

Olsztyn, 31.05.2024 r.

Prof. dr hab. Urszula Czarnik
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
UWM w Olsztynie

Recenzja pracy doktorskiej mgr Melanii Kunickiej
**pt. ANALIZA POLIMORFIZMU W GENACH ZWIĄZANYCH Z METABOLIZMEM
LIPIDÓW W KONTEKŚCIE DOSKONALENIA CECH UŻYTKOWOŚCI MLECZNEJ KRÓW
RASY HOLSZTYŃSKO-FRYZYJSKIEJ ODMIANY CZARNO-BIAŁEJ**
wykonanej pod kierunkiem dr hab. Hanny Kulig, prof. ZUT

Podstawa oceny: Recenzja wykonana na zlecenie Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie nr: L.dz: WBiHZ/RDZiR/52/2024 z dnia 02 kwietnia 2024 roku, podpisanego przez Przewodniczącą prof. dr hab. Małgorzatę Ożgo.

Ocena wyboru i znaczenia podjętej tematyki badawczej

Rozwój genetyki molekularnej umożliwia obecnie identyfikację pojedynczych genów warunkujących syntezę produktów o istotnym znaczeniu biologicznym. W naukach zootechnicznych badania podstawowe z tego zakresu od początku w sposób naturalny zmierzają do wskazania markerów genetycznych przydatnych w doskonaleniu cech użytkowości mlecznej krów. Badania te stymulowane są względami ekonomicznymi, gdyż zwiększenie wydajności mleka i jego składników a także poprawa cech funkcjonalnych jest jednym z najważniejszych celów hodowlanych, bezpośrednio wpływających na opłacalność hodowli bydła. Niska odziedziczalność cech użytkowości mlecznej oraz cech reprodukcyjnych, wynikająca m.in. z poligenicznego charakteru ich uwarunkowania a w konsekwencji długotrwała selekcja, skłaniają do podjęcia badań nad poznaniem molekularnych podstaw zmienności osobniczej. Zaangażowanie licznych ośrodków naukowych zaowocowało wskazaniem wielu QTL (ang.-*quantitative trait loci*), w obrębie których występują geny związane z syntezą mleka i jego składników. Tak więc podjęty przez Doktorantkę kierunek badawczy zmierzający do analizy polimorfizmu genów potencjalnie związanych z użytkowością mleczną, w tym z syntezą tłuszczu



mlecznego, może mieć znaczenie dla praktyki w doskonaleniu programów hodowlanych bydła rasy holsztyńsko- fryzyjskiej odmiany czarno-białej.

Charakterystyka pracy

Praca doktorska mgr Melanii Kunickiej ma charakter poznawczy i stanowi syntezę wiedzy na temat rozpoznania ewentualnych związków między polimorfizmem pojedynczych nukleotydów (SNP) w obrębie trzech genów, tj. *SLC27A1*, *LIPE* i *SCD1*, których produkty białkowe, zgodnie ze wskazaniami literaturowymi mogą być związane z metabolizmem i transportem kwasów tłuszczowych. Ma ona formę klasycznej rozprawy naukowej i obejmuje rozdziały: Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wykaz skrótów, Wstęp, Hipotezę badawczą, Cel pracy, Przegląd piśmiennictwa, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusję, Podsumowanie i wnioski oraz Piśmiennictwo, tworzące łącznie wraz ze spisem treści, spisem tabel i rycin, oraz suplementem zawierającym ryciny i tabele odnoszące się do części wynikowej pracy, przejrzystą strukturę całości opracowania, liczącą 91 stron maszynopisu. Dysertacja została napisana z zachowaniem właściwej sekwencji omawianych zagadnień. Na podkreślenie zasługuje staranność przygotowana strony graficznej a zamieszczone ryciny i tabele umożliwiają śledzenie omawianych zagadnień. Wykaz cytowanej literatury jest obszerny i obejmuje 216 pozycji, w tym zaledwie 2 to opracowania polskojęzyczne. Zdecydowana większość prac została opublikowana w czasopismach o uznanej renomie międzynarodowej a 72 (33%) prace pochodzą z ostatnich 10. lat. Pozycje piśmiennictwa, mimo ich dużej liczby, dobrane zostały w sposób przemyślany i ograniczony głównie do zakresu badań.

