

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **АЛЬШАМАЙЛЕХА Хамзи Самі** на тему **«Обґрунтування критеріїв відбору із застосуванням маркер-асоційованої селекції у молочному скотарстві»**, подану до разової спеціалізованої вченої ради РСВР 055 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство» та спеціальності 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва»

Актуальність теми. Нові відкриття в галузі молекулярної генетики дали змогу перейти від класичного фенотипічного оцінювання тварин до їх характеристики на рівні геному. Виявлено локуси ДНК, що обумовлюють прояв кількісних ознак, а їх поліморфізм використовується для генетичного маркування і прогнозування продуктивних якостей тварин. Це стало основою сучасної маркер-асоційованої селекції. Застосування методів маркер-асоційованої селекції відкриває нові перспективи в контексті максимальної реалізації продуктивного потенціалу тварин, що робить питання застосування сучасних наукових підходів у тваринництві особливо актуальним.

З огляду на це, дисертація, присвячена детальному аналізу особливостей генетико-популяційної структури великої рогатої худоби українських молочних порід за низкою нових поліморфних локусів, а також визначенню параметрів продуктивності особин з різними генотипами для обґрунтування перспективних завдань маркер-асоційованої селекції, є актуальною і своєчасною.

Мета і завдання досліджень. Для розкриття теми наукових досліджень чітко сформульовано мету, яка передбачає дослідження генетичної структури популяцій великої рогатої худоби молочних порід за комплексом локусів кількісних ознак (*QTL*) та визначення параметрів продуктивності корів з різними генотипами за виявленими поліморфними локусами для обґрунтування критеріїв добору із застосуванням методів маркер-асоційованої селекції. Для досягнення поставленої мети було сформульовано завдання, якими передбачалося оптимізувати методи генотипування особин великої рогатої худоби за локусами кількісних ознак з використанням маркерів *PCR-RFLP* та *SSCP*; визначити поліморфізм генів пролактину (*PRL*), плацентарного

лактогену (*PL*), рецептору гормону росту (*GHR*), лептину (*LEP*), фактору некрозу пухлини- α (*TNF- α*) та міогенного фактору росту 5 (*MYF5*) в дослідних популяціях великої рогатої худоби; виявити специфіку генетичної структури дослідних популяцій тварин за сукупністю локусів кількісних ознак; проаналізувати генетичну структуру двох популяцій корів української чорно-рябої молочної породи за поліморфізмом локусів кількісних ознак; дослідити параметри молочної продуктивності корів з різними генотипами за виявленими поліморфними локусами та розробити критерії відбору особин у молочному скотарстві на основі методів маркер-асоційованої селекції.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що здобувачем вперше встановлено особливості генетичної структури популяцій корів української чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід за локусами пролактину (*PRL*), плацентарного лактогену (*PL*), рецептору гормону росту (*GHR*), лептину (*LEP*), фактору некрозу пухлини- α (*TNF- α*) та міогенного фактору росту 5 (*MYF5*).

Вперше проаналізовано параметри продуктивності корів української чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід з різними генотипами за локусами пролактину (*PRL*), рецептору гормону росту (*GHR*), лептину (*LEP*), фактору некрозу пухлин- α (*TNF- α*) та міогенного фактору 5 (*MYF5*).

Практичне значення роботи. За результатами досліджень визначено низку перспективних генів-кандидатів для проведення спрямованої селекційної роботи в напрямі підвищення параметрів продуктивності тварин. Оптимізовано та апробовано методику SSCP-типування особин за локусом фактору некрозу пухлин- α (*TNF- α*).

Встановлений зв'язок різних алельних варіантів виявлених поліморфних локусів з показниками продуктивності корів української чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід. Розроблено формули комплексних генотипів у напрямі підвищення молочної продуктивності для кожної з дослідних порід, що дає змогу проводити селекційну роботу за умов створення ліній тварин з бажаними генотипами.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, є достатнім, що демонструється сукупністю експериментального матеріалу, обґрунтованим теоретичним обговоренням власних і літературних даних.

Мета і доцільність проведення досліджень логічно впливають з теми дисертації, актуальність, наукова новизна та практичне значення одержаних результатів обґрунтовані у вступній частині дисертації та у розділі «Огляд літератури», в якому представлено аналіз доступних закордонних літературних джерел щодо генетичних маркерів у селекції сільськогосподарських тварин. Якість досліджень, викладених у дисертації, підтверджується ретельно розробленою методикою, сучасними методами, застосованими для отримання експериментальних даних, репрезентативністю вибірок.

Структура роботи побудована відповідно до чинних вимог і складається з анотацій українською та англійською мовами, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел, додатків. Дисертація викладена на 172 сторінках, містить 29 таблиць, 33 рисунки. Список використаних джерел літератури включає 231 найменування, у тому числі 182 латиницею.

