

Prof. dr hab. inż. Marek Kmieć  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

### RECENZJA

pracy doktorskiej mgr inż. Pauliny Danuty Puckowskiej, pt. „POLIMORFIZM GENÓW *IGFL1*, *PGLYRP1* i *SIGLEC5* A WARTOŚĆ WYBANYCH CECH UŻYTKOWYCH BYDŁA RASY POLSKIEJ HOLSZTYŃSKO-FRYZYJSKIEJ” wykonanej pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Stanisława Kamińskiego oraz dr Pawła Bryma w Katedrze Genetyki Zwierząt Wydziału Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

We współczesnej hodowli bydła mlecznego zwiększa się systematycznie pula markerów genetycznych m.in. dzięki pojawianiu się nowych coraz bardziej wyrafinowanych metod ich identyfikacji, które stanowią niezwykle istotne źródło informacji, które może być wykorzystane w praktycznej hodowli. Dysponowanie efektywnymi markerami cech decydujących o produktywności bydła mlecznego stwarza możliwości wykorzystania ich w pracach selekcyjno-hodowlanych.

Przedstawiona mi do oceny praca ma charakter oryginalnej rozprawy naukowej i dotyczy ona oceny występowania polimorfizmu genów *IGFL1*, *PGLYRP1* i *SIGLEC5* w badanych stadach bydła rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej oraz określenia asocjacji między polimorfizmem badanych genów a cechami użytkowymi stada krów mlecznych i wartością hodowlaną buhajów w zakresie cech użytkowości mlecznej i cech charakteryzujących rozród. Praca obejmuje 72 strony tekstu wraz ze spisem literatury. W pracy zawartych jest 11 tabel i 15 rycin obrazujących elektroforegramy i chromatogramy prezentujące badane miejsca polimorficzne w obrębie badanych genów. Praca została podzielona na następujące rozdziały: Wstęp i przegląd piśmiennictwa – 14 stron, Materiał i metody – 14 stron, Wyniki – 21 stron, Dyskusja – 6 stron, Wnioski - 1 strona, Literatura – 9 stron, Streszczenie – 2 strony i Summary

– 2 strony. W pracy zaraz po spisie treści znajduje się również rozdział - Wykaz stosowanych skrótów – 2 strony.

Treść pracy została podzielona na rozdziały i podrozdziały w sposób uzasadniony i poprawny, powszechnie przyjmowany w tego typu opracowaniach naukowych.

Przedstawiony spis literatury, na który składa się 89 pozycji opublikowanych w latach 1977 – 2016 w jasny i jednoznaczny sposób dokumentuje ważność podejmowanego problemu oraz uzasadnia podejmowanie tego typu badań.

W ocenianej rozprawie Autorka podjęła się określenia występowania polimorfizmu genów uznanych za markery wywierające wpływ na istotnie ważne cechy charakteryzujące i determinujące użytkowość mleczną bydła polskiego holsztyńsko-fryzyjskiego. Podjęła się określenia asocjacji między polimorfizmem genu *IGFL1*, *PGLYRP1* i *SIGLEC5*, a cechami użytkowymi badanego stada krów i wartością hodowlaną buhajów polskiego bydła holsztyńsko-fryzyjskiego dla wybranych cech użytkowych.

Materiał badawczy stanowiło stado krów-pierwiastek w liczbie 272 osobników utrzymywanych w jednym stadzie oraz 574 buhajów użytkowanych w stacjach hodowli i unasienniania zwierząt Sp. z o.o. w Bydgoszczy.

Oznaczenia polimorfizmu wybranych genów (*IGFL1*, *PGLYRP1* i *SIGLEC5*), których produkty białkowe w różny sposób i na różnych poziomach uczestniczą w kształtowaniu się cech organizmów przeprowadzono standardową metodą PCR-RFLP wykorzystując DNA genomowe pozyskiwane z krwi obwodowej krów oraz DNA genomowe pozyskiwane z nasienia badanych buhajów.

W analizowanych fragmentach sekwencji nukleotydowych wszystkich trzech badanych genów występował jeden polimorfizm, który występował z różną częstością w badanych grupach zwierząt i warunkował ujawnienie się wszystkich trzech genotypów. Na podkreślenie zasługuje fakt, że wszystkie trzy analizowane polimorfizmy dotyczyły tzw. zmian funkcjonalnych bowiem w genie *IGFL1* badana mutacja SNP zlokalizowana w 2 eksonie tego genu skutkuje zamianą kodonu dla waliny na kodon dla metioniny. Mutacja w 1 eksonie genu *PGLYRP1* to tranzycja T do C, która skutkuje zamianą kodonu dla tyrozyny na kodon dla histydyny i mutacja w genie *SIGLEC5* jest również mutacją funkcjonalną zlokalizowaną w trzecim eksonie tego genu, bowiem jest to substytucja adeniny na guaninę, która skutkuje zamianą kodonu dla glutaminy na kodon dla argininy.

Takie mutacje punktowe, które prowadzą do zmiany aminokwasu w powstającym białku mogą skutkować dużymi zmianami w fenotypie organizmu lub mogą nie powodować żadnej dostrzegalnej w fenotypie zmiany funkcji tych białek w zależności od tego czy zmiana dotyczy aminokwasu umieszczonego na powierzchni struktury powstającego białka czy też jego wewnętrznej części.

