

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Стародуб Любові Феофілівни
«ГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ АБОРИГЕННИХ ПОРІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ТА КОНЕЙ ЗА РІЗНИМИ ТИПАМИ МАРКЕРІВ»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук
за спеціальністю 03.00.15 – генетика

Актуальність теми дисертаційної роботи. Аналіз генетичної мінливості популяцій – одне з основних завдань сучасної генетики, яка особливо актуальна в контексті вирішення проблеми зменшення породного різноманіття та збереження генофонду різних видів тварин. Дослідження особливостей генетичної структури популяцій різних видів тварин (як диких, так і доместикованих) дає можливість зрозуміти закономірності перебігу мікроеволюційних процесів у популяціях, дослідити динаміку породоутворення, визначити процеси генетичної еrozії у випадку зникаючих видів. У зв'язку з цим подібні дослідження стають практично обов'язковими в контексті проблеми збереження генофондів рідкісних та аборигенних видів і порід тварин. У даний час, аналіз параметрів генетичної мінливості поступово переходить на рівень безпосередньо спадкового матеріалу, що дає змогу більш точно виявити наявні закономірності та визначити параметри генетико-популяційної структури дослідних порід та ліній. Безпосередній аналіз спадкового матеріалу за використання молекулярно-генетичних маркерів успішно проводиться на переважній більшості різних видів сільськогосподарських тварин від великої рогатої худоби до птиці. При цьому вирішується ціла низка різноманітних проблем – від визначення продуктивного потенціалу, що у подальшому стає фундаментом для проведення селекційної роботи, до паспортизації та контролю походження. У деяких випадках, використовуються, свого роду, еклектичні методологічні прийоми, що засновані на комбінації як різних типів маркерів у межах одного класу (полілокусні та монолокусні, SSR та PCR-RFLP та інші), так і з залученням маркерів різних класів (молекулярно-

генетичні та цитогенетичні). Гарним прикладом такого еклектичного підходу й може служити представлена дисертація.

Мета представленої дисертаційної роботи – теоретично обґрунтувати та оптимізувати методичні підході комплексного застосування молекулярно-генетичного та цитогенетичного методів у системі аналізу впливу різних факторів на формування генетичної структури популяцій аборигенних порід свійських тварин. У дисертації зроблено спробу комплексного підходу, з використанням як класичних цитогенетичних методів, так і полілокусних ДНК-маркерів (ISSR), для аналізу параметрів генетичної мінливості аборигенних порід великої рогатої худоби і коней. Поряд з цим, виконана робота з філогенетичного аналізу сучасних популяцій коней з їх предками, що додатково додає фундаментальний характер проведеним дослідженням.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в отриманні результатів з проведення порівняльного аналізу параметрів спонтанної цитогенетичної мінливості різних порід великої рогатої худоби: аборигенних, малочисельних (сіра українська, білоголова українська, червона польська, бура карпатська), комерційних (українська чорно-ряба молочна, українська червоно-ряба молочна) та помісних порід. Для визначення чинників, що викликають підвищену мінливість соматичних клітин у великої рогатої худоби розроблено та апробовано тест «Способ визначення мутагенної активності ксенобіотиків на *Drosophila melanogaster*». Оптимізовано методику та вперше в Україні здійснено виділення ДНК із викопних кісток плейстоценових коней, справжнього тарпана та давнього свійського коня для дослідження філогенетичного зв'язку між сучасними та давніми еквідами за використання ISSR-аналізу.

Практичне значення роботи. У дисертаційній роботі запропоновано використання отриманих результатів досліджень з порівняльного аналізу цитогенетичної мінливості великої рогатої худоби різних порід (аборигенних та комерційних) в якості додаткового критерію для добору тварин. Оптимізовано та апробовано методику (етап пробопідготовки) виділення ДНК із викопних решток древніх коней, ефективність якої доведено за використання ISSR-маркерів.

