



prof. dr hab. Andrzej Zachwieja
Zakład Hodowli Bydła i Produkcji Mleka
Instytut Hodowli Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław 11.09.2023r.

Ocena
rozprawy doktorskiej mgr inż. Sonii Hiller
nt.: „Analiza polimorfizmu genów kodujących białka z rodziny katelicydyn w
odniesieniu do cech użytkowości bydła”, wykonanej pod kierunkiem
dr hab. inż. Ingi Kowalewskiej, prof. ZUT

Systematyczny rozwój metod biologii molekularnej, datowany od lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku, umożliwiający pełniejszą analizę genomu i poszukiwanie zależności między polimorfizmem genów i cechami użytkowości bydła, wpłynął na znaczący postęp i efektywność prowadzonej pracy hodowlanej. Badania prowadzone w okresie ostatnich trzech dekad pozwoliły na ustalenie markerów genetycznych, coraz powszechniej wykorzystywanych w programach hodowlanych. Ich klasyfikacja oparta jest na podstawie cech morfologicznych i produkcyjnych lub na podstawie produktów poszczególnych genów, czy w końcu analizy DNA – markery molekularne. Analiza polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) w zakresie ich związku z cechami użytkowymi bydła, prowadzona jest na szeroką skalę od wielu lat. Selekcja wspomagana markerami w istotny sposób wpływa na zwiększenie postępu hodowlanego i w konsekwencji wartość cech użytkowych zwierząt. Wykorzystanie markerów mikrosatelitarnych i identyfikacja poszczególnych biomarkerów związanych z różnymi schorzeniami, zwłaszcza z istotnymi ekonomicznie ich stanami klinicznymi, pozwala na poprawę odporności na choroby i oporności na negatywne wpływy środowiskowe.

Katelicydyny są peptydami o szerokim działaniu przeciwdrobnoustrojowym, pełniąc ważną funkcję wspomagającą odpowiedź immunologiczną organizmu zwierząt.



Wydzielane są w wielu gruczołach i komórkach gruczołowych organizmu. Białka te kodowane są przez geny, których pojedyncze polimorfizmy mogą determinować zróżnicowanie ich przeciwdrobnoustrojowej aktywności, zarówno o bezpośrednim, jak i pośrednim charakterze.

Podjęcie przez Panią mgr inż. Sonię Hiller badań nad polimorfizmem genów kodujących białka z grupy katelicydyn u krów mlecznych, należy więc uznać za zasadne i aktualne oraz istotne z naukowego punktu widzenia.

Podstawę przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej stanowi monotematyczny cykl publikacji, składający się z pięciu prac, opublikowanych w okresie czterech ostatnich lat:

1. Hiller S., Kowalewska-Łuczak I., Czerniawska-Piątkowska E.: Associations between CATHL2 Gene Polymorphism and Milk Production Traits and Somatic Cells Count in Dairy Cattle. *Russian Journal of Genetics*, 2020, 56 (3), 383–386. DOI: 10.1134/S1022795420030072, 20 pkt. MEiN, IF=0,691;
2. Hiller S., Kowalewska-Łuczak I.: identification of single nucleotide polymorphism within Bactencin-5 and bactencin-7 coding genes in association with milk production traits. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 2022, 21(4), 17–22. DOI: 10.21005/asp.2022.21.4.02, 40 pkt. MEiN;
3. Hiller S., Kowalewska-Łuczak I.: Polymorphism in bmap-27 and bmap-28 genes and their relationship with milk production traits in cattle. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis*, 2023, 366 (65), 29–35. DOI: 10.21005/AAPZ2023.65.1.3, 40 pkt MEiN;
4. Hiller S., Kowalewska-Łuczak I., Czerniawska-Piątkowska E., Banaszewska D.: Analysis of the effect of polymorphisms within the CATHL7 gene on dairy performance parameters. *Journal of Veterinary Research*, 2023, 67(1), 123-129. DOI: 10.2478/jvetres-2023-0018, 140 pkt. MEiN, IF=2,058;
5. Hiller S., Kowalewska-Łuczak I., Czerniawska-Piątkowska E., Wrzecińska M., Banaszewska D.: CATHL2 polymorphism and milk production and



reproductive traits in dairy cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 2023, 41(1), 27-38. 100 pkt. MEiN, IF=1,078.

