

REVIEW OF A SCIENTIFIC CONSULTANT

for the dissertation work of Aset Abdymaratovich Turgumbekov on the topic: "Increasing the reproductive function of cows based on a study of the dynamics of growth of the dominant follicle and genotyping at the ER α gene locus," submitted for defense for the degree of Doctor of Philosophy (PhD) in the specialty 6D120100 Veterinary Medicine

In the world over the last 15-20 years, there has been a trend towards an increase in milk productivity, but another important indicator like the fertility of cows is decreasing; we get fewer calves per 100 cows. A great reserve for increasing the reproductive function of cows is a deep functional study of the processes of oogenesis, folliculogenesis, the dynamics of growth of dominant and subdominant follicles in cattle, the study of the endocrine mechanism of the estrous cycle and the ovulation process. Currently, research by scientists has established that in cows, during the period between two ovulations, two or three waves of growth of dominant follicles occur; using ultrasound scanning of the ovaries, the dynamics of follicle growth and their growth rate have been determined. There is evidence that the growth of one single dominant follicle occurs as a result of the support of a population of subdominant follicles. Knowledge of the growth characteristics of dominant and subdominant follicles, determination of the causes of oocyte apoptosis and atresia of individual follicles allows us to develop optimal schemes for synchronizing the estrous cycle. The terms stimulation or synchronization of the estrous cycle, induction of the estrous cycle, and ovulation induction should also be more precisely defined. The obtained theoretical knowledge allows us to reveal the mechanism of these physiological processes. Often in veterinary gynecology, synchronization of the estrous cycle is carried out frontally, spontaneously, without taking into account the physiological processes in the cow's body; the only thing that is taken into account is the presence of a well-formed corpus luteum. Also important in theoretical and applied terms is the study of DNA markers of reproductive function, the study of the associative influence of gene alleles on reproductive function in cows.

The dissertation work was carried out at a high methodological level, research methods were used such as ultrasound scanning of the ovaries, determination of the functional activity of the corpus luteum using Doppler ultrasound, assessment of the state of vascularization of the corpus luteum during the estrous cycle, determination of the concentration of the hormone estradiol in the blood serum by ELISA, molecular-genetic diagnostic methods, PCR, PCR-RFLP analysis, bioinformation processing of genotyping results. The results of the study of the dynamics of growth of dominant and subdominant follicles are presented in the dissertation work in the form of sonograms, where the results of measuring the diameters of the follicles are clearly visible. Electropherograms identified genetic variants at the loci of the estrogen receptor ER α and GDF9 genes. In order to obtain reliable genotyping results, computer calculator programs, Equilibrium Hardy-Weinberg (<https://gene-calc.pl/hardy-weinberg-page>) were used and digital values of χ^2 were determined.

It should be noted that the study of the characteristics of follicle growth is a complex process, since ultrasound scanning of the right and left ovaries was carried out using ultrasound devices PU2200 Vet and Mindray Z5 Vet, which allow obtaining good quality sonograms. However, the complexity of the process lies in the fact that it is difficult to identify this population of maturing

follicles, where is the dominant follicle, where are the subdominant follicles. The dissertation author conducted such studies during the estrous cycle with an interval of 48 hours, the scan results were saved in the form of sonograms. Thus, in the studied cows, two or three waves of growth of dominant follicles were determined, the growth rate of dominant and subdominant follicles was determined, 0.9 mm - 4.43 mm per day, 0.26 mm - 1.40 mm per day, respectively. The change in the concentration of estradiol in the preovulatory period was determined; in all studied animals there was a slight increase in the concentration of estradiol at the end of the preovulatory period. In randomly selected cows with an unknown period of the estrous cycle, there is a significant increase in the concentration of the hormone estradiol in the blood serum, which corresponds to the hypothesis that the population of subdominant follicles ensures the growth of the dominant follicle, in this case an increase in the concentration of estradiol, due to the secretion of this hormone in multiple subdominant follicles. Doctoral student, Turgumbekov A.A. has been established that good results of synchronization of the estrous cycle can be obtained by preliminary ultrasound scanning of the ovaries; animals with follicles (diameter 5-8 mm) respond positively to hormonal treatment.

In the dissertation work, genotyping of DNA samples of 120 cows of the Holstein breed of the breeding farm of Baiserke-Agro LLP was carried out in the Talgar district of Almaty region.

