

Dr hab. inż. Greguła-Kania
Katedra Hodowli Zwierząt
i Doradztwa Rolniczego
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Dagmary Antoń pt. „Analiza polimorfizmu genu *ACTN3* w aspekcie cech użytkowych świń” wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Daniela Polasika, prof. ZUT.

Recenzja niniejsza została wykonana zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Badanie powiązań pomiędzy polimorficznymi formami poszczególnych genów kandydujących i cechami użytkowości mięsnej uważam za w pełni uzasadnione. Praca wnosi nowe dane w odniesieniu do omawianego gatunku i funkcjonowania genów. Uzyskane rezultaty mają znaczenie poznawcze. Wysoko oceniam fakt, że wśród analizowanych cech charakteryzujących użytkowość mięsną znalazły się cechy charakteryzujące jakość mięsa i parametry tekstury. Obecnie konsument zwraca dużą uwagę na jakość żywności, jak również ewentualne pochodzenie żywności od ras lokalnych, a oczekiwania wymuszają coraz wyższy standard jakościowy surowca.

Analizując zasadność podjęcia niniejszych badań należy podkreślić, że badanie powiązań pomiędzy poszczególnymi formami polimorficznymi genów kandydujących a cechami produkcyjnymi, ważnymi ze względów ekonomicznych i zdrowotnych, jest bardzo interesujące ze względów praktycznej hodowli. W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych o szybkich i tanich metodach detekcji polimorfizmów w genie alfa-aktyniny (*ACTN3*) u trzody chlewnej oraz wpływie wariantów tego genu na cechy tuszy i jakość mięsa wieprzowego.

W pełni uzasadnione jest zatem podjęcie badań, których celem była detekcja miejsc polimorficznych we fragmencie genu *ACTN3*, zaprojektowanie testów opartych na metodzie PCR, które umożliwiły analizę miejsc polimorficznych oraz określenie zależności między genotypami alfa-aktyniny a wybranymi cechami tucznymi i rzeźnymi oraz jakością mięsa.

Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska liczy 106 stron tekstu, w tym 39 tabel, 16 rycin oraz dwa streszczenia w języku polskim i angielskim. Na całość opracowania składa się 13 rozdziałów. Praca tworzy logiczną całość a układ pracy został skonstruowany w sposób umożliwiający zapoznanie się ze wszystkimi szczegółami.

Tytuł pracy został sformułowany w sposób jasny i jednoznacznie nawiązuje do treści pracy. Treść rozdziału „Wstęp” wprowadza czytelnika w tematykę pracy. Rozdział „Przegląd piśmiennictwa” składa się z 6 podrozdziałów, w których Autorka przedstawia aktualny stan wiedzy w zakresie jakości mięsa, funkcjonowania oraz struktury genów alfa-aktynin oraz analizę badań genu *ACTN3* u różnych gatunków.

Rozdział „Cel pracy” zawiera precyzyjnie sformułowany zakres badań w postaci 3 tematów badawczych. Zaproponowana tematyka stanowi logiczną realizację tytułu pracy. W trakcie czytania trzeciego celu nasunęła mi się uwaga, o możliwości skrócenia punktu jako „ustalenie potencjalnych zależności pomiędzy genotypami *ACTN3* a wybranymi cechami tucznymi i rzeźnymi oraz jakością mięsa”, gdyż pozostałe parametry tj. parametry tekstury i profil włókien mięśniowych wchodzą w zakres cech charakteryzujących jakość mięsa.

W kolejnym rozdziale „Materiały i metody” przedstawiono szczegóły metodyczne opracowania, pozwalające zapoznać się z detalami realizacji badań. W pierwszej części opisano materiał zwierzęcy objęty badaniami. Objęcie analizami 578 osobników 3. ras, w tym lokalnej rasy zachowawczej, uważam za w pełni uzasadnione. Wybór trzech różnych ras do badań zdecydowanie podnosi aplikacyjną wartość wyników. W rozdziale tym opisano procedury pozwalające określić poziom wartości tucznej i rzeźnej oraz jakość mięsa badanych zwierząt a następnie detekcję i analizę polimorfizmu genu *ACTN3*. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

Uważam, że w rozdziale kilka kwestii wymaga wyjaśnienia:

