

## ОТЗЫВ

официального оппонента Селионовой Марины Ивановны, доктора биологических наук, профессора, заведующей кафедры разведения, генетики и биотехнологии животных ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева» Министерства сельского хозяйства РФ, на диссертационную работу Шуклина Сергея Юрьевича на тему «Использование STR-маркеров и SNP чипов при формировании высокопродуктивного поголовья молочного скота», представленную к защите в диссертационный совет Д 220.017.01 на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных.

**Актуальность темы.** Высокоразвитое животноводство нашей страны является основой обеспечения продовольственной безопасности страны, так как в этой отрасли производится более 60 % стоимости валовой продукции сельского хозяйства. От эффективной работы животноводства во многом зависит экономическое благополучие большинства сельскохозяйственных организаций страны.

Практика селекционной работы показывает, что за последнее десятилетие продуктивные качества животных за счет повышения их генетического потенциала увеличились всего лишь на 8%. При этом не всегда увеличение количественных показателей продуктивности сочеталось с улучшением качественных, при этом не принимались во внимание факторы адаптационной способности животных, что привело к снижению их устойчивости к инфекционным заболеваниям и большему распространению наследственных аномалий.

Приведенные данные свидетельствуют о недостаточной эффективности сложившейся системы племенной работы, которая, как правило, базируется на использовании традиционных методов селекции в животноводстве и замыкается в рамках отбора и подбора животных по собственной продуктивности. Совершенно очевидно, что без использования современных биотехнологических подходов, к которым относятся ДНК-технологии, позволяющие составить генетический профиль животных, т.е. располагать

прогнозируемой его племенной ценностью в раннем возрасте без чего невозможно целенаправленное ведение интенсивного селекционного и породообразовательного процессов.

Частичному решению данной проблемы будет способствовать внедрение в племенное животноводство геномной оценки, поскольку тестирование животных по нескольким генам, связанным с хозяйственно полезными признаками, позволяют с высокой достоверностью прогнозировать племенную ценность животных. С помощью геномной оценки возможно одновременное решение широкого спектра задач – контроль достоверности происхождения, степени родства и генетической гетерогенность, выявление генетических аномалий, прогноз уровня продуктивных признаков и устойчивости к заболеваниям. Применение геномной оценки основано на целом ряде современных высокопроизводительных подходов, в частности, на использовании ДНК-чипов. По сравнению с другими типами ДНК-маркеров использование *SNP* позволит автоматизировать и в десятки раз повысить производительность оценки генотипов, что позволяет практически при рождении животного располагать оценкой его племенной ценности (ПЦ) на основании геномного анализа. Ученые подсчитали, что даже при 75% надежности (точности определения) ПЦ молодых бычков эффективность селекции возрастает в два раза.

В тоже время, несмотря на общую методологию геномной оценки, для повышения точности прогнозирования племенной ценности, необходимо расширение референсных популяций и поиск *SNP*, обладающих наибольшей информативностью для животных конкретного стада. Данное обстоятельство определило актуальность и целесообразность выполнения научных исследований, выполненных Шуклиным С.Ю.

Цель диссертационной работы заключалась в разработке комплексной системы идентификации высокопродуктивного поголовья крупного рогатого скота на основе генотипирования по *STR* и *SNP* маркерам, используя ДНК-чип.

Исходя из цели, Шуклиным Сергеем Юрьевичем были решены следующие задачи: *STR*-маркерами проанализировано генетическое разнообразие быков-производителей и коров, используемых в исследованиях; дана характеристика продуктивным, воспроизводительным качествам высокопродуктивных коров; используя панель *SNP*-чипа «*TruSeq Bovine Parentage Sequencing Panel*», определен уровень гетерозиготности в группах по генетическим маркерам продуктивности; установлена взаимосвязь маркеров *DGAT1* и *MSTN* и их комбинированного сочетания с живой массой молодняка, маркеров *MITF\_SNPchr22\_31746502*, *MITF\_SNPchr22\_31769189* с развитием волосяного покрова у молодняка; определена экономическая эффективность использования *STR* и *SNP* маркеров чипа «*TruSeq Bovine Parentage Sequencing Panel*» при формировании высокопродуктивного поголовья.

