

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Долматовой И.Ю.
на диссертационную работу Ларкиной Татьяны Александровны
на тему «Аллельные варианты и экспрессия генов-кандидатов содержания
абдоминального жира у кур», представленную в диссертационный совет
Д 006.013.03 при ФГБУН «Всероссийский научно-исследовательский
институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста» на соискание
учёной степени кандидата биологических наук по специальности
03.02.07 – «Генетика»

Актуальность темы диссертационной работы

Мясо цыплят-бройлеров составляет основную массу производимого на сегодняшний день мяса птицы. Одной из биологических особенностей сельскохозяйственной птицы вообще, и кур, в частности является высокая скорость роста. Данный показатель включен в перечень основных селекционируемых признаков. Однако в силу соотносительной (коррелятивной) изменчивости, скорость роста неизбежно приводит к увеличению жирности тушки, что является нежелательным с диетической, а, следовательно, и с потребительской точек зрения.

Основными жировыми депо наряду с подкожной жировой тканью является также абдоминальный жир, количество которого, также как и качественный состав, обусловлены не только уровнем кормления, но и генотипом птиц по генам липидного обмена. Многими исследованиями показано значительное влияние мутаций в генах-кандидатах липидного обмена на продуктивные характеристики кур мясного направления. Исследование Ларкиной Т.А., посвящённое изучению экспрессии генов *FABP1*, *FABP2*, *FABP3*, *HMGAI*, *PPARG*, *MC4R*, *PPARGC1A*, *POMC*, *PTPN*, участвующих в метаболизме липидов в организме кур мясного направления и выявление полиморфных сайтов в этих генах является дополнением и логичным продолжением ряда исследований в данной области.

Принимая во внимание всё вышеизложенное, актуальность оппонируемой работы не вызывает сомнения.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Ларкиной Т.А. написана с соблюдением традиционной структуры и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, в которой описаны объекты, материалы и методы исследования, их результаты и обсуждение, заключения, включающего выводы, практические предложения и перспективы дальнейшей разработки темы, списка цитированной литературы и приложений. Диссертация изложена на 103 страницах машинописного текста, содержит 11 таблиц, 27 рисунков; список литературы включает 159 цитируемых источников, из них 150 – на иностранных языках.

Во введении чётко определены цели и задачи исследования, проведён краткий анализ литературных источников, что позволяет аргументировано

сформулировать актуальность проблемы, её новизну и практическую значимость.

Обзор литературы изложен на 37 страницах и состоит из 4 разделов. В первых двух разделах излагаются сведения о биохимических и физиологических закономерностях липидного обмена у птиц, а также рассматриваются генетические основы его регуляции. Следующий, самый объемный раздел, посвящён характеристике каждого из генов-кандидатов (их хромосомной локализации и роли в становлении липидного обмена). Завершается обзор литературы рассмотрением методики автоматического секвенирования ДНК.

В разделе «**Материалы и методы исследований**» (стр. 47-52) приводятся сведения об объеме выполненных работ, объектах и методах исследования, которые соответствуют поставленным задачам. Эксперименты выполнены с использованием новейшего оборудования. В работе использованы современные молекулярно-генетические методы и компьютерные аналитические программы AtteStat12.0.5. и InStat+v3.37, что обосновывает получение достоверных результатов.

Третий раздел, в котором излагаются **результаты исследований** содержит 20 страниц. Раздел построен логично, исходя из целей и задач, и состоит из четырех подразделов.

В подразделе 3.1 излагаются результаты определения уровня экспрессии каждого из девяти генов-кандидатов. Автором было выявлены достоверные различия экспрессии генов *HMGAI* и *PPARG* в печени «жирных» и «нежирных» бройлеров, что привело к выводу о том, что названные гены могут являться генами-кандидатами, влияющими на депонирование абдоминального жира у кур.

В следующем разделе 3.2 приводятся результаты секвенирования гена *PPARG*, в результате которого соискателем было выявлено три сайта его однонуклеотидного полиморфизма в регуляторной области (4855561A>C, 4856011T>C, 4857001T>G) и подобраны последовательности праймеров для анализа полиморфизмов на основе метода ПЦР.

В разделе 3.3 дан анализ генотипирования бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15» по трём выявленным сайтам SNP гена *PPARG*, а также проведен анализ влияния выявленных мононуклеотидных замен на массу и содержание абдоминального жира

Влиянию полиморфизма гена *FABP2* по SNP (замена rs16414509 A>C) на массу и содержание абдоминального жира в генотипических классах гена *FABP2* посвящён раздел 3.4. По данному гену связи генотипов с содержанием жира в кроссе «Иза Хаббард Ф-15» не обнаружено.

В разделе «**Заключение**» Татьяна Александровна кратко суммирует полученные результаты и отмечает, что для снижения количества абдоминального жира в тушке отечественных кроссов кур мясного направления при отборе родительских линий можно рекомендовать молекулярные маркеры гена *PPARG*.

Резюмируют работу 7 выводов, которые вытекают из результатов собственных исследований и логично отвечают на поставленные автором задачи.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

По результатам проведённых исследований соискателем на защиту выдвинуты 5 положений, основным, практически значимым из которых, с моей точки зрения, является выявление статистически значимых ассоциаций генотипов по гену *PPARG* с различным уровнем содержания абдоминального жира (высоким, средним и низким) в разных группах кур-бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15».