- w danych dotyczących żywienia zwierząt zabrakło informacji wg jakich norm dawki były normalizowane,
- brak jest informacji o warunkach utrzymania zwierząt oraz niejasne jest czy zwierzęta utrzymywane były w różnych miejscach jak wynika to z analizy statystycznej? Jeśli tak należy to uzupełnić również w tym rozdziale. Sugerowałabym również uzupełnienie informacji jest czy zwierzęta urodzone były w jednym roku,

- należy doprecyzować od jakiego wieku rozpoczęto tucz kontrolny i do jakiej masy ciała był prowadzony,
- sformułowanie „masa mięsa wyrębów podstawowych” proponuję zastąpić sformułowaniem „masa wyrębów podstawowych”,
- należy doprecyzować ilości zwierząt poddanych poszczególnym analizom jakości mięsa gdyż z tabel 28-39 wynika, że wybrane zwierzęta poddano analizom jakości mięsa,
- w tym rozdziale brak jest informacji, że obliczano również frekwencję genotypów genu *ACTN3*.

W rozdziale „Wyniki” szczegółowo opisano dane liczbowe zawarte na rycinach, tabelach. Cały rozdział tworzy logiczną całość gdyż Autorka analizuje kolejno wszystkie badane parametry w odniesieniu do polimorfizmów w genie *ACTN3*. Rozdział jest bardzo obszerny, co wynika z dużej ilości analiz wykonanych przez Doktorantkę. W trakcie czytania tego rozdziału nasunęły mi się następujące uwagi:

- na Rycinie 15 oraz w tabeli 14 i tekście rozdziału 5.2 dla SNP3 wyróżniono genotyp *CA*, który w kolejnych rozdziałach funkcjonuje jako *AC*, co należy ujednoclić w całej pracy,
- W przypadku różnic istotnych statystycznie pomiędzy grupami osobników o poszczególnych genotypach należałoby używać stwierdzenia „istotnie wyższy w porównaniu do...” zamiast „najwyższy”. Np. w rozdziale 5.3.1. Autorka stwierdza, że „najwyższym przyrostem życiowym odznaczały się świnie o genotypie homozygotycznym *TT* a najniższym heterozygoty *CT*” co budzi pewne zastrzeżenia, gdyż osobniki o genotypie *CT* i *CC* nie różnią się istotnie statystycznie między sobą. Dlatego właściwym byłoby stwierdzenie „przyrosty życiowe osobników o genotypie *TT* były istotnie wyższe niż przyrosty życiowe osobników o genotypach *CT* i *CC*”. uwaga ta dotyczy całego rozdziału „Wyniki”,
- w całej pracy warto przyjąć taką samą zasadę do oznaczania różnic istotnych statystycznie w tabelach. Rosnące litery w alfabecie dla wartości coraz wyższych lub odwrotnie, identycznie dla wszystkich tabel. Byłoby to łatwiejsze w analizie dla czytającego. Ponadto, nie ma potrzeby podawania dwóch poziomów istotności jak np. w tab 29. (Dla cechy jędrność i wytrzymałość mięsa gotowanego). Wystarczające byłoby ustawienie jednego poziomu istotności na poziomie $p \leq 0,05$ dla wszystkich analiz w całej pracy,

- w rozdziale 5.3.4 użyto również niefortunnego zwrotu „najdłuższy czas uboju” co zapewne jest skrótem myślowym, który należałoby zastąpić „najdłuższego czas tuczu”,
- Autorka używa stwierdzenia ze polimorfizm „koreluje” z wybranymi cechami. Rozumiem, że to skrót myślowy, gdyż nie możemy mówić o korelacji jest wybrano metodę statystyczną GLM. Należałoby to zastąpić „istotnie wpływa”,
- w tekście pojawiają się nieścisłości np. inne wartości lub dane w tabelach w porównaniu z tekstem, dlatego warto byłoby raz jeszcze przeanalizować pracę przed przygotowaniem do druku w postaci artykułów naukowych,
- w tytule rozdziałów 5.6 i 5.7 funkcjonują nazwy mięśni natomiast w tytułach tabel w tych rozdziałów funkcjonują nazwy wyrębów. Sugerowałabym ujednoczyć nazewnictwo,
- wskazane byłoby opisywanie parametrów PRI, PRIIA oraz PRIIB w tekście jako procentowe zawartości poszczególnych włókien, tak jak wyjaśniono