**Научная новизна** работы заключается в том, что, впервые в популяции голштинской породы на основе комплекса биологических, молекулярно-генетических исследований показана экономическая целесообразность применения ДНК-чипа для оценки продуктивных качеств молочного скота одновременно по восьми локусам. Предложена оптимизация системы формирования высокопродуктивных групп животных при чистопородном разведении.

**Практическая значимость и реализация результатов исследований.** Результаты исследований дополняют имеющиеся фрагментарные данные об использовании *STR*-маркеров и *SNP*-чипов для комплексного изучения генотипа высокопродуктивных животных голштинской породы. Выявленные тенденции взаимосвязи маркеров *DGAT1*, *MSTN*, *MITF* и их комплексных сочетаний с продуктивными качествами и адаптационной способностью молодняка позволяют совершенствовать крупный рогатый скот молочного направления продуктивности в ускоренные сроки, используя ДНК-маркеры.

Материалы исследований внедрены в племенном хозяйстве «Рассвет» Усть-Лабинского района Краснодарского края. Могут быть

экстраполированы для селекционно-племенной работы с животными голштинской породы в целом по породе. Это позволит увеличить численность высокопродуктивного поголовья и запланировать методический отбор молодняка в раннем возрасте для высокопродуктивной группы с прогнозируемой продуктивностью выше 11 тысяч молока за 305 дней лактации. Проведение генотипирования с использованием SNP чипа «TruSeq Bovine Parentage Sequencing Panel» эффективно для отбора молодняка в селекционную группу, т.к. в структуре общей прибыли эта работа занимает 5,7% и дает возможность выявить животных, способствующих получению рентабельности выращивания молодняка до 7,3 %.

Основные положения и результаты исследований обсуждены и получили одобрение на международных научно-практических конференциях: X международной научно-практической конференции «Инновационные пути импортозамещения продукции АПК» (Донской ГАУ, 2015); 40-ой научной-практической конференции молодых ученых «Научный потенциал молодых ученых для создания инновационных технологий в АПК» (Смоленская ГСХА, 2015); международной научно-практической конференции: «Приоритетные направления развития АПК» (Курганская ГСХА, 2015); XI Всероссийской конференции молодых ученых (Кубанский ГАУ, 2017); II и III Международной конференции «Институциональные преобразования АПК России в условиях глобальных вызовов» (Кубанский ГАУ, 2018, 2019); II и III Национальной конференции «Научно-технологическое обеспечение агропромышленного комплекса России: проблемы и решения» (Кубанский ГАУ, 2018, 2019).

Автором по теме диссертации опубликовано 13 научных статей, в том числе 3 в рецензируемых научных изданиях, 3 методические рекомендации, 1 учебное пособие.

Диссертация изложена на 122 страницах печатного текста, содержит 28 таблиц, 23 рисунков. Библиографический список включает 122 источника, в том числе 18 на иностранном языке.

Во введении обозначена актуальность данной работы и современные направления ДНК диагностики.

Основная часть диссертации включает в себя: обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты исследований, выводы, предложения производству, перспективы и направления дальнейших исследований, список литературы и приложения.

В разделе «Обзор литературы» на основании изученных литературных источников приводятся результаты работы отечественных и зарубежных авторов, раскрывающих генетические особенности высокопродуктивного крупного рогатого скота молочного направления продуктивности, использование ДНК-исследований, молекулярно-биологических маркеров для изучения генофонда, и полиморфизм сочетания аллелей в генах и их взаимосвязь с продуктивностью животных. В обзоре литературы материал изложен в логической последовательности и достаточно полно раскрывает направленность исследований.

