

Утверждаю:

Директор ФГБНУ «Федеральный
исследовательский центр Институт цитологии
и генетики СО РАН», член-корр. РАН,

доктор биологических наук,

А.В. Кочетов



« 30 » ноября 2018 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»

на диссертационную работу Оюн Надежды Юрьевны «Генетическое разнообразие яка (*Bos grunniens*) Саяно-Алтайского региона», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.02.07 – генетика.

Рецензируемая работа относится к исследованию генетического разнообразия в популяциях яка *Bos grunniens*, обитающего в экстремальных природных условиях высокогорных районов Саяно-Алтайского региона России и Монголии. Прделанная Н.Ю. Оюн диссертационная работа является актуальной и необходимой, поскольку, численность поголовья этого ценного вида домашнего скота в нашей стране за последние десятилетия резко сократилась, что делает необходимым разработать методы поддержания его численности и рационального разведения.

Организация исследовательской работы сводилась к следующим основным задачам:

1. Выявить гаплотипическое разнообразие и филогенетические взаимоотношения между гаплотипами яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона на основе полиморфизма D-петли мтДНК.
2. Выявить генетическую изменчивость универсальных микросателлитных локусов, разработанных для крупного рогатого скота, для оценки их применимости в исследованиях *Bos grunniens*.
3. Выявить генетическое разнообразие и структуру популяции яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона на основе микросателлитных локусов.
4. Поиск ассоциаций гена *VEGF-A* с высотой горного рельефа у яков Саяно-Алтайского региона.

По полученным результатам масштабных экспедиций на территории Саяно-Алтайской горной страны в России и Монголии, и последующих лабораторных исследований (работа проводилась с 2008 по 2018 гг., было исследовано 504 животных), выполненный труд является востребованным, как в прикладном аспекте, так и в фундаментальном.

Диссертация написана в традиционном стиле. Рукопись изложена на 103 страницах, содержит 15 таблиц, 23 рисунка и состоит из следующих разделов: "Введение", трех глав: "Обзор литературы", "Материалы и методы", "Результаты и обсуждение", "Заключение", "Выводы", "Благодарности". Список цитированной литературы составляет 135 источников. По материалам исследований опубликовано 5 работ, в том числе 2 статьи в журнале, рекомендуемом ВАК Министерства образования и науки РФ.

Введение содержит в себе обзор литературы с описанием происхождения, истории domestикации, видовых, географических, фенотипических особенностей и таксономического статуса *Bos grunniens*. Приводится информация по генетическому полиморфизму на основе микросателлитных локусов, объясняется актуальность темы исследования, *Bos grunniens*. В степени разработанности проблемы отмечается, что исследования генетического разнообразия яка, проводимые в нашей стране, были неполными, они носили фрагментарный характер и были связаны, в основном, с изучением гибридизации яка с разными породами крупного рогатого скота. На сегодня большинство публикаций на тему генетического разнообразия яка представлено зарубежными исследователями, выполненными на разных породах домашней формы *Bos grunniens*, разводимых в других странах.

Цели и задачи, выполненного автором исследования, состояли в том, чтобы:

1. выявить гаплотипическое разнообразие и филогенетические взаимоотношения между гаплотипами яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона на основе полиморфизма D-петли мтДНК;
2. выявить генетическую изменчивость универсальных микросателлитных локусов, разработанных для крупного рогатого скота, для оценки их применимости в исследованиях *Bos grunniens*;
3. выявить генетическое разнообразие и структуру популяции яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона на основе микросателлитных локусов;
4. Провести ассоциаций гена *VEGF-A* с высотой горного рельефа у яков Саяно-Алтайского региона;

Научная новизна состояла в комплексном изучении генетического разнообразия яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона на основе полиморфизма гипервариабельного района D-петли мтДНК микросателлитных локусов и SNP-