Problematykę rozprawy Autorka zasygnalizowała w krótkim jednostronicowym wstępie, w którym skupiła się na uzasadnieniu wyboru do badań 3 genów (*SLC27A1*, *LIPE* i *SCD1*) z opisanym polimorfizmem, podlegających ekspresji w gruczole mlekowym podczas laktacji.

Kolejnymi rozdziałami wyodrębnionymi oddzielnie w dysertacji są **Hipoteza badawcza** i **Cel pracy**. Są one sformułowane poprawnie, jednak w mojej ocenie hipoteza badawcza jest zbyt ogólna. Cel pracy odnosi się do zakresu wykonywanych badań i zawiera trzy zadania składające się na jego realizację. Należałoby rozważyć czy nie byłoby zasadne połączenie w jeden rozdział jako Hipoteza badawcza i cel pracy i zamieszczenie go po rozdziale Przegląd piśmiennictwa.

Wprowadzenie w tematykę badawczą na tle bogatej literatury Autorka przedstawiła w rozdziale **Przegląd piśmiennictwa** liczącym 16 stron maszynopisu. W pierwszej

części tego rozdziału odnosi się do znaczenia indeksu selekcyjnego, skupia się na opisie QTL rozpoznanych dla wydajności mleka i jego składników oraz omawia znaczenie genów głównych. Następnie zamieściła informacje dotyczące syntezy kwasów tłuszczowych oraz enzymów uczestniczących w procesie powstawania tłuszczu mlecznego oraz omówiła zjawisko metabolizmu lipidów. W dalszej części w 3. nieponumerowanych podrozdziałach dokonała charakterystyki badanych genów (*SLC27A1*, *LIPE* i *SCD1*) oraz ich produktów w kolejności jaką przyjęła w poszczególnych etapach realizacji pracy. W pierwszym podrozdziale skupiła się na omówieniu funkcji biologicznej rodziny białek FATP w tym białka FATP1 wykazującego aktywność syntazy acylo-CoA, jako produktu genu *SLC27A1*, regulacji jego aktywności, miejscu ekspresji. Następnie omówiła budowę białka a na końcu budowę i organizację genu *SLC27A1*. Podobną sekwencję przyjęła w dwóch następnych podrozdziałach dotyczących genu *LIPE* i jego produktu białkowego, lipazy wrażliwej na hormony HSL oraz genu *SCD1* kodującego desaturazę steroilowo-CoA. Myślę, że dla przejrzystości opracowania informacje te powinny być zmieszczone w następującej kolejności: budowa i organizacja genu, funkcja biologiczna i budowa białka, miejsce i regulacja ekspresji.

Podsumowując ten rozdział pracy uważam, że został on opracowany poprawnie jednak dla lepszej percepcji omawianych zagadnień, powinien on zostać podzielony na podrozdziały.

W rozdziale **Materiał i metody** zamieszczonym na 8 str. maszynopisu Autorka opisała materiał zwierzęcy, analizowane miejsca polimorficzne, przeprowadzone analizy laboratoryjne i statystyczne zmierzające do osiągnięcia założonego celu pracy. W badaniach uwzględniła 634 krowy rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej w okresie od pierwszej do ósmej laktacji. Należy podkreślić, że były one utrzymywane w tych samych warunkach środowiskowych, co jest niezwykle ważne w badaniach nad wartością użytkową. Szkoda, że nie podała przedziału czasowego, co doprecyzowałoby informację dotyczącą jednolitości warunków. Materiałem do badań polimorfizmu była krew obwodowa, natomiast bazę danych stanowiły wyniki kontroli użytkowości mlecznej w kolejnych ośmiu laktacjach.

W mojej ocenie rozdział ten został opracowany poprawnie a przejrzystość opracowania wynika głównie z zamieszczenia wielu informacji w formie tabel i rysunków. W tym rozdziale na podkreślenie zasługuje informacja przedstawiona w formie graficznej

dotycząca analizowanych miejsc polimorficznych w 3 badanych genach (*SLC27A1*, *LIPE* i *SCD1*).