Визначено ефективність використання низки ISSR-маркерів для генетичної диференціації різних порід коней, включаючи й можливість аналізу ДНК давніх еквід (створено необхідну інформаційну базу для проведення філогенетичних досліджень). Апробовано та рекомендовано до використання тест для виявлення мутагенності природних середовищ (води і ґрунту), хімічних речовин та канцерогенів, що впливають на організм сільськогосподарських тварин – «Способ визначення мутагенної активності ксенобіотиків на *Drosophila melanogaster*». За результатами досліджень розроблено методичні рекомендації «Методика з проведення молекулярно-генетичних досліджень аборигенних та малочисельних порід сільськогосподарських тварин», «Визначення адаптаційної здатності племінних ресурсів молочної худоби та молекулярно-генетичні методи у системі збереження біологічного різноманіття».

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дослідження проведені на сучасному науковому рівні із застосуванням коректних методичних підходів. Загальна кількість проаналізованих тварин різних порід та видів є достатньою для статистичного опрацювання. Представлена загальна схема досліджень логічно відображає обрані методичні підходи до вирішення головної мети досліджень. Статистичну обробку результатів досліджень проведено з використанням коректних методичних підходів та відповідного програмного забезпечення (Microsoft Excel 2013; STATISTICA 7; Tree View X). Об'єкт та предмет досліджень обрані вірно і коректно, чітко сформульовані. Розділи дисертаційної роботи викладено в логічній послідовності. Висновки та пропозиції чітко сформульовано, вони органічно відображають поставлені мету та завдання досліджень та повністю відповідають отриманому експериментальному матеріалу.

Структура для обсяг дисертаційної роботи. Дисертаційна робота оформлена відповідно до чинних вимог та включає до себе всі необхідні розділи: анотації українською та англійською мовами, зміст, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, результати експериментальних досліджень та їх обговорення (три розділи), аналіз та

узагальнення результатів, висновки, рекомендації, список використаних джерел, додатки. Загальний об'єм дисертаційної роботи – 280 сторінок, робота містить 47 таблиць і 59 рисунків. Список використаної літератури представлений 450 джерелами, з яких 220 – латиницею.

Повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи в опублікованих працях. Матеріали дисертаційної роботи неодноразово представлені на численних міжнародних науково-практических конференціях. Основні положення достатньо представлені у 24 наукових працях, серед яких опубліковано у фахових виданнях України – 15, у виданнях іноземних держав – 5, у виданнях, які включені до міжнародних наукометрических баз – 3 (з них у Scopus – 2), методичних рекомендаціях – 2, наукових працях апробаційного характеру – 2.

Зауваження та побажання щодо змісту дисертаційної роботи. Поряд з позитивною оцінкою дисертаційної роботи Стародуб Л.Ф., слід вказати на окремі недоліки, зазначити деякі зауваження та побажання:

1. У тексті дисертаційної роботи наявні деякі невдалі вирази та терміни (ISSR-PCR маркери, ДНК-локуси, генетична структура стабільності каріотипу популяції та інші).
2. Слід зазначити, що параметри генетичної мінливості в першу чергу відносяться до характеристики саме популяції, яка в цьому випадку є вибіркою, а не до виду тварин, що є генеральною сукупністю.
3. Наявне невдале наведення результатів досліджень у таблицях, що присвячені результатам цитогенетичних досліджень. Надано інформацію стосовно каріотипових порушень у відсотках, що не є часткою від наведеної кількості тварин у групах. Відповідно пояснення стосовно цього типу представлення статистичного матеріалу потрібно шукати окремо у тексті дисертаційної роботи. Подібний стиль викладення матеріалу суттєво перешкоджає його сприйняттю.
4. Назви деяких таблиць є не зовсім коректними та не повністю відображають свій зміст.
5. Виникає питання, чому для електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації за різними ISSR-маркерами використовували саме 2% агарозний гель?

6. Висновок стосовно того, що наявність мікродерер у лімфоцитах периферійної крові є показником генотоксичного впливу на організм тварини не є експериментально обґрунтованим. Теж саме відноситься й до ствердження стосовно виникнення двоядерних клітин як феномену компенсації дії генотоксичних агентів.

