

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора, Дугана Олексія Мартем'яновича на дисертаційну роботу Пузік Ніни Григорівни на тему: «Дослідження поліморфізму генів регуляції процесів росту на модельному об'єкті *Bos taurus*, L.», поданої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика

Робота, що рецензується, присвячена дослідженню і аналізу впливу деяких поліморфних варіантів генів гормону росту, рецептору гормону росту, кальпаїн-кальпастинової системи та цитохрому *CYP3A28* на індивідуальні параметри розвитку тварин виду *Bos taurus*, L.

Сенс цього дослідження полягає у тому, що, на сьогоднішній день, є дуже важливим проводити концентрацію корисних ознак в одному геномі крупної рогатої худоби не лише на основі маркерної селекції, а на основі геномної селекції, що дає змогу одночасно аналізувати увесь геном за сукупністю маркерів. Однак, і цей підхід, за даними деяких дослідників, не є геть досконалим, тому що не враховуються, так звані, ізольовані ефекти ключових генів та точкових мутацій (SNPs). В результаті, напрями селекції, відповідно до вдосконалення певних ознак, залишаються не уточненими.

На думку дисертанта, розробка методів селекції ВРХ в Україні в основному спрямовані на аналіз корів за окремими точковими мутаціями, а впливу поліморфних варіантів ключових генів на ознаки багатьох порід ВРХ не приділяється належної уваги.

Саме ці проблеми (або прогалини в генетичних методах селекції ВРХ) дисертант бере на себе відповідальність вирішити.

Виходячи з цього, актуальність роботи, що рецензується, є обґрунтованою і важливою для України.

Абсолютно, з нашої точки зору, вірно була поставлена мета дослідження, спрямована саме на оцінку ефекту поліморфних варіантів відповідних генів на стан репродукційної функції у тварин виду *Bos taurus*, L. Однак, на нашу думку, словосполучення *популяційний рівень* варто було б замінити на *стадо*, тому що, виходячи з визначення терміну *популяція*, бугаї, які знаходяться окремо від корів, не є популяцією. Так само, як і самі корови, без бугаїв – це тільки стадо і нічого більше. І, якщо, на стадо корів, існує один, або два бугая - це теж не є популяція. Це теж є стадо. Чомусь ці словосполучення, в основному, застосовують в науковій літературі саме аграрії, аргументуючи тим, що це є сільськогосподарська

популяція. Взагалі, термін *популяція* для корів і бугаїв в дисертації зустрічається доволі часто.

Завдання, які були поставлені для досягнення мети, цілком виправдані і логічні.

Наукова новизна. Містить результати всіх досліджень одною фразою по кожному з завдань, але жодної цифри, яка б підтвердила ствердження дисертанта – немає. Наприклад, «...встановлено зв'язок між генотипами і алелями...», «...визначено частоти алелів та генотипів...», «...оцінено відповідність...закону Харді-Вайнберга...», «...охарактеризовано вплив генотипу... на динаміку росту», тощо. Все це є дуже добре, але, якщо виявлено якійсь зв'язок, то треба вказати ступінь його значущості, тому що може це проста норма реакції організму.

Практичне значення отриманих результатів. Теж немає конкретики. Якщо результати досліджень використовуються для вдосконалення породи ВРХ, то, на нашу думку слід вказати, хто використовує, і тільки для вдосконалення абердин-ангуської породи, чи можна вдосконалювати голштинів, сименталів, українську степову породи.

Огляд літератури складається з трьох підрозділів, присвячених в основному розгляду питань генетики ВРХ, опису ретроспективи моделей генетичного потенціалу ВРХ і генетичним процесам в популяціях ВРХ. Про популяції бугаїв я вже висловлювався.

Матеріали і методи досліджень. Перераховані і описані декілька: один з них – молекулярно-генетичний метод – ПЛР, для другого методу автором описано алгоритм популяційно-генетичного аналізу зі згадкою про те, що дисертант перевіряв розподіл частот алелів і генотипів на відповідність закону Харді - Вайнберга. Доводиться знову говорити про те, що аграрії вважають, по-перше, стадо корів, або бугаїв, за популяцію, по-друге, що розподіл частот алелів і генотипів ВРХ відповідають цьому закону. Безумовно, автор роботи має право на власну думку, тим паче, що вона співпадає з думками не тільки аграріїв, але й деяких закордонних учених. У нас інша думка, і вона ґрунтується на визначенні поняття *генетика популяцій*: це розділ генетики, який вивчає генетичну структуру природних популяцій, а також генетичні процеси, які в них відбуваються. Українські корови і бугаї – це природна популяція? Ні, штучна і вже декілька тисячоліть.