маркеров. При этом впервые было показано, что у пород яков Тувы, Алтая, Бурятии и Монголии присутствуют четыре ранее не описанных гаплотипа, не ассоциированные ни с дикой ни с одомашненной формой, ни с породной или географической принадлежностью. Впервые на основе выявленной генетической структуры популяций яка Саяно-Алтайского региона России и Монголии, показана их слабая дифференциация. Впервые показано, что универсальные микросателлитные локусы *CSSM66*, *INRA023*, *SPS115*, *TGLA53*, *CSRM60* и *BM2113*, разработанные для крупного рогатого скота, также пригодны для популяционных исследований яка *Bos grunniens*. Впервые осуществлен поиск ассоциаций гена *VEGF-A* с высотой горного рельефа у яков.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что *Bos grunniens* является уникальной моделью в медико-биологических исследованиях в понимании молекулярно-генетических основ адаптации представителей разных таксонов к условиям гипоксии. В сравнении с породами других сельскохозяйственных животных (крупного рогатого скота, коз, свиней), китайские, монгольские и бурятские популяции одомашненной формы яка характеризуются низкими значениями *FST* и отсутствием корреляции между географическим и генетическим расстояниями. Это свидетельствует о том, что данные популяции разделились относительно недавно, и могут быть использованы в качестве модели микроэволюционных преобразований.

Положения, выносимые на защиту.

1. Популяции яка Саяно-Алтайского региона характеризуются довольно высоким гаплотипическим разнообразием D-петли мтДНК вследствие распространения на данной территории гаплотипов из всех известных гаплогрупп, описанных в настоящее время.
2. Гаплотипы мтДНК яка *Bos grunniens* не ассоциированы ни с дикой формой, ни с одомашненной, ни с породной, ни с географической принадлежностью.
3. Универсальные микросателлитные локусы, разработанные для крупного рогатого скота, в разной степени генетически изменчивы, в связи с чем некоторые локусы информативны и пригодны для популяционных исследований яка *Bos grunniens*.
4. Популяции яка России и Монголии генетически слабо дифференцированы и характеризуются низким аллельным разнообразием микросателлитных локусов.
5. С ростом высоты горного рельефа наблюдается общая тенденция повышения частоты аллеля *A* в позиции *g.14853* гена *VEGF-A*, участвующего в механизмах адаптации яка *Bos grunniens* к высокогорной гипоксии.

Материалы и методы

Автором в представляемой работе дается характеристика анализируемых популяций животных в хозяйствах России и Монголии, специализирующихся на разведении яков.

При этом использовались стандартные методики выделения суммарной геномной ДНК, анализа полиморфизма D-петли мтДНК, генотипирования SNP g.8430T>C и g.14853G>A в гене *VEGF-A*, микросателлитного анализа, филогенетического и популяционно-генетического анализа, математико-статистического анализа, приводятся расчёты индексов фиксации и инбридинга.

Результаты и обсуждение

Анализ гаплотипического разнообразия мтДНК яка *Bos grunniens* был проведен на животных в хозяйствах Тувы, Алтая, Бурятии и Монголии общей численностью 100 особей. Анализ полиморфных сайтов в гипервариабельном фрагменте D-петли мтДНК выявил 17 гаплотипов, и на их основе было построено Байесово дерево гаплотипов. При этом самое высокое разнообразие было обнаружено в тувинской популяции, что по мнению автора объясняется особенностью технологии отгонного выпаса яка, когда в условиях свободном скрещивания невозможно наладить контролируемый отбор и подбор пар нужных для направленной селекции животных.

Для изучения вклада материнской генетической компоненты в формирование внутривидового и межвидового разнообразия яка на основе мтДНК проведен филогенетический анализ дикого и одомашненного яка, на основе которого построено дерево гаплотипов мтДНК *Bos grunniens* дикого и одомашненного яка.

Результаты филогенетического анализа дают основание предположить, что дикий и одомашненный яки унаследовали от предка изначально высокое гаплотипическое разнообразие, сформировавшееся задолго до одомашнивания яка и сохранившееся до настоящего времени благодаря сильному давлению отбора в экстремальных условиях высокогорья.

Для оценки изменчивости используемых в работе микросателлитных локусов, разработанных для крупного рогатого скота, проведён анализ показателей аллельного и генетического разнообразия, индексы полиморфности, фиксации и инбридинга, рассчитанные для каждого микросателлитного локуса. В результате было выявлено, что наиболее информативными для популяционных исследований яка являются локусы *CSSM66*, *INRA023*, *SPS115*, *TGLA53*, *CSRM60*, *BM2113*.

