

ВІДГУК

офіційного опонента, кандидата сільськогосподарських наук, старшого наукового співробітника, Костенка Олександра Івановича на дисертаційну роботу Пузик Ніни Григорівни на тему: «Дослідження поліморфізму генів регуляції процесів росту на модельному об'єкті *Bos taurus*, L.» подану до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика

Зміст, обсяг та структура прорецензованої дисертації відповідає встановленим вимогам за обсягом розділів, викладена на 177 сторінках машинописного тексту, містить анотацію українською та англійською мовами, вступ, три розділи: огляд та аналіз літератури, матеріал та методи досліджень, результати досліджень та їх обговорення; аналіз та узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел та додаток.

Обсяг основного тексту дисертації складає 133 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 42 таблицями та 6 рисунками. Список використаних джерел містить 251 найменування, з них 44 кирилицею та 207 латиницею.

У розділі «Вступ» викладено обґрунтування вибору теми дослідження, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, мету і завдання досліджень, наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, особистий внесок здобувача, апробацію результатів дисертації та структуру роботи.

Актуальність виконаних досліджень не викликає сумніву. Генетичне вдосконалення сільськогосподарських тварин є одним з вирішальних факторів ефективного тваринництва. Зарубіжна практика свідчить про те, що успішне генетичне вдосконалення і відтворення сільськогосподарських тварин забезпечується сучасними системами геномної селекції, які передбачають все більш широке використання результатів наукових досліджень щодо генетичної детермінації розвитку продуктивних ознак і взаємодії «генотип-середовище». Водночас, вплив поліморфних варіантів ключових генів на ознаки багатьох порід великої рогатої худоби в Україні залишається недостатньо дослідженим. Актуальним є з'ясування ролі поліморфних варіантів генів гормонів, їх рецепторів, ізольованих ефектів ключових генів та SNPs, сигнальних молекул та ферментів ключових метаболічних процесів для визначення норми реакції організмів.

Також є перспективними дослідження впливу окремих молекулярно-генетичних маркерів на основні ланки метаболізму у сільськогосподарських тварин як модельних об'єктів для отримання загальнобіологічних наукових знань. Зокрема це стосується вивчення процесів росту та репродукції людини і можуть бути використані у репродуктивній трансплантології та ксенотрансплантології.

Дисертаційну роботу виконано як складову частину плану науково-дослідної роботи «Генетичні передумови розвитку та корекції спадкової патології на різних етапах онтогенезу людини та тварин» (номер державної реєстрації 0116U005341, 2016–2019 р.р.) ХНУ імені В. Н. Каразіна.

В якості *мети і основних наукових завдань* в роботі було визначено оцінку ефекту поліморфних варіантів комплексу генів на перебіг процесів росту та стан репродукційної функції у тварин *Bos taurus*, L. на індивідуальному та популяційному рівнях на основі оцінки впливу поліморфних варіантів *L127V*, *F279Y*, *A257G*, *CAPN316*, *CAST282* та *C994G* генів *GH*, *GHR*, *CAPN1*, *CAST*, а також *CYP3A28* на індивідуальні ознаки корів: параметри росту, характеристики репродукційної функції та лактації за динамікою росту телят, ефекту поліморфного варіанту *C994G* гену *CYP3A28* на характеристики тварин у залежності від контамінації кормів продуцентами мікотоксинів, а також популяційно-генетичних параметрів: частоти алелів та генотипів, рівня гетерозиготності, ступеня зчепленого успадкування та його зв'язку з показниками рівню інбридингу, спільності/відмінності дослідженої вибірки тварин у порівнянні з популяціями *Bos taurus*, L. з інших клімато-географічних зон.

Об'єктом дослідження визначено процеси росту, розвитку та репродукції великої рогатої худоби, генетичні процеси у популяції корів абердин-ангуської породи; *предметом* – поліморфні варіанти генів *GH*, *GHR*, *CAPN1*, *CAST* та *CYP3A28*, генеалогічні характеристики тварин, показники репродукції, конституції, динаміки росту корів та телят, показники інбридингу, генетична відстань між популяціями.

Автором безпосередньо проведено інформаційний пошук та аналіз сучасної світової та вітчизняної літератури за темою роботи. Дослідження, обробка, систематизація, аналіз, узагальнення отриманих результатів та підготовка публікацій виконані особисто автором або за його безпосередньої участі.