Rozdział **Wyniki** Autorka zamieściła na 20 stronach i podzieliła na 4 podrozdziały, w których kolejno omawia uzyskane rezultaty zgodnie z zakładanymi celami badań. Obszerne wyniki badań zestawiała w 12. tabelach i 1. rycinie znajdujących się w tekście pracy oraz w 10. tabelach i 1. rycinie stanowiących suplement do części wynikowej pracy. Uzyskane wyniki mają wartość poznawczą. Konstrukcja oraz objaśnienie zestawień tabelarycznych i rysunku są informatywne i nie wymagają korekty redakcyjnej. Mam jednak wątpliwość, którą należy rozważyć przygotowując pracę do druku, czy nie pominąć analizy zależności między badanymi genotypami oraz genotypami kombinowanymi a wartością cech użytkowości i LKS dla wszystkich laktacji łącznie. Są to wyniki zafałszowane ze względu na długi okres czasu między pierwszą i ostatnią czyli ósmą laktacją, poza tym są one niejako częściowym powtórzeniem danych uzyskanych analizując czwartą i kolejne laktacje łącznie.

Kolejnym rozdziałem jest dyskusja zamieszczona na 11. stronach maszynopisu i w 2. tabelach. Nawiązuje ona do sekwencji omawianych zagadnień z części wynikowej pracy. Autorka na tle bogatej literatury światowej uzyskane rezultaty odnosi do wyników badań innych autorów. Najwięcej miejsca poświęciła polimorfizmowi w genie *SLC27A1* i *SCD1*. Informację dotyczącą genu *SLC27A1* wzbogaciła o wiedzę na temat wpływu polimorfizmu na cechy jakości tuszy bydła, natomiast w części poświęconej genowi *SCD1* zamieściła tabelę z opisanymi w literaturze światowej zależnościami między polimorfizmem a zawartością kwasów tłuszczowych u różnych ras bydła, co niewątpliwie podnosi wartość tego rozdziału. Najmniej miejsca zajmuje dyskusja dotycząca genu *LIPE*, co wynika głównie z braku literatury z tego zakresu. W tym podrozdziale Autorka podaje informacje na temat mediatorów reakcji zapalnych gruczołu mlekowego.

W mojej ocenie rozdział ten zawiera wiele informacji podanych jako lity tekst, przez co czyni go mało przejrzystym i przysparza trudność w jego analizie. Pogrupowanie tej wiedzy w formie podrozdziałów znacznie ułatwiłoby jego percepcję. Nie wnoszę zastrzeżeń do wykorzystanej w tej części literatury, jest ona dobrze dobrana, co wskazuje na znajomość przez Autorkę piśmiennictwa światowego z zakresu prowadzonych badań.

Rozprawa zakończona jest rozdziałem **Podsumowanie i wnioski**. Zawarte w czterech punktach uogólnienia i wnioski wynikają z założonego celu i zawartych w nim zadań. W każdym kolejnym punkcie odnosi się do innego analizowanego genu, natomiast

w czwartym punkcie uwzględnia genotypy kombinowane. Uważam, że rozdział ten jest opracowany poprawnie a Autorka zachowała dużą ostrożność formułując ostateczne konkluzje dotyczące praktycznego wykorzystania wyników.

Podsumowanie

Reasumując stwierdzam, że praca doktorska mgr Melanii Kunickiej pt. *Analiza polimorfizmu w genach związanych z metabolizmem lipidów w kontekście doskonalenia cech użytkowości mlecznej krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej* jest cenną, nowatorską i perspektywicznie ważną pozycją piśmiennictwa naukowego. Wnosi oryginalne wyniki, istotnie poszerzające wiedzę z zakresu polimorfizmu genów, których produkty białkowe mogą być związane z użytkowością mleczną krów ze szczególnym uwzględnieniem tłuszczu mlecznego. Wartość rozprawy powiększa fakt, iż uwzględniona grupa krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej utrzymywana była w jednolitych warunkach środowiskowych. Zakres przeprowadzonych analiz świadczy o znajomości problematyki badawczej oraz umiejętności stosowania metod badawczych i analiz statystycznych do opracowania wyników. Zgromadzone informacje z zakresu genetyki molekularnej i statystyki umiejętnie powiązane ze sobą są niewątpliwie walorem rozprawy. Wymienione w recenzji uwagi mają wyłącznie charakter porządkowy i nie obniżają ogólnej, pozytywnej oceny merytorycznej opracowania.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska autorstwa mgr Melanii Kunickiej pt. *Analiza polimorfizmu w genach związanych z metabolizmem lipidów w kontekście doskonalenia cech użytkowości mlecznej krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej* stanowi oryginalne opracowanie problemu naukowego i spełnia wymogi określone w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jedn. Dz.U. z 2017 r., poz. 1789). W związku z tym przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie wniosek o przyjęcie pracy doktorskiej mgr Melanii Kunickiej bez zastrzeżeń i dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Urszula Czarnik