Обоснованность результатов проведённых исследований определяется их методологией. Эксперименты выполнены на достаточно большом материале на базе лаборатории молекулярной организации генома и лаборатории молекулярной генетики ФГБНУ ВНИИГРЖ в с использованием новейших методик и оборудования, а также статистически обработаны с помощью современных информационных программ (Microsoft Excel, AtteStat12.0.5 и Instat+v3.37, что обосновывает получение достоверных результатов, а следовательно, и выводов, также как и практических рекомендаций.

Обоснованность и достоверность положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется также полнотой их освещения в научных публикациях и апробацией на конференциях различного уровня. Всего по теме диссертации опубликовано в 8 работ (в том числе имеется одна зарубежная публикация в журнале, входящем в базу цитирования Scopus, и 3 – в журналах, рекомендованных ВАК). Результаты исследований апробированы на 4 Всероссийских и Международных конференциях.

Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту

Степень новизны, научная и практическая значимость результатов

Научная новизна проведённых исследований заключается в том, что соискателем впервые создан банк мРНК и разработана тест-система, позволяющая определять уровень экспрессии генов *FABP1*, *FABP2*, *FABP3*, *HMGAI*, *PPARG*, *MC4R*, *PPARGC1A*, *POMC*, *PTPN1* в разных тканях кур-бройлеров. Показано, что высокий уровень экспрессии гена *PPARG* ассоциируется с повышенным уровнем содержания жира у бройлеров.

Методом секвенирования выявлено три сайта мононуклеотидного полиморфизма гена *PPARG* в пределах регуляторной последовательности. С помощью аллелеспецифической ПЦР выявлена связь SNP 4855561A>C, 4856011T>C и 4857001T>G с содержанием абдоминального жира у кур

Также соискателем впервые установлены статистически значимые различия между группами кур с различными генотипами по исследуемым ДНК-маркерам с высоким, средним и низким содержанием абдоминального жира,

Полученные результаты, несомненно, нужно использовать для разработки панели молекулярных маркеров, которые смогут выступать в качестве дополнения к классическим методам оценки потенциальной мясной продуктивности при селекции кур на птицеводческих предприятиях.

Выявленные закономерности и предложения представляют также достаточно интересный и новый материал для лекций, методических пособий, информативных стендов в учебных заведениях сельскохозяйственного и биологического профиля.

Вопросы и замечания к диссертационной работе

1. В чём заключается принципиальное различие понятий «масса абдоминального жира» и «содержание абдоминального жира»?
2. При формировании «жирных» и «нежирных» выборок кур учитывалось ли влияние паразитических факторов (в частности, рациона кормления)?
3. При анализе уровня экспрессии генов *FABP1*, *FABP2*, *FABP3*, *HMGAl*, *PPARG*, *MC4R*, *PPARGC1A*, *POMC*, *PTPN1* в разных тканях кур-бройлеров учитывалась ли половая принадлежность экспериментальных птиц?
4. Хотя достоверных различий по содержанию жира между выборками кур с различными генотипами по гену *FABP2* не выявлено, было бы логично и интересно проанализировать различия по содержанию абдоминального жира у кур, распределённых по выборкам с учётом обоих генотипов (*PPARG* и *FABP2*) в различных сочетаниях. Это позволило бы приблизиться некоторым образом к геномной оценке, а также к пониманию аддитивного механизма действия изученных генов липидного обмена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа **Ларкиной Татьяны Александровны** на тему «**Аллельные варианты и экспрессия генов-кандидатов содержания абдоминального жира у кур**» является законченной научно-квалификационной работой, в которой соискатель исследовала уровень экспрессии генов-кандидатов липидного обмена кур (*FABP1*, *FABP2*, *FABP3*, *HMGAl*, *PPARG*, *MC4R*, *PPARGC1A*, *POMC* и *PTPN1*), в различных тканях. Автором выявлены достоверные различия экспрессии генов *HMGAl* и *PPARG* в печени с высоким и низким содержанием жира у бройлеров. Также установлено статистически значимое влияние генотипов по гену *PPARG* на содержание абдоминального жира в экспериментальных группах кур.

Диссертация написана грамотно, доходчиво, аккуратно оформлена. По каждой главе и работе в целом сделаны чёткие выводы. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Оценивая кандидатскую диссертационную работу Т.А. Ларкиной в целом, считаю, что она соответствует специальности 03.02.07 – «Генетика» и является актуальной, цельной, законченной научной работой, выполненной на высоком профессиональном уровне. По своей научной новизне, практической значимости и объему полученных данных она соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 N 842 (ред. от 02.08.2016), а ее автор Ларкина Татьяна Александровна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика».

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,
зав. лабораторией молекулярной генетики,
профессор кафедры пчеловодства, частной
зоотехнии и разведения животных ФГБОУ ВО
«Башкирский государственный аграрный
университет» по специальности 06.02.07 - Разведение,
селекция и генетика сельскохозяйственных животных

Долматова Ирина Юрьевна

Адрес:

450001, г. Уфа,
ул. 50-летия Октября,
тел.(347)228-91-77
Web-сайт: www.bsau.ru
E-mail: bgau@ufanet.ru
dolmat@list.ru

Подпись И.Ю. Долматовой заверяю

Учёный секретарь ФГБОУ ВО
Башкирский ГАУ, доктор
сельскохозяйственных наук



Султанова Рида Разябовна

30.08.2017 г.