В «Огляді літератури» у п'яти підрозділах здобувачем розглянуто сучасний стан та перспективи використання маркер-асоційованої селекції (*MAS*) у тваринництві, пошук нових об'єктів досліджень як основи загальної стратегії *MAS*, технологія молекулярно-генетичних маркерів – як основний інструмент сучасної селекції у тваринництві, перспективні локуси для вирішення завдань *MAS* у молочному скотарстві, а саме: ген пролактину, плацентарного лактогену, лептину, рецептору гормону росту, фактору некрозу пухлини- α , міогенного фактору 5. Розділ закінчується обґрунтуванням напряду дисертаційних досліджень.

У розділі «Матеріали та методи досліджень» наведено місце проведення і матеріали досліджень, загальна схема досліджень, перелік використаного

обладнання. Ретельно розглянуті методи досліджень мутацій: ген пролактину (*PRL*) – *RsaI*-поліморфізм четвертого екзону (транзиція C/T у положенні 35106206); ген плацентарного лактогену (*PL*) – *RsaI*-поліморфізм у п'ятому екзоні (трансверсія C/A, місенс-мутація у положенні 35071890); ген рецептору гормону росту (*GHR*) – *AluI*-поліморфізм промоторного фрагменту; ген лептину (*LEP*) – *HphI*-поліморфізм у третьому екзоні (транзиція C/T, що призводить до заміни аланіну на валін у кодованому білку, мутація A59V); ген фактору некрозу пухлини- α (*TNF- α*) – SSCP поліморфізм у другому екзоні; ген міогенного фактору 5 (*MYF5*) – *TaqI*-поліморфізм у другому інтроні. Наведено формули обчислення біометричних і генетико-популяційних показників.

У розділі «Результати власних досліджень» наведено результати досліджень з визначення ефективності ампліфікації таргетних фрагментів локусів генів пролактину та плацентарного лактогену з метою подальшого генотипування за використання *PCR-RFLP* маркерів. Було оптимізовано та апробовано методику електрофоретичного розділення ампліфікованих фрагментів другого екзону фактору некрозу пухлини альфа (SSCP-аналіз). Встановлено, що для ефективного генотипування необхідно використовувати 12 % поліакриламідний гель зі співвідношенням акриламід/бісакриламід 100/1 та додаванням гліцерину до 5 % від загального об'єму гелю.

З урахуванням оптимізованих алгоритмів типування проведено дослідження особливостей генетичної структури дослідних популяцій великої рогатої худоби за локусами кількісних ознак. За результатами досліджень встановлено, що в популяціях корів молочних порід ген плацентарного лактогену є мономорфним, у той час як всі інші локуси є поліморфними. За кожним з дослідних генів (пролактин, рецептор гормону росту, лептин, фактор некрозу пухлини- α та міогенний фактор росту 5) встановлені значення частот алелів та відповідних генотипів, розраховані основні показники генетичної мінливості для кожної з експериментальних популяцій корів. За кожним окремим локусом визначено відповідність стану генетичної рівноваги за Харді-Вайнбергом. За деякими показниками встановлено

відхилення від рівноважного стану, що свідчить про потенційний вплив відбору за конкретним локусом внаслідок селекційної роботи у дослідному господарстві.

За результатами аналізу особливостей генетичної структури різних популяцій корів української чорно-рябої молочної породи за локусами кількісних ознак встановлено, що різні популяції корів української чорно-рябої молочної породи характеризуються превалюванням «домінуючих» алелів за локусами *PRL*, *LEP* та *TNF-α*, проте вираженими відмінностями у значеннях частот генотипів та загальних параметрів генетичної мінливості. Автором доведено, що варіювання показників генетичної мінливості залежить від типу маркера, який використовується – у випадку з *SSCP* значення цього показника суттєво вище, ніж його ж за використання *PCR-RFLP*. Результати досліджень вказують на неможливість проведення загальної екстраполяції результатів аналізу генетичної структури за комплексом локусів кількісних ознак однієї популяції тварин на інші групи у межах однієї породи великої рогатої худоби та додатково підкреслюють важливість проведення індивідуального типування корів окремо для кожного випадку.

За результатами проведених досліджень встановлені значення параметрів молочної продуктивності корів (надій за 305 днів лактації, вміст молочного жиру та білка) української чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід з різними генотипами за виявленими поліморфними локусами за три лактації. Встановлено, що за локусом пролактину підвищеними значеннями параметру надою характеризуються особини з протилежними гомозиготними генотипами для дослідних порід. Вірогідні відмінності у значеннях показників молочної продуктивності встановлено також і для локусу рецептора гормону росту (зафіксовано переважні значення показника вмісту жиру в молоці для гомозиготних за алелем *AluI*⁺ особин української чорно-рябої породи), лептину (з'ясовано переважні значення параметру надою для гомозиготних за алелем *C* особин для обох дослідних порід корів). У свою чергу, за локусом міогенного фактору 5 встановлено, що домінуючими значеннями показнику надою характеризуються особини з гетерозиготним генотипом.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» здобувач обґрунтовує отримані результати, наводить результати порівняльного аналізу встановлених особливостей генетичної структури популяцій корів української селекції з результатами, отриманими різними авторами на інших породах великої рогатої худоби закордонної селекції. Ґрунтуючись на даних щодо виявленого поліморфізму генів, що досліджувалися, та їх асоціацій з показниками молочної продуктивності корів визначено формули бажаних генотипів.