The animals were preliminarily divided into 4 groups: cows that were fertiley inseminated in the period from 45 to 60 days, from 61 to 90, 91-120 days and more than 120 days after calving. In the studied group of animals, it is observed that at the GG gene locus, cows with the homozygous GG genotype have high reproduction rates compared to animals with other genotypes. According to the GDF9 gene locus, animals homozygous with the TT genotype were found to be highly fertile. In the dissertation work was carried out to analyze the world literature and the author of the dissertation obtained similar results in terms of the growth of dominant and subdominant follicles and changes in the concentration of the hormone estradiol.

The dissertation work of Aset Abdymaratovich Turgumbekov includes the following sections: introduction, literature review, materials and research methods, research results, discussion of obtained results, conclusions and suggestions for production, list of references. The reliability of the obtained results is confirmed by the received patents for the invention of the Republic of Kazakhstan (4 patents) and 1 patent for a utility model of the Republic of Kazakhstan, the main results of the study were published in the International Journal of Veterinary Science, which has a percentile of 58. The work is illustrated with photographic materials, sonograms, electropherograms, where the results of experimental work are reflected.

Personal contribution of a doctoral student:

Ultrasound scanning of the ovaries during the estrous cycle was carried out by a doctoral student with the participation of veterinary specialists from the Baiserke-Agro LLP dairy farm; collection of biological material, DNA extraction from blood samples, sonogram analysis, genotyping of DNA samples and analysis of the results obtained were carried out personally by doctoral student A.A. Turgumbekov. In the dissertation work, 120 DNA samples were genotyped at two gene loci, the estrous cycle of cows was synchronized in the amount of 58 heads using the OvSynch method, 87 heads using the PreSynch-OvSynch method. During the dissertation work, the doctoral student mastered diagnostic techniques necessary for a veterinarian, such as ultrasound scanning of the ovaries, identification of follicles, identification of the dominant follicle, assessment of the physiological activity of the corpus luteum based on the results of ultrasound scanning of blood vessels, determination of the degree of vascularization of the corpus luteum on days 7-10 of the estrous cycle. The doctoral student knows the technique of horizontal electrophoresis, preparation of the reaction mixture, design of primers using the Primer 3 program, independently carried out amplification of a fragment

of the ER α , GDF9 genes or visualization of electrophoresis results using a gel documentation system.

The results of the study were repeatedly tested at international scientific conferences: Russia, St. Petersburg, 2018 and Altai State Agrarian University, Barnaul, 2020. Thus, the dissertation work of Aset Abdymaratovich Turgumbekov meets the requirements for doctoral dissertations in the specialty 6D120100 - "Veterinary Medicine", and the doctoral student deserves to be awarded the degree of Doctor of Science.

Scientific consultant,

Professor Przemyslaw Sobiech

ВАРМИН-МАЗУР УНИВЕРСИТЕТИ
қ ОЛШТИН
ВЕТЕРИНАРЛЫҚ МЕДИЦИНА ФАКУЛТЕТИ
10-719 Олштин, көш. Очаповского, 14
Тел. (089) 523 34 40 , 523 39 39 , факс 523 34 40
ИНН 739-30-33-097

Olsztyn 11.03.2024

Тургумбеков Асет Абдымәратовичтің
6D120100 «Ветеринариялық медицина» мамандығы бойынша философия
докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынған «Доминантты фолликулдың өсу
динамикасын зерттеу және ERα генінің локусы бойынша генотиптеу
негізінде сиырлардың репродуктивтік қызметін арттыру» тақырыбында
орындалған диссертациялық жұмысына
ҒЫЛЫМИ КЕҢЕСШІНІҢ ШҚІРІ