Sumaryczny Impact Factor cyklu wynosi 3,827, zaś liczba punktów MEiN 340.

We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, w czterech z nich autorem korespondencyjnym, a wkład pracy wynikający z załączonych oświadczeń zespołu autorów, wynosi 61% (od 50 do 70%), jest więc istotny i wiodący. Obejmuje bowiem koncepcję i metodyczną stronę podjętych badań, realizację doświadczenia, wykonanie analiz genetycznych, opracowanie uzyskanych wyników. Nadzór merytoryczny nad całością badań prowadziła Pani prof. Inga Kowalewska, pod której kierunkiem praca doktorska była realizowana.

Sama rozprawa, licząca 29 stron, została przygotowana w klasyczny sposób i spełnia wymagania formalne stawiane tego rodzaju opracowaniom. Po zamieszczonym spisie publikacji, zawarty został wykaz użytych skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, hipoteza badawcza i cel pracy, materiał i metody, omówienie uzyskanych w cyklu prac wyników badań, podsumowanie i wnioski, spis literatury.

Jak w każdym opracowaniu naukowym zamieszczony wykaz skrótów usprawnia z jednej strony pisanie rozprawy, z drugiej zaś jest ułatwieniem dla czytającego. We wstępie przedstawiona została krótko charakterystyka katelicydyn oraz zidentyfikowanych genów kodujących białka tej rodziny. Zwrócono uwagę na pojawiające się we wczesnej fazie laktacji zaburzenia oporności i odporności krów o wysokiej wydajności, z uwagi na występowanie ujemnego bilansu energetycznego. Wskazano na kwestie dotyczące stanów zapalnych gruczołu mlekowego, które ograniczają poziom cech użytkowych oraz jakość surowca mlekowego, a w konsekwencji jego przydatność technologiczną. Rezultaty prowadzonych badań wskazują, że obecność katelicydyn w mleku, może stanowić wskaźnik stanu zdrowotnego gruczołu mlekowego krów, a wykorzystanie metod biologii molekularnej umożliwi identyfikację występującego zróżnicowania w obrębie genów je kodujących. Kwestią do dyskusji pozostaje ich liczba, ponieważ w literaturze źródłowej podaje się od 7. do 11. Postawiona



hipoteza badawcza została poprawnie sformułowana, jednak jej brzmienie powinno mieć raczej charakter stwierdzenia, a nie przypuszczenia. Zawarta w celu badań informacja „...u bydła mlecznego rasy polskiej holsztyńsko fryzyjskiej odmiany czarno-białej oraz ustalenie potencjalnych zależności pomiędzy genotypami analizowanych fragmentów genów a cechami użytkowości bydła mlecznego”, wydaje się nie do końca właściwa i potrzebna, bowiem po pierwsze badania dotyczą krów, po drugie rasa holsztyńsko-fryzyjska jest wybitną w zakresie cech użytkowych rasą mleczną, a więc niepotrzebne jest dopowiedzenie „bydła mlecznego” czy „cechami użytkowości bydła mlecznego”.

Rozdział metodyczny został poprawnie opracowany i przedstawiony, w zakresie projektowania starterów, reakcji PCR i analizy statystycznej, chociaż zdarzają się w tej części drobne błędy, podobne do wskazanych wyżej.