«Висновки» відповідають меті і завданням, змісту виконаних досліджень та містяться у 9 пунктах, також запропоновано пропозиції виробництву.

Повнота викладення результатів досліджень в опублікованих наукових працях. За темою дисертації опубліковано 13 наукових праць, з яких колективна монографія, 4 статті у наукових фахових виданнях України, стаття у науковому виданні, включеному до міжнародної наукометричної бази даних Scopus, 7 тез наукових доповідей.

Загалом позитивно оцінюючи дисертацію здобувача, слід вказати і на окремі недоліки, висловити **зауваження та побажання**:

1. У розділі 3 «Результати власних досліджень» не бажано назви підрозділів 3.3., 3.4 починати зі слова «Аналіз», підрозділ 3.4.6 – «Порівняльний аналіз».

2. Необхідно вказати загальну кількість тварин, на яких проводилися дослідження. Також, бажано вказати господарства, в яких проводилися дослідження.

3. У схемі дослідження бажано вказувати кількість тварин у трьох популяціях та кількість тварин, на яких проводилися дослідження на поліморфізм локусів кількісних ознак.

4. У тесті розділу узагальнено процедуру постановки електрофорезу. Бажано вказати конкретні концентрації агарозного та нативного поліакриламідного гелю для електрофорезу продуктів ампліфікації/рестрикції генів, що досліджувалися.

5. Автор стверджує, що «Розмір ампліфікованого фрагменту знаходиться у межах 416 п. н.», але на рис. 3.2 Електрофореграма продуктів ампліфікації четвертого екзону гену пролактину маркер не розписаний. І встановити саме цей розмір не можливо. Аналогічно на рис. 3.4, 3.6, 3.8, 3.11, 3.14, 3.17, 3.20.

6. С. 101. У роботі сказано: «У кожному окремому випадку аналізували показники молочної продуктивності лише в разі наявності необхідної для статистичного аналізу кількості особин із різними генотипами за кожним поліморфним локусом». Вважаю за потрібне вказувати в таблицях конкретну кількість тварин, в яких визначалися асоціації генів, що досліджувалися з продуктивними показниками.

7. Виникає питання, чому саме автор приділяє значну увагу показнику індексу фіксації при аналізі особливостей генетичної структури? Чи доцільно використовувати саме показники F-статистики Райту для порівняння генетико-популяційних параметрів різних порід тварин?

8. Потребує уточнення інформація щодо особливостей типування особин за маркерами типу *SSCP*. Яка максимальна кількість алелів локусу *TNF-α* може бути виявленою за використання цього типу ДНК-маркерів? Чи є альтернативні варіанти визначення поліморфізму саме для гену *TNF-α*?

9. Згідно тексту пропозицій виробництву виникає питання – для яких тварин необхідно проводити ДНК-типування? Чи є необхідність аналізувати генотип плідників?

10. Чи доречно зараз використовувати посилання на російські та російськомовні наукові джерела (№ 2, 9, 74, 87, 177, 206, 208, 217)?

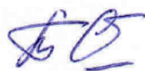
11. Всі проведені дослідження необхідно подавати в минулому часі. Здобувач застосовує одночасно і минулий, і теперішній час. У тексті зустрічаються не коректні стилістичні висловлювання, русизми.

Водночас зауваження не є суттєвими, не стосуються принципових положень дисертації, тому доброго враження від роботи не знижують.

Загальний висновок. Враховуючи актуальність теми, обсяг досліджень, наукову новизну, кваліфікаційний рівень, аналіз одержаних результатів, оформлення, апробацію, зміст висновків і пропозицій виробництву, вважаю,

що дисертація на тему: «Обґрунтування критеріїв відбору із застосуванням маркер-асоційованої селекції у молочному скотарстві», відповідає чинним в Україні вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року № 261 (із змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 283 від 03.04.2019 р. та № 502 від 19.05.2023 р.), наказу МОН України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31.05.2019 р.) і Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 (із змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 341 від 21.03.2022 р. та № 502 від 19.05.2023 р.), а її автор АЛЬШАМАЙЛЕХ Хамза Самі заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва» з галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство».

Офіційний опонент
завідувач кафедри гігієни тварин
та ветеринарного забезпечення
кінологічної служби Національної
поліції України Закладу вищої освіти
«Подільський державний університет»,
доктор сільськогосподарських наук,
професор



Тетяна СУПРОВИЧ

Учений секретар ЗВО ПДУ,
кандидат сільськогосподарських наук,
доцент



Олена КОБЕРНІЮК