Przeprowadzona detekcja mutacji w wybranych sekwencjach nukleotydowych genu *IGFL1*, *PGLYRP1* i *SIGLEC5* w stadzie krów mlecznych i stadzie buhajów inseminacyjnych oraz analiza wpływu badanych polimorfizmów na zmienność wybranych cech charakteryzujących użytkowość mleczną i rozplodową stada krów oraz wartość hodowlaną buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej po zastosowaniu właściwych metod opracowania statystycznego pozwoliły w zakończeniu pracy na przedstawienie w punktach podsumowania uzyskanych rezultatów, które jednoznacznie wynikają z przeprowadzonych badań.

W podsumowaniu należy jednoznacznie stwierdzić, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska stanowi oryginalne dzieło i omawia ona istotne zagadnienia z punktu widzenia hodowlanego, ponieważ wpisuje się w nurt poszukiwania uwarunkowań genetycznych zmienności fenotypowej cech, które w znaczącym stopniu decydują o efektywności ekonomicznej prowadzonej produkcji żywności.

Jako oceniający zobowiązany jestem również do przedstawienia swoich uwag i zapytań, które dotyczą treści ocenianej pracy:

- 1/ W tabeli 6 na stronie 43 podano charakterystykę zmienności badanych cech użytkowych analizowanego stada (chyba nie populacji) krów, natomiast brak takiej charakterystyki dotyczy badanych buhajów, co uważam za poważne niedopatrzenie, bowiem są to bardzo ważne informacje dla analizującego uzyskane wyniki z przeprowadzonych badań. Z przedstawionych danych w tabeli 6 wynika, że występowały ogromne różnice w wartościach minimalnych i maksymalnych badanych cech stada krów, natomiast w treści pracy nie znajduję ustosunkowania się do tej sytuacji ani też nie znajduję próby jej wyjaśnienia.
- 2/ W pracy nie znaleziono również choćby ogólnej charakterystyki systemu utrzymania, żywienia, udoju, warunków zoohigienicznych, które w istotny sposób wpływają na poziom cech użytkowości mlecznej oraz nie podano czy w okresie użytkowania kolejnych roczników pierwiastek warunki te w jakiś zasadniczy sposób nie ulegały zmianom.
- 3/ W zastosowanym modelu liniowym użytym do oceny asocjacji między badanymi polimorfizmami a cechami użytkowymi uwzględniono wszystkie istotne efekty wpływające na

zmienność badanych cech, jednak nie podano poziomu efektów, tzn. np. efekt roku ilu lat dotyczył. Proszę o wyjaśnienie co to znaczy efekt udziału genów matki i efekt udziału genów ojca.

4/ Na stronie 57 pracy w rozdziale zatytułowanym „Dyskusja” napisano, że cyt. „Wyniki te w pewien sposób ujawniają molekularne podłoże powszechnie znanych w genetyce cech ilościowych negatywnych korelacji między cechami produkcyjnymi a cechami płodności ...”, czy na stronie 70 w rozdziale zatytułowanym „Streszczenie” cyt. „Zaobserwowane efekty alleli genów ..... ukazują molekularne podłoże negatywnej korelacji między tymi cechami.” Zdaniem oceniającego nie można mówić w genetyce cech ilościowych o negatywnych czy pozytywnych korelacjach między cechami. Natomiast korelacje mogą być dodatnie bądź ujemne między cechami oraz mogą one być statystycznie potwierdzone lub nie ale zawsze na określonym/wskazywanym poziomie istotności.

5/ Osobiście jestem zwolennikiem prawidłowego i szczegółowego opracowania statystycznego, które tutaj moim zdaniem w dużej części się znajduje. Nie mniej jednak moim zdaniem należałoby jeszcze zastanowić się czy istnieje możliwość stworzenia, ze statystycznego punktu widzenia, grup skrajnych i oszacowania różnic w częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli badanych form polimorficznych genów *IGFL1*, *PGLYRP1* i *SIGLEC5*, bowiem z analizy charakterystyki zmienności cech użytkowych badanego stada krów wynikają ogromne różnice między wartościami skrajnymi dla poszczególnych cech. Tzn. stworzyć grupę osobników o poziomie cechy minimalnej plus wartość 1 lub 2 odchylenia standardowego i drugą grupę o wartościach maksymalnych minus wielkość 1 – 2 wartości odchylenia standardowego i ocenić różnice w częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli między tymi grupami.

Oceniając całość rozprawy doktorskiej pomimo kilku wniesionych uwag, nie umniejszających wartości merytorycznej pracy, a wskazujących na możliwości pełniejszego wykorzystania otrzymanych wyników uważam, że przedłożona mi do recenzji dysertacja reprezentuje wysoki poziom naukowy, przedstawia jasno i rzetelnie materiał dowodowy i niewątpliwie wnosi do nauki nowe elementy poznawcze.

Biorąc pod uwagę celowość i aktualność prezentowanej tematyki badań, zastosowane techniki badawcze i po rozważeniu błędów i zalet przeprowadzonych badań uważam, że praca spełnia wymogi określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach nauko-

wych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2016 r. poz. 882, z późn. zm.), dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pani mgr inż. Pauliny Danuty Puckowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. inż. Marek Kmiec, prof. zw.

Szczecin, dnia 29 kwietnia 2017 roku