Далі. Закон Харді—Вайнберга, або закон генетичної рівноваги. Це є однією з основ популяційної генетики. Закон описує розподіл генів в популяції за наступних умов:

а) у популяції відбувається вільне схрещування; корови вільно схрещуються, чи людина якось впливає на цей процес?

б) у популяції відсутня міграція (як вхідна, так і вихідна); стадо корів – це стала одиниця протягом життя корови – 20 років, чи в стаді відбуваються періодично зміни? Зміни відбуваються часто.

в) у популяції відсутні випадкові мутації.

Головним недоліком цього розділу, на нашу думку, є відсутність схеми досліджень, яка б чітко вказувала, як формувалась вибірка корів для подальших досліджень, скільки особин кожної лінії були задіяні в досліді і, чи можна об'єднувати корів всіх ліній в одну вибірку?

Результати досліджень.

Результатом першого підрозділу є висновок генеалогічного аналізу: досліджені вибірки кваліфіковані відповідно заводських ліній. Тобто, заводські лінії корів дійсно є Саутхом Екстра, Ілінмера Леда та ін. і перші дві лінії є найкращими за набором маси тіла. І головний висновок: дані дисертанта подібні американським даним.

Зауваження до цього підрозділу таке: за якою методикою проводили, так зване, бонітування корів. В розділі Матеріали і методи цієї методики немає.

Далі дисертант проаналізував вплив різних алелів гена рецептору гормону росту на параметри конституції корів і знайшов не тільки позитивний, а й високий ступінь кореляції, наприклад, алелю *C* з показниками статури, хрестця, вим'я і загальною сумою балів за результатами бонітування. Ще один позитивний кореляційний зв'язок було знайдено між алелю *T* і *G* з розмірами мускулатури та вим'я. Також позитивно впливала наявність комбінації генотипу рецептору гормону росту і гену кальпаїну на розміри голови, шиї і вим'я. Кожен отриманий експериментальний результат дисертант обов'язково підтверджував посиланням на іноземних дослідників. Зауваження до підрозділу таке: на наш погляд, перелік умовних скорочень можна було б продовжити для зручності читання роботи. Наприклад, аббревіатура SNP – незрозуміло що, SNPs – точкові мутації. Доводилось шукати розшифровку у дисертації пана Копилова. Але ж у дисертації Копилова ця аббревіатура означає – точкові мутації.

Як впливали гени на показники росту корів у перші 5 років їхнього життя дисертант визначив в наступному підрозділі. Показані відмінності між групами з різними генотипами за масою тіла і середньодобовим приростом маси тіла. У подальшому така тенденція зберігалась. Зауваження до цього підрозділу таке: в тексті часто зустрічається словосполучення *приріст маси тіла асоціюється з генотипом...* Толкові словники стверджують, що латинське слово *associo* означає об'єднання, а більш пізній термін *associatio* означає з'єднання. Хочеться почути від дисертанта, що мається на увазі, коли стверджується про асоціацію. Звучить красиво, але незрозуміло. Якщо під асоціацією розуміється зв'язок, тоді що таке *асоціативний зв'язок*? Далі. У цьому підрозділі, крім представлення власних

експериментальних даних, чомусь міститься на трьох сторінках літературний огляд с приводу впливу відповідних генотипів на різні показники росту корів. На наш погляд, це зайве.