Әлемде соңғы 15-20 жылда сүт өнімділігінің өсу тенденциясы байқалуда, бірақ тағы бір маңызды көрсеткіш сиырлардың ұрықтану көрсеткіші төмендеуде, 100 бас сиырдан алынатын бұзау саны аз. Сиырлардың репродуктивтік қызметін арттыруда овоогенез, фолликулогенез үрдістерін, ірі қара малдағы доминантты және субдоминантты фолликулалардың өсу динамикасын, эстралдық циклдің эндокриндік механизмін және овуляция процесін зерттеу өзекті болып табылады. Қазіргі уақытта ғалымдардың зерттеулері сиырларда екі овуляция арасындағы кезеңде доминантты фолликулдардың өсуінің екі немесе үш толқыны болатынын анықтаған, аналық бездерді ультрадыбыстық сканерлеу арқылы фолликулдың өсу динамикасы және олардың өсу жылдамдығы анықталған. Бір доминантты фолликулдың өсуі субдоминантты фолликулдардың популяциясының қолдау нәтижесінде өсетіні туралы деректер бар. Доминантты және субдоминантты фолликулалардың өсу сипаттамаларын білу, ооциттердің апоптозының және жеке фолликулалардың атрезиясының себептерін анықтау, эстралдық циклді синхрондау үшін оңтайлы нұсқаларды жасауға мүмкіндік береді. Сонымен қатар эстралдық циклді ынталандыру немесе синхрондау, эстралдық циклді индукциялау және овуляцияны индукциялау терминдерінне дәлірек анықтамалар беру керек. Алынған теориялық білім осы физиологиялық процестердің механизмін ашуға мүмкіндік береді. Көбінесе ветеринариялық гинекологияда эстралдық циклді синхрондау сиыр ағзасындағы физиологиялық процестерді есепке алмастан жалпы, кездейсоқ жүзеге асырылады. Ескерілетін жалғыз нәрсе, жақсы қалыптасқан сары дененің болуы. Теориялық және қолданбалы тұрғыда да репродуктивтік функцияның ДНҚ маркерлерін зерттеу, сиырлардың репродуктивтік қызметіне ген аллельдерінің ассоциативті әсерін зерттеу маңызды.

Диссертациялық жұмыс жоғары әдістемелік деңгейде жүргізілді, аналық бездерді УДЗ сканерлеу, доплерография УДЗ көмегімен сары дененің функционалдық белсенділігін анықтау, эстралды цикл кезінде сары дененің васкуляризация жағдайын бағалау сияқты зерттеу әдістері қолданылды, қан сарысуындағы эстрадиол гормонының концентрациясын ИФА әдісімен анықтау,

молекулалық-генетикалық диагностикалық әдістер, ПТР, ПТР-РФҰП талдау, генотиптеу нәтижелерін биоақпараттық өңдеу. Доминантты және субдоминантты фолликулалардың өсу динамикасын зерттеу нәтижелері диссертациялық жұмыста сонограмма түрінде берілген және фолликулалардың диаметрлерін өлшеу нәтижелері анық көрсетілген. Электроферограммаларда эстрогенді рецепторлар ER α және GDF9 гендерінің локустарында генетикалық нұсқалары таралуы анықталған. Нақты генотиптеу нәтижелерін алу үшін компьютерлік калькулятор бағдарламалары, Hardy-Weinberg Equilibrium (<https://gene-calc.pl/hardy-weinberg-page>) пайдаланылды және χ^2 сандық мәндері анықталды.

Айта кету керек, фолликулалардың өсу сипаттамаларын зерттеу күрделі процесс, өйткені оң және сол аналық бездердің ультрадыбыстық сканерлеуі PU2200 Vet және Mindray Z5 Vet ультрадыбыстық құрылғыларын қолдану арқылы жүзеге асырылды, бұл сапалы ультрадыбыстық зерттеуге мүмкіндік береді. Дегенмен, процестің күрделілігі мынада, дамып келе жатқан фолликулалардың популяциясын анықтау қиын, қай жерде доминантты фолликул, қай жерде субдоминантты фолликул. Диссертация авторы мұндай зерттеулерді 48 сағаттық аралықпен эстралдық цикл ішінде жүргізген, сканерлеу нәтижелері сонограмма түрінде сақталған. Сонымен, зерттелген сиырларда доминантты фолликулалардың өсу толқынының екі-үш толқыны анықталды, доминантты және субдоминантты фолликулалардың өсу жылдамдығы тәулігіне 0,9 мм – 4,43 мм, 0,26 мм – 1,40 мм тәулігіне, сәйкесінше болған. Овуляцияға дейінгі кезеңде эстрадиол концентрациясының өзгеруі анықталды, барлық зерттелген жануарларда овуляция алдындағы кезеңнің соңында эстрадиол концентрациясының шамалы жоғарылауы байқалды. Эстралдық циклі белгісіз кезеңімен кездейсоқ таңдалған сиырларда қан сарысуындағы эстрадиол гормонының концентрациясының айтарлықтай жоғарылауы байқалады, бұл субдоминантты фолликулалардың популяциясы доминантты фолликулдың өсуін қамтамасыз етеді, эстрадиол концентрациясының жоғарылауы, бірнеше субдоминантты фолликулдарда секрециясына байланысты деген гипотезаға сәйкес келеді. Докторант, Тургумбеков А.А. эстралды цикліді синхронизациясының жақсы нәтижелерін алу үшін аналық бездердің алдын ала ультрадыбыстық сканерлеу арқылы алуға болатыны анықтаған, фолликулдары (диаметрі 5-8 мм) жануарлар гормоналды емдеуге оң жауап берген.