На основе анализа 15 микросателлитных локусов исследовано генетическое разнообразие в популяциях яка Тувы, Алтая и Монголии. По своей структуре выборки из Тувы ближе друг к другу, чем к популяциям Алтая и Монголии. При этом обнаружилось, что аллельное разнообразие в тувинских популяциях ниже, чем в алтайской и монгольских. Автор объясняет это, как положением этих популяций на краю ареала вида

(*Bos grunniens*), так и резким сокращением общей численности поголовья в специализированных хозяйствах по разведению яка в конце XX в.

В ходе исследования SNP $g.8430T>C$ в гене *VEGF-A* у яков России и Монголии показано, что частоты аллелей *T* и *C* в исследованных выборках значимо не отличаются. Суммарное соотношение генотипов *CC* и *TT* в среднем почти равное, отмечается преобладание гетерозигот *CT*.

В ходе исследования SNP $g.14853G>A$ в гене *VEGF-A* было показано, что согласно тесту Фишера, частота аллеля *A* в российских выборках в среднем значимо выше, чем в монгольских. На территории России преобладает генотип *GA*, в то время как в монгольской популяции наиболее распространен генотип *GG*. Кроме того, частота генотипа *AA* в популяции яка России почти в полтора раза выше по сравнению с яками Монголии.

Отдельно прорабатывался вопрос о поиске генной компоненты, участвующей в механизмах адаптации к высокогорной гипоксии. При этом, одновременно с ростом высоты горного рельефа обнаружена общая тенденция повышения частоты аллеля *A* в позиции $g.14853$ гена *VEGF-A*.

Особо подчеркну, что материалы диссертации могут и должны использоваться в курсе теории селекции для аграрных университетов. Результаты работы могут быть применены в исследованиях, проводимых в таких учреждениях как Институт цитологии и генетики СО РАН, Институт биологии развития РАН, Институт проблем экологии и эволюции РАН, Институт комплексного освоения природных ресурсов РАН, Институт биологии КНЦ РАН.

Материалы диссертации были представлены на научных конференциях с публикацией статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Автореферат полностью отражает содержание диссертации, а выводы соответствуют полученным результатам.

Должен, для всесторонней оценки диссертации, высказать и некоторые замечания. Они касаются использования терминов. В тексте на стр. 25: "*Среди представителей породы Tianzhi наблюдается инбридинг вследствие селекции на белый окрас*". Использование слова "*окрас*", в биологических текстах не допустимо. Это сленг, используемый в разговорной речи у собаководов и животноводов. В данном случае следует использовать термины "*фенотип*", "*окрасочный фенотип*", или просто "*окраска*". В общепринятой английской версии – "*coat color phenotype*". Некоторые замечания касаются оформления, когда с расстановкой запятых в отдельных случаях не могу согласиться. В тексте диссертации присутствуют в определенной степени неудачно построенные фразы.

Заключение

Отмеченные замечания не влияют на общую, самую положительную, оценку труда Н.Ю.Оюн. В соответствии с Положением о присуждении ученых степеней от 24.09.13 № 842 (п. 24), ведущая организация считает, что Оюн Надеждой Юрьевной получены значимые результаты для повышения уровня генетико-селекционной работы с яком в хозяйствах, специализирующихся на его разведении. Рекомендуем результаты, приведенные в диссертации, использовать также в работе по сохранению аборигенных пород сельскохозяйственных животных.

По своей актуальности, новизне и научно-практической значимости диссертационная работа "Генетическое разнообразие яка (*Bos grunniens*) Саяно-Алтайского региона", полностью соответствует требованиям п. 9 "Положения ВАК РФ о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор Оюн Надежда Юрьевна безусловно заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Отзыв рассмотрен и одобрен на расширенном заседании лаборатории молекулярной генетики и селекции сельскохозяйственных животных ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (Протокол № 1 от 26.11.2018).

Доктор биологических наук, (03.02.07 – "Генетика"),

Ведущий научный сотрудник
Лаборатории молекулярной генетики и
селекции сельскохозяйственных животных

Трапезов Олег Васильевич.

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН,
630090, Новосибирск,

пр. Академика Лаврентьева, 10

Тел. +7 (383) 363-49-63*1230

E-mail: trapezov@bionet.nsc.ru

30.11.2018

Подпись О.В. Трапезова заверяю

Ученый секретарь ИЦиГ СО РАН, канд. биол. наук Г.В. Орлова