Характеристики репродукційної функції корів і як впливають на них відповідні гени, дисертант розглядав в наступному підрозділі. Я нарахував шість показників, від яких залежать репродукційні можливості корів, що дослідив дисертант. Виявилося, що середній вік першої тільності для всіх досліджуваних груп склав 966 ± 26 днів, тобто, майже 3 роки, при діапазоні від 486 до 1697 днів. Не менш цікавим є маса тіла при першій тільності. В середньому вона склала 427 кг, при діапазоні від 322 до 547 кг. Наскільки ці показники є інформативними я не зміг для себе з'ясувати. Виходить, якщо доросла особина (тобто, корова) досягла маси тіла 427 кг, то вона може народжувати телят? А, якщо корова має більшу за 547 кг масу, то не може? Ці особливості, тобто, вік першої тільності і масу тіла, при першій тільності, дисертант пов'язує з певними генами і їхніми алелями. Наприклад, цитую: «...С-алель асоціювався зі збільшенням маси тіла приблизно на 21%, хоча С-алель за геном кальпастанину *CAST282* – зі зменшенням маси тіла приблизно на 13%». Для яких ліній корів це відноситься? Чи всі досліджувані корови містили ці гени? Далі, цитую: «Алелі дикого типу, за винятком *SNP A25G*, асоціювались з меншим віком першої тільності». Звучить красиво, але не дуже зрозуміло. Можна було б написати приблизно так: «Наявність у генотипі певних ліній корів (уточнити, в яких саме лініях корів) алелів дикого типу (перерахувати їх) приводить до зниження віку першої тільності на 78, або на 50 днів». Звучить не так красиво, але більш зрозуміло.

Наступними показниками репродукційної функції корів є тривалість вагітності, інтервал між отеленнями і сервіс-період. Ці поняття мають свої тлумачення. Тривалість вагітності і інтервал між отеленнями відображають здатність організму до відновлення репродукційного циклу після отелення, а сервіс-період відповідає інтервалу між народженням та зачаттям наступного нащадка. Ці показники також пов'язані з певними генами. Найбільш сталим з цих показників є тривалість вагітності, чого не скажеш про інтервал між отеленнями і сервіс-періодом. На стор. 71 міститься таблиця 3.22, яка має назву «Ефект алелів досліджуваних *SNPs* на параметри...». Не дуже вдала назва, тому що саме *SNPs* дисертант не досліджував.

Наступним показником є здатність до овуляції протягом періоду лактації. В таблиці 3.19 вказано, що середнє значення показника складає 0,748 чогось. В таблиці немає розмірності показника.

Ще один показник – кількість телят на кожну корову. На думку дисертанта, на цей показник в основному впливають негенетичні фактори, однак, генетичну тенденцію Ніна Григорівна, все ж таки вказала. А саме – алелі дикого типу гену

гормону росту, його рецептору та цитохрому детермінують більшу кількість телят, а гені кальпаїну та кальпастатину – меншу.

Крім цих показників, дисертант проаналізував вплив генотипів корів на різні характеристики лактації, встановив вплив віку матері та номер вагітності на масу тіла телиць і бугайчиків при народження і через різні проміжки часу, середньодобовий приріст маси тіла. Дисертантом також встановлено, що чим більший є інтервал між отеленнями, тим більшу масу тіла при народженні мають телята; що сезон народження також впливає на темпи росту телят.

У наступному підрозділі дисертант зробив аналіз популяційних характеристик дослідженої групи корів. Спочатку було проведено аналіз генотипів, розраховано частоту алелів та перевірено відповідність їхнього розподілу закону Харді-Вайнберга і зроблено висновок, що співвідношення генотипів для більшості SNPs відповідало рівнянню Харді-Вайнберга. На наш погляд, назва підрозділу: *Аналіз популяційних характеристик...* занадто широкий. Насправді, популяційних характеристик в десятки разів більше, ніж запропоновано дисертантом. Що стосується відповідності закону Харді-Вайнберга, як уже згадувалось, виконується тільки для ідеальної природної популяції, де притока нових генів немає, а має місце, так звана ПАНМІКСІЯ. Чи має місце панміксія в стаді корів взагалі? До того ж бідних корів запліднюють штучно.

Наступний підрозділ присвячений аналізу показників гетерозиготності та рівню інбридингу. Результаті зведені в таблицю 3.33. Виникає запитання, як і за якими формулами була розрахована **гетерозиготність і коефіцієнти інбридингу**. За рахунок чого, при підвищенні рівня інбридингу, зменшуються показники росту, конституції та репродукційної функції корів? І якщо для цього підрозділу Ви розділили дослідну групу на лінії, тоді чому в попередніх дослідях цього не робили?