W kolejnej części rozprawy omówiono wyniki prezentowane w kolejnych pracach cyklu monotematycznego. Jako istotne w zakresie znaczenia naukowego, ale także możliwości ich praktycznego wykorzystania, należy wskazać:

- najwyższą frekwencję wykazano dla genotypu GG (0,636) genu *CATHL2* (ekson 1, pozycja 807), a zwierzęta o genotypie AA charakteryzowały się najniższym poziomem dobowej wydajności, przy jednocześnie istotnie najwyższej zawartości białka i LKT, zaś najwyższą wydajność i najniższą LKS obserwowano dla genotypów heterozygotycznych GA;
- dla genów kodujących baktencyny 5 i 7 najwyższą wydajność mleka wykazano dla krów o genotypie TT *CATHL2/HhaI*;
- dla polimorfizmów heterozygotycznych *CATHL2/MseI*, *CATHL2/HhaI*, *CATHL2/RsaI*, *CATHL6/TspRI* wykazano najniższą LKS w mleku krów;
- stwierdzono tendencję do niższej LKS w mleku, przy wyższej istotnie zawartości białka dla genotypu CC *CATHL7/HinfI* oraz istotnie niższą LKS ($p \leq 0,01$) dla



**Instytut Hodowli Zwierząt
Zakład Hodowli Bydła i Produkcji Mleka**

genotypu CC *CATHL7/HhaI*; w obrębie stada obserwowano najwyższe ich frekwencję (odpowiednio: 0,606 i 0,516);

- wykazano tendencję dla wyższej zawartości tłuszczu, białka i laktozy w mleku krów o heterozygotycznych genotypach *CATHL2/HhaI*, *CATHL2/DdeI*, *CATHL2/NlaIII*;
- dla polimorfizmu genu *CATHL2/MseI* najwyższą frekwencję stwierdzono dla genotypu GG – 0.644, zwierzęta tej grupy charakteryzowały się najwyższym poziomem wydajności w czterech pierwszych laktacjach, jednak różnice między genotypami w zakresie cech użytkowości mlecznej w stadzie, nie zostały statystycznie potwierdzone; nie wykazano także różnic istotnych między genotypami w zakresie analizowanych cech reprodukcyjnych.

Wszystkie zawarte w cyklu publikacje, stanowiące podstawę ocenianej rozprawy doktorskiej, pozytywnie ocenione przez kompetentne grono, zapewne nie tylko krajowych recenzentów, opublikowane zostały w uznanych czasopismach, jak *Journal of Veterinary Research* czy *Animal Science Papers and Reports*, a więc z pewnością ich wartość naukowa została już potwierdzona, i nie może być podważana.

Mimo wskazanych drobnych błędów, o raczej redakcyjnym charakterze, dotyczącym pewnych określeń czy sformułowań, wysoko i pozytywnie należy ocenić całość przedstawionej do oceny rozprawy: jej założenia i zakres podjętych badań, sposób ich realizacji, prezentację uzyskanych wyników, dyskusję oraz sformułowane wnioski. Całość opracowania ma bardzo spójny charakter, Doktorantka konsekwentnie prowadziła badania pozwalające na realizację postawionego i w efekcie osiągniętego celu. Uzyskane rezultaty przesądzają o wartości merytorycznej pracy, stwarzają możliwość ich wykorzystania w praktyce, co stanowi także o ich aplikacyjnym charakterze. Na podkreślenie zasługuje także zaangażowanie Pani mgr Sonii Hiller na każdym etapie prowadzonych badań, co wynika z zakresu i nakładu wykonanej pracy, której rezultatem jest przedstawiona do oceny rozprawa.



Podsumowanie

W oparciu o powyższą opinię należy uznać, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Sonii Hiller, z uwagi na jej wartość naukową i poznawczą, spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim zawarte w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki z dnia 14 marca 2003 roku. Tematyka tej pracy wpisuje się w dyscyplinę naukową zootechnika i rybactwo. W związku z tym przedkładam Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Sonii Hiller i dopuszczenie jej do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Jednocześnie biorąc pod uwagę założenia metodyczne oraz realizację przeprowadzonych badań i analiz, poziom naukowy pracy i wartość uzyskanych wyników, a także możliwość ich wykorzystania w praktyce hodowlanej, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Sonii Hiller.