В разделе «Материалы и методика исследований» соискатель указывает, что исследования проводились с 2015 по 2020 гг. на кафедре биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО Кубанского государственного аграрного университета имени И. Т. Трубилина, в племзаводе АО «Рассвет» Усть-Лабинского района, учхозе «Краснодарское» Краснодарского края. Молекулярно-генетические исследования осуществлялись совместно с научными сотрудниками: лаборатории белков гормональной регуляции ФГБУН «Институт биоорганической химии РАН имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» (г. Москва) и молекулярно-генетических исследований в АПК Кубанского госагроуниверситета. Исходя из рекомендаций ISAG генотипирование телок проводили с использованием платформы биочипа «TruSeq Bovine Parentage Sequencing Panel» (« Illumina, Inc.», США).

В главе «Результаты исследований и их обсуждение» приводится характеристика быков-производителей и коров голштинской породы по

происхождению, через расчет родительского индекса быков, индекса генетического потенциала коров показан генетический потенциал этой группы животных. Даны оценка продуктивности, воспроизводительным качествам и достоверности происхождения коров-рекордисток поголовья племзавода. Установлены *STR*-маркеры, оптимальные для данной популяции голштинского скота. Показана схема формирования селекционной группы молодняка. С использованием генотипирования установлены: структура генов-маркеров продолжительности производственного использования молодняка, разнообразие генов-маркеров продуктивных качеств молодняка и проведено сопоставление данных ген-маркеров *MITF\_SNPchr22\_31746502* и *MITF\_SNPchr22\_31769189* с микроструктурными исследованиями кожи при изучении адаптации поголовья, генов-маркеров *DGAT1\_SNPchr14\_1802265* и *MSTN\_SNPchr2\_6215942* с показателями развития молодняка. Рассчитана рентабельность проведения генотипирования и отбор животных с высокой племенной ценностью.

Шуклином С.Ю. установлено, что у быков-производителей высокопродуктивной популяции локусы микросателлитов *BM1818*, *CYP21*, *ETH225*, *INRA023*, *RM067*, имеют наибольшую гетерозиготность. Оптимальное значение *PIC* наблюдается у 25 % микросателлитных локусов (*BM1824*, *BM1818*, *ETH3*, *TGLA126*), что позволило автору сделать заключение о наибольшей информативности локусов *TGLA53*, *INRA023*, *CYP21* для контроля происхождения.

Выявлено, что у быков линии В.Б. Айдиала 1013415 в гене *CSN3* желательный *BB* генотип отмечен у 25% животных, у быков линии Р. Соверинг 198988 в гене  $\beta$ -казеина желательный генотип *A2A2* встречается у 40% животных. В связи с этим Шуклин С. Ю. делает вывод, что только генотипирование и отбор позволит повысить частоту желательных сочетаний по  $\kappa$ - и  $\beta$ - казеинам *BB* и *A2A2* соответственно.

В популяции коров установлен высокий полиморфизм в 10 локусах из 16 исследованных (*BM2113*; *BM1818*; *TGLA53*; *ETH3*; *SPS115*, *TGLA122*).

Сопоставление локусов *BM1818*, *TGLA53*, *ETH3*, показало что они наиболее вариабельны, и позволило автору рекомендовать их применение для идентификации поголовья при генетической дифференциации животных голштинской породы.

В селекционной группе телок оптимальный (рекомендованный ISAG) генотип по *SNP* следующий: *ARS-USMARC-Parent-DQ650635-rs29012174* (*SNP* №143) – генотип *GA*; *ARS-USMARC-Parent-AY849381-rs29003287* (*SNP* №108) – генотип *CT* и *ARS-USMARC-Parent-AY853303-no-rs* (*SNP* №113) – генотип *AG*, с показателями повторяемости 62,9 – 68,6 % ( $P \leq 0,05$ ), а по дополнительным *SNP* высокая повторяемость рекомендованных генотипов в: *ARS-BFGL-NGS-86662* (*SNP* №44) – генотип *GT*; *Hartarp51227-BTA-41809* (*SNP* №88) - генотип *GA*, с разницей до 8,5 % ( $P \leq 0,01$ ).

По результатам проведенных исследований Шуклин С.Ю. предлагает в племенных хозяйствах при формировании высокопродуктивного поголовья проводить генотипирование быков-производителей, коров, подбор родительских пар, а также генотипирование молодняка и отбор в возрасте до одного месяца животных с генотипами *GG* x *CC* и *GA* x *CC* в генах *DGAT1* и *MSTN*. Предлагаемая система работы будет способствовать повышению рентабельность выращивания молодняка в среднем на 4,3 %.

Сформулированные диссертантом научные положения, выводы и предложения производству обоснованы и вытекают из результатов исследований. Все задачи, поставленные соискателем при выполнении работы, успешно решены, что дает основание данную диссертацию считать законченным научным трудом.

Содержание автореферата в достаточной степени отражает основные положения диссертации. Автореферат и диссертация соответствуют требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Оценивая в целом положительно диссертационную работу Шуклина С.Ю., считаю необходимым обратить внимание автора на следующие замечания и пожелания:

1. К сожалению, автор не дает обоснование, почему при анализе молодняка и выявлении маркерных SNP для использования именно в племзаводе АО «Рассвет» Усть-Лабинского района и учхозе «Краснодарское» Краснодарского края было отобрано 8 SNP из 63, ассоциированных с продуктивностью и воспроизводством.

2. В главе 3.2 автор приводит структуру маточного поголовья в зависимости от принадлежности отцов к линиям, однако численность животных в группах не указывается. Этих данных нет и в таблицах 9, 11 «Продуктивность коров в разрезе родословных», «Сравнительная оценка продуктивности коров с законченной лактацией», что затрудняет оценку достоверности разности между животными разной линейной принадлежности. Аналогичное замечание и по первотелкам с незаконченной лактацией (таблица 10).

3. Название главы 3.3.2 «Изучение достоверности происхождения молодняка» не в полной мере отражает ее содержание. В главе представлен развернутый анализ гетерозиготности по SNP в группах молодняка, произошедшего от коров с разным родительским индексом, при этом выявлено достоверное различие в частоте встречаемости отдельных SNP, что позволяет использовать их в качестве маркеров при отборе молодняка желательных генотипов.

4. В названии главы 3.3.3 допущена неточность. Следовало указать не «Структура генов-маркеров продолжительности производственного использования молодняка», а «Структура молодняка по генам-маркерам, ассоциированных с продолжительностью производственного использования».

5. В выводе 11 автору не удалось отразить целесообразность контроля носительства негативной мутации в *MITF\_SNPchr22\_31769189*, которая

регистрировалась в группе телок от матерей с РИТ 11,2 тыс. Насколько это актуально для голштинского скота и как исследование гистоструктуры кожи, волосяного покрова молодняка от матерей с разным РИТ, обосновывает необходимость контроля данной мутации.

Вышеперечисленные замечания не оказывают существенного влияния на общую положительную оценку представленной работы и не снижают ее научную и практическую значимость.

**Заключение.** Диссертация Шуклина Сергея Юрьевича «Использование STR-маркеров и SNP чипов при формировании высокопродуктивного поголовья молочного скота» является законченным научным исследованием, направленным на разработку комплексной системы идентификации высокопродуктивного поголовья крупного рогатого скота с использованием современных методов генотипирования STR-маркерами и SNP-чипом. Работа выполнена на актуальную тему, содержит элемент новизны и имеет научное и практическое значение. Диссертация соответствует критериям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор Шуклин С.Ю. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных.

Официальный оппонент,  
доктор биологических наук, профессор,  
ФГБОУ ВО Российской государственный  
аграрный университет – МСХА имени  
К.А. Тимирязева



М.И. Селионова

14.02.2022 г.

Адрес: 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49  
Тел. 8(499) 976-34-34, E-mail: selionova@rgau-msha.ru

Подпись  
заверяю

М. И. Селионова



Руководитель службы кадровой  
политики и приема персонала

О.Ю. Чуркина