Ще 40 років тому стало відомо, що основною бідою високого рівня інбридингу є зміна частот генотипів в бік превалювання гомозигот, що аж ніяк не сприяє розквіту популяції в цілому. Вона може повністю виродитися. Тому, на наш погляд, варто було б вирахувати коефіцієнти інбридингу для кожної з семи ліній протягом декількох поколінь і показати тенденцію накопичення гомозигот в кожному поколінні і дати корисні поради стосовно зміни бугаїв-плідників.

Зрозуміло, що активність певних генів детермінує як різну масу тіла новонароджених телят, так і середньодобовий приріст, починаючи від народження і довіку. Однак, головним фактором, який обумовив низькі рівні цих показників, скоріше за все, є, як раз, рівень інбридингу.

Далі дисертант проаналізував нерівновагу за зчепленням і дістався висновку, що високий рівень інбридингу серед корів досліджуваної групи не дає змоги

виявити нерівновагу за зчепленим успадкуванням певної алельної комбінації у гені рецептору гормону росту. Нам не зовсім зрозуміло аббревіатури **kb**, **r²**, **LD**. Їх немає у розділі Матеріали і методи. Так само незрозуміло – ці розрахунки проводилися на коровах, чи і на телятах, з урахуванням представлених ліній, чи в загальному для всіх обраних в експеримент?

В рамках останнього підрозділу дисертант порівняв власну вибірку з популяціями інших кліматичних зон. Стосовно власної вибірки більш менш зрозуміло. Не зрозуміло з яким популяціями і що саме буде порівнюватися. Однак, текст підрозділу все розклав по місцях.

В результаті порівняння українських корів абердин-ангуської породи з аналогічними і іншими породами в світі, дисертант відзначив, що українська вибірка (всі українські корови цієї породи, чи тільки власна вибірка – не зрозуміло) за двома алелями **CAPN316** і **CAST282** (генів кальпаїну і кальпастатину відповідно) є відокремленими. Також було знайдено зв'язок алеля **C** за **L127V** з розмірами тіла тварин та зв'язок з клімато-географічними факторами відповідно до відстані від екватору. Які саме фактори клімату розглядалися – незрозуміло. Також слід сказати про стан рівноваги, так званих популяцій корів в світі. Стан рівноваги досягається в природних популяціях тоді, коли немає надходження генотипів ззовні. Розмноження здійснюється необмежено, популяція велика і чим більша популяція, тим повільніше накопичуються гомозиготні варіанти. Хтось рахував відсоток гомозигот протягом, наприклад, десяти поколінь у стаді? Якщо батькова сперма запліднює доньку, онуку, правнуку, праправнуку? Про яку рівновагу можна говорити?

Заключення. У цьому розділі дисертант узагальнив власні дослідження і обговорив їх з точки зору даних інших дослідників.

Висновки. На початку міститься узагальнюючий висновок. Всі висновки адекватні тексту роботи.

Список літератури складається з 251 найменування; переважна більшість найменувань є сучасними.

За результатами дисертації опубліковано 22 роботи, включаючи 7 у наукових фахових виданнях зі списку МОН України, 1 — в виданні, що входить до бази Scopus, 4 — у наукових фахових виданнях України з суміжних галузей науки, 10 тез доповідей.

Автореферат дисертації повністю відповідає змісту дисертації.

Зроблені зауваження не є принциповими, носять дискусійний характер.

ЗАКЛЮЧЕННЯ. Дисертаційна робота Пузік Ніни Григорівни на тему «Дослідження поліморфізму генів регуляції процесів росту на модельному об'єкті *Bos taurus*, L.», поданої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика, є закінченою науково-дослідною

роботою. Дисертаційна робота за змістом, обсягом, науковою новизною, практичним значенням одержаних результатів, актуальністю та оформленням повністю відповідає вимогам пп. 9 і 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.15 – генетика.

Декан факультету
біотехнології і біотехніки
Національного технічного
університету «КПІ ім. Ігоря Сікорського»,
доктор біологічних наук, проф.

Дуган О.М.

*Згідно проф. Дуган
засвідчую*