7. Твердження про те, що наявний вплив віку на частоту хромосомних порушень є загальновідомим та, відповідно, не має практичного сенсу у контексті дисертаційної роботи.

8. Автор стверджує, що підвищення частки двоядерних лімфоцитів у периферійній крові корів може бути викликане наявністю сірководню у воді. Але далі по тексту дисертаційної роботи робиться висновок щодо однозначної дії цього фактору на формування генетичної структури популяції аборигенних порід ВРХ. Постає цікаве питання – наявність сірководню у воді є однозначним чи тільки потенційним фактором впливу?

9. Висновок стосовно залежності каріотипової мінливості коней від генотипових та паратипових факторів є загальновідомим та не може бути розглянутим в якості результату проведених досліджень.

10. Стосовно оптимізації методу виділення ДНК з викопних решток кісток коней виникає питання – чому автор наполягає на методі виділення ДНК, якщо у дисертаційній роботі використано широко відомий комерційний набір реагентів ДНК-Сорб-В, який розроблено саме для виділення ДНК?

11. На мою думку, результатом досліджень з оптимізації методу виділення ДНК з викопних решток кісток коней є не метод виділення, як такий, а саме методика пробопідготовки, тобто методичні підходи до механічної та хімічної обробки первинного матеріалу для подальшого виділення ДНК за використання комерційного набору реагентів.

12. Чому, для вивчення поліморфізму ДНК з матеріалу, що отриманий з викопних решток кісток коней, обрано наступні чотири ISSR-маркери: GA-ISSR, ACC-ISSR, GAG-ISSR та AG-ISSR? Автор стверджує, що згідно літературних джерел саме ці маркери є найбільш інформативними, але ступінь їх поліморфності

було встановлено саме для сучасних інших порід коней, що, у такому випадку, зовсім не гарантує певну інформативність для давніх коней.

13. У тексті дисертаційної роботи автор стверджує, що за маркером (GA)₆C взагалі не виявлено наявних ампліконів при аналізі викопних решток кісток коней. У такому випадку, в першу чергу можна припустити, в якості чиннику відсутності ампліфікації за маркером (GA)₆C, неповний (частковий) нативний стан отриманої, за розробленою методикою, ДНК, що, у свою чергу, значно погіршує обґрунтованість висновку стосовно високої ефективності авторської методики.

14. Не зрозуміло, чому в таблицях з результатами аналізу генетичних зв'язків наведено лише значення параметрів генетичних відстаней. Чому відсутні дані з параметрів генетичної подібності дослідних груп тварин?

15. Не зрозуміло за яким алгоритмом побудовано дендрограми філогенетичних зв'язків для дослідних об'єктів (дослідних популяцій). Автор стверджує (у розділі «Матеріали та методи дослідження»), що для побудови дендрограм використовували програму Tree View X. Виникає питання – використання якого алгоритму закладену у цю програму?

16. Не дуже вдалим є позначення на наведених електрофореграмах кожного з фрагментів використаного маркеру молекулярних мас (значення розміру кожного з фрагментів маркеру у парах нуклеотидів). У цьому випадку доцільно було б навести значення тільки для межових (лімітних) та проміжних фрагментів.

Слід відмітити, що зазначені зауваження не є принциповими, вони не зменшують загальну позитивну оцінку та науково-практичну цінність представленої дисертаційної роботи.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Стародуб Любові Феофілівни «Генетична мінливість аборигенних порід великої рогатої худоби та коней за різними типами маркерів» є завершеним науковим дослідженням, виконаним на сучасному методичному рівні. Враховуючи актуальність теми, обсяг досліджень та їх новизну, аналіз та обґрунтованість отриманих результатів, зміст висновків та рекомендацій, вважаю, що дисертаційна робота **«Генетична мінливість**

аборигенних порід великої рогатої худоби та коней за різними типами маркерів», відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів...» МОН України щодо докторських дисертацій, а її автор, **Стародуб Любов Феофілівна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.**

Офіційний опонент, доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник, професор кафедри
біології тварин Національного університету
біоресурсів і природокористування України

Р.О. Кулібаба