Диссертациялық жұмыста Алматы облысы Талғар ауданындағы «Байсерке-Агро» ЖШС асыл тұқымды шаруашылығынан 120 бас голштин тұқымды сиырдың ДНҚ үлгілері генотиптеу жүргізілді. Жануарлар алдын ала 4 топқа бөлінді: 45-тен 60 күнге дейін, 61-ден 90-ға дейін, 91-120 күндік және төлдегеннен кейінгі 120 күннен аса мерзімде нәтижелі ұрықтандырылған сиырлар. Зерттелетін жануарлар тобында ER α локусы бойынша GG генотипі гомозиготалы сиырлардың басқа генотиптері бар жануарлармен салыстырғанда өсіп-өну көрсеткіштері жоғары екені байқалады. GDF9 генінің локусына сәйкес TT генотипті гомозиготалы жануарлардың ұрықтану көрсетіші жоғары екендігі анықталды. Диссертациялық жұмыста тақырып бойынша дүниежүзілік әдебиеттерді талдау жұмыстары жүргізілді, диссертация авторы доминантты және субдоминантты фолликулалардың өсуі, эстрадиол гормонының

концентрациясының өзгеруі бойынша әдебиеттердерде берілген нәтижелерге сәйкес нәтижелер алды.

Тургумбеков Асет Абдымаратовичтің диссертациялық жұмысы кіріспе, әдебиеттерге шолу, материалдар мен зерттеу әдістері, зерттеу нәтижелері, алынған нәтижелерді талдау, қорытындылар мен өндіріске ұсыныстар, пайдаланылған әдебиеттер тізімі бөлімдерін қамтиды. Алынған зерттеу нәтижелерін Қазақстан Республикасының өнертабысқа алынған патенттерімен (4 патент) және Қазақстан Республикасының пайдалы моделіне 1 патентпен расталады, зерттеудің негізгі нәтижелері 58 пайыздық көрсеткіші бар Ветеринария ғылымы International Journal журналында жарияланды. Жұмыс фотоматериалдармен, сонограммалармен, электрофореграммалармен рәсімделген және эксперименттік жұмыстардың нәтижелері көрсетілген.

Докторанттың жеке үлесі. Эстралдық цикл кезінде аналық бездерді ультрадыбыстық сканерлеуді докторант «Байсерке-Агро» ЖШС сүт-тауарлы фермасының ветеринария мамандарының қатысуымен жүргізді, биологиялық материалды жинау, қан үлгілерінен ДНҚ бөліп алу, сонограммалық талдау, ДНҚ үлгілерін генотиптеу және алынған нәтижелерді талдауды докторант А.А.Тұрғымбеков жеке өзі жүргізді. Диссертациялық жұмыста екі ген локустары бойынша 120 ДНҚ үлгісі генотиптелді, сиырлардың эстралдық циклі OvSynch әдісімен 58 бас, PreSynch-OvSynch әдісімен 87 бас көлемінде синхрондалды. Диссертациялық жұмыс барысында докторант мал дәрігеріне қажетті балау әдістемелерді меңгерді, мысалы, аналық бездерді ультрадыбыстық сканерлеу, фолликулдарды анықтау, доминантты фолликулды анықтау, ультрадыбыстық сканерлеу нәтижелері бойынша сары дененің физиологиялық белсенділігін бағалау, қан тамырларын, эстралдық циклдің 7-10 күндері сары дененің васкуляризация дәрежесін анықтау. Докторант горизонталды электрофорез техникасын, реакциялық қоспаны дайындауды, Primer 3 бағдарламасы арқылы праймерлерді жобалауды, ER α , GDF9 гендерінің фрагментін амплификация жасауды өз бетінше орындады, гелдік құжаттама жүйесі арқылы электрофорез нәтижелерін визуализациялауды біледі.

Зерттеу нәтижелері халықаралық ғылыми конференцияларда бірнеше рет сынақтан өтті, Ресейде, Санкт-Петербург қаласында, 2018 ж., Алтай мемлекеттік аграрлық университеті, Барнаул қаласында, 2020 ж. Сонымен, Тургумбеков Асет Абдымаратовичтің диссертациялық жұмысы 6D120100 – «Ветеринариялық медицина» мамандығы бойынша докторлық диссертацияларға қойылатын талаптарға сай келеді, ал докторант ғылым докторы PhD ғылыми дәрежесін алуға толық лайық.

Ғылыми кеңесші,
профессор

Przemyslaw Sobiech
ҚОЛЫ ЖӘНЕ МӨРТАҢБА