У розділі «Огляд та аналіз літератури» на 19 сторінках достатньо повно висвітлено наявні наукові результати за основними напрямками досліджень дисертаційної роботи з підведенням підсумків і узагальненням по кожному з підрозділів. Наведено огляд актуальних опублікованих даних для окремих SNPs у генах гормону росту, рецептору гормону росту, цитохрому, кальпаїну та кальпастатину, які контролюють ключові ланки метаболізму та пов'язані з продуктивними та репродуктивними характеристиками у *Bos taurus*, L. Охарактеризовано проблему впливу інбридингу на генетичні та мікроеволюційні процеси у популяціях великої рогатої худоби та зазначено зв'язок між рівнем інбридингу, нерівновагою за зчепленням та хромосомними абераціями.

У розділі «Матеріал та методи досліджень» на 6 сторінках наведено структуру та дизайн дослідження з зазначенням використаних методів, проаналізованих характеристик та виявленого ефекту. При виконанні дисертаційного дослідження автором використані методи генеалогічного аналізу походження тварин, молекулярно-генетичний аналіз, популяційно-генетичного аналізу, оцінки рівня гетерозиготності, коефіцієнтів інбридингу, кластерного аналізу для оцінки мікроеволюційних процесів, які формують певні алельні частоти та визначення місця дослідженої вибірки серед популяцій ВРХ різних країн світу за SNPs, а також мікроскопічного аналізу кормів.

Одержані дані опрацьовано за допомогою параметричних та непараметричних методів статистичного аналізу, які включали критерії Стьюдента та Манна-Уїтні, однофакторний дисперсійний аналіз Фішера та критерій Крускала-Уолліса, регресійний та кореляційний аналіз з обчисленням коефіцієнтів Пірсона та Спірмена, а також перевірку статистичних гіпотез за критеріями t і χ^2 .

У розділі «Результати досліджень та їх обговорення» на 82 сторінках послідовно і аргументовано представлено наукові результати і досягнуто вирішення поставлених на вивчення завдань та мети досліджень.

Наукова новизна отриманих результатів полягає у встановленні зв'язку між генотипами й алелями поліморфних варіантів *L127V*, *F279Y*, *A257G*, *CAPN316*, *CAST282* і *C994G* та показниками росту, розвитку, репродукційної функції тварин абердин-ангуської породи в східній Україні. За SNPs *L127V* та *F279Y* визначено кращий генотип відповідно до продуктивного напрямку відбору корів – *CC TT*. Виявлено генотипи, асоційовані з вищою масою тіла та

показниками росту корів: *CC* за SNP *CAPN316* та *CG* за SNP *CAST282*. Оцінено ступінь нерівноваги за зчепленням у гені *GHR* корів та його зв'язок з показниками рівню інбридингу. Встановлено відокремленість української вибірки абердин-ангусів у структурі світових порід та переваги фактору «географічний регіон» над «породною належністю». Показано асоціацію алелю *C* за *L127V* з розмірами тіла тварин для різних порід великої рогатої худоби відповідно до відстані від екватору. Охарактеризовано вплив генотипу за поліморфним варіантом *C994G* гену *CYP3A28* на динаміку росту телят у залежності від показників контамінації кормів продуцентами мікотоксинів.

Також, встановлено вірогідну позитивну кореляцію алелю *C* за SNP *L127V* з показниками статури ($r=0,99$), хрестця ($r=0,94$), вим'я ($r=0,93$) і загальною сумою балів за результатами бонітування ($r=0,91$) та негативну кореляцію – з розмірами голови та шиї ($r=-0,91$). Виявлено позитивний зв'язок алелю *T* за SNP *F279Y* та алелю *G* за SNP *A257G* з розмірами мускулатури ($r=0,97$ та $r=0,96$) та вим'я ($r=0,99$).

Визначено вірогідний вплив генотипу за SNP *CAPN316* на розміри голови та шиї ($h^2=59\%$) і вим'я ($h^2=53\%$) та позитивну кореляцію алеля *C* SNP *CAPN316* з розмірами грудної клітини ($r=0,99$). Корови з генотипами *CGCG* і *GGCG* мали вищі показники за статурою тіла, таким чином наявність алелів дикого типу *G* за обома SNPs позитивно корелювала з гармонійністю будови тіла ($r=0,78$).

Встановлено відмінності між групами з генотипами *CC* та *GG* SNP *L127V* за масою тіла при народженні, середньодобовий приріст маси тіла корів з генотипом *AA* SNP *F279Y* був вище, ніж у тварин з іншими генотипами на 40-100 г. Різниця за масою тіла між тваринами з генотипами *CCTT* (комбінація найбільш цінних з економічної точки зору генотипів) та *CGTT* (найчисленніша група) за SNPs *L127V* та *F279Y* склала при народженні 8 кг або 25% і мала тенденцію до зниження в наступні вікові періоди до 15 міс. на користь тварин з генотипом *CCTT*. Наявність найчисельнішої групи тварин з менш цінними генотипами свідчить про відсутність селекційного тиску за більш цінними в практичній роботі з даною популяцією тварин, яка пояснюється відсутністю відповідної наукової основи.

