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

 Денискова Татьяна Евгеньевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)

Почтовый адрес: 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, дом 60

Тел. моб.: + 7 (916) 914-20-17

Сайт: <https://www.vij.ru>

E-mail: priemnaya-vij@mail.ru

Подпись ведущего научного сотрудника

Т.Е. Денисковой заверяю

ученый секретарь

ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

канд. с.-х. наук



 Н. В. Сивкин