Встановлено зв'язок *C*-алелів за SNPs *C994G* і *L127V* зі зниженням віку першої тільності на $78,5\pm 36,0$ і $50,7\pm 45,2$ днів, середній вік першої тільності склав $966,8\pm 26,1$ днів. Ефект *C*-алелю за SNP *L127V* на інтервал між отеленнями та сервіс-період асоціювався зі зниженням періоду «простою» на 20-25 днів, що

протягом 10 років репродуктивного періоду корови дозволило отримати одну додаткову вагітність. Кумулятивний ефект алелів дикого типу за SNPs *L127V*, *F279Y* та *A257G* був пов'язаний зі значним скороченням інтервалу між отеленнями майже на 30-35 днів.

Продемонстровано вплив номеру вагітності на масу новонародженого теля. Виявлено позитивний ефект тривалості інтервалу між отеленнями на масу новонароджених телиць та їх масу при відлученні, яка склала 3 та 30 г на добу інтервалу між отеленнями.

Виявлено негативний вплив інбридингу за SNP *F279Y* на масу тіла новонародженого теля – $-6,4 \pm 1,8$ кг і позитивний ефект SNP *L127V* на середньодобовий приріст маси тіла – $+97,93 \pm 29,89$ г.

Високі значення коефіцієнту інбридингу F_{ST} за SNPs *CAPN316*, *CAST282* та *F279Y* мали негативний ефект на масу тіла до віку 15 місяців: $-113,0 \pm 16,8$ г, $-91,3 \pm 7,4$ та $-64,3 \pm 13,9$ кг. В той же час підвищення коефіцієнту інбридингу F_{ST} за SNP *A257G* мало позитивний ефект на масу тіла: $+189,8 \pm 17,4$ кг.

Продемонстровано відокремленість української вибірки абердин-ангусів у структурі світових порід за *CAPN316* та *CAST282* та переваги фактору «географічний регіон» над «породною належністю». Показано зв'язок алелю *C* за *L127V* з розмірами тіла тварини у різних порід ($r=0,93$) та зв'язок з клімато-географічними факторами відповідно до відстані від екватору.

Встановлена кореляція з широтою відповідно до відстані від екватору для генотипів *AA* і *AG* SNP *A257G* ($r=0,834$ і $r=-0,949$) і для генотипу *TT* SNP *F279Y* в групі молочних порід світу ($r=-0,751$). У порід молочного напрямку виявлено негативний зв'язок *T*-алелю за SNP *F279Y* з показниками надоїв ($r=-0,713$).

Матеріали, викладені в частині «**Аналіз і узагальнення результатів досліджень**», відповідають назві і основним завданням дисертації, дійсно є науковим узагальненням одержаних результатів на підставі кваліфікованого аналізу одержаних наукових даних.

Що стосується оформлення роботи, необхідно відзначити грамотність, послідовність і достатню наочність викладення результатів досліджень, намагання автора підсумувати висновками кожний підрозділ дисертації.

Про обґрунтованість наукових положень дисертації свідчить належний загальний методологічний рівень проведення досліджень, експериментальна обґрунтованість одержаних результатів і ретельність статистичної обробки матеріалів досліджень.

Сформульовані автором наукові положення відповідають поставленим меті і завданням дисертаційної роботи, а висновки витікають із результатів досліджень.

Повнота викладення основних положень дисертації підтверджується їх висвітленням у 22 наукових працях, в тому числі 7 статтях у рекомендованих МОН України наукових фахових виданнях, 1 – у виданні, що входить до бази Scopus, 4 – у наукових фахових виданнях України з суміжних галузей науки та 10 тезах доповідей.

Автореферат містить основні наукові результати досліджень і відповідає основним положенням дисертації та оформлений згідно вимог атестаційної колегії України.

Разом з тим, в рецензованій роботі присутні окремі позиції, які потребують **зауважень чи додаткового пояснення:**

1. Автором вжито деякі терміни, які недостатньо коректно відображують обговорювані поняття, а саме:
 - вживання терміну «телята» коректно лише для тварин у віці до одного року, а для тварин у віці від 12 міс. до 18 міс. коректніше використовувати термін «молодняк»;
 - термін «окості», який автором наведено в таблицях 3.3-3.10 краще замінити на термін «окіст»;
 - в стосовно великої рогатої худоби замість терміну «вагітність» краще використовувати термін «тільність»;
 - на стор. 6 «Вступу» та стор. 14 «Огляду літератури» краще уточнити формулювання «та напрями селекції відповідно до вдосконалення певних ознак залишаються неуточненими» як «а напрями селекції відповідно до вдосконалення певних ознак недостатньо обґрунтовані»;
 - на стор. 25 «Огляду літератури» термін «засновник» слід замінити на «родоначальник» (також стор. 27), а «позапородні схрещування» – на «міжпородні схрещування»;
 - на стор. 26 «Огляду літератури» термін «близькоспоріднене схрещування» замінити на «близькоспоріднене розведення». (схрещують генетично відмінних особин).

2. У розділі «Наукова новизна отриманих результатів», стор. 8 варто було б зазначити, що наведені автором дані отримані взагалі вперше в Україні по абердин-ангусах, зокрема тих, що розводять у східному регіоні.
3. У розділі «Огляд літератури» стор. 26-28 при розгляді впливу інбридингу детально наведено негативні наслідки його застосування, а позитивним не приділено достатньої уваги, попри відомі факти цілеспрямованого близькоспорідненого підбору при розведенні ВРХ, зокрема у симентальській породі при виведенні родоначальників жирномолочних ліній. Важливим для оцінки наслідків інбридингу також є врахування біологічної цінності, відсутності генетичних вад у особини на яку ведеться інбридинг.
4. При назві родоначальника лінії прийнято окрім клички наводити і його індивідуальний номер.
5. При розгляді впливу лінійної належності тварин і досліджених показників генотипу тварин доцільно було б порівняти який з них справляє більший вплив на розмах мінливості показників живої маси (традиційний лінійний підбір чи сучасний за певними генотипами).
6. При підведенні підсумків за рис. 3.3. слід було надати пріоритетної уваги результатам одержаним у 18-24-36 місячному віці тварин, оскільки саме тоді і відбувається основна реалізація тварин на забій, яка визначає економічну ефективність виробництва. 4-5 річні корови є селекційним і виробничим браком і їх частка у виробництві яловичини порівняно незначна.
7. При аналізі даних табл. 3.16 допущено неточність в оцінці закономірності рівня впливу досліджених генотипів на показники живої маси: $CC \succ CG \succ GG$. Насправді він описується як $CC \succ GG \succ CG$.
8. В табл. 3.19 слід було б навести кількість врахованих тварин. Допущено помилку у значенні коефіцієнта CV показника мертвонароджених телят = 620,28%. Очевидно його значення 62,03%.

Слід зазначити, що наведені зауваження не зменшують цінності поданої до захисту роботи і можуть бути виправлені або пояснені.

Оцінюючи роботу в цілому, можна констатувати, що дисертація Пузік Н. Г. є завершеною науковою працею, в якій отримано нові наукові результати щодо доцільності використання тварин *Bos taurus*, L. в якості модельного об'єкту для регулювання процесів росту, визначення ефекту поліморфних варіантів комплексу генів на перебіг процесів росту та стан

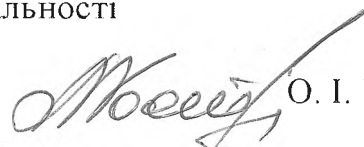
репродукційної функції у тварин *Bos taurus*, L. на індивідуальному та популяційному рівнях.

Селекційне прикладне значення одержаних результатів полягає у сприянні вирішення важливого практичне завдання – забезпечення конкурентоспроможності тварин абердин-ангуської породи на основі їх використання у геномній селекції в напрямі підвищення відгодівельних властивостей і репродукційної здатності тварин.

Отримані дані обґрунтовують створення вітчизняних генетичних тест-систем для порід м'ясного напрямку. Результати класифікаційного аналізу популяцій великої рогатої худоби різних країн світу уточнюють та доповнюють зоогеографічні теорії. Запропоновано, що *Bos taurus*, L. доцільно використовувати для моделювання процесів росту та характеристик репродукційної функції людини. Матеріали дисертації використовуються при вивченні курсів «Медична біологія», «Медична генетика», «Генетика тварин», «Сучасні методи селекції у тваринництві» у вищих навчальних закладах IV рівня акредитації відповідного напрямку.

Враховуючи актуальність та обсяг проведених досліджень, викладені в дисертаційній роботі і опубліковані за її матеріалами основні наукові положення і висновки, вважаю, що дисертаційна робота «Дослідження поліморфізму генів регуляції процесів росту на модельному об'єкті *Bos taurus*, L.» відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, а її автор Пузік Ніна Григорівна заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент,
начальник відділу ветеринарної
медицини та зоотехнії апарату Президії НААН
кандидат сільськогосподарських наук зі спеціальності
06.02.01 – розведення та селекція тварин,
старший науковий співробітник

 О. І. Костенко

Підпис О. І. Костенка завіряю,
заступник головного
вченого секретаря НААН



Л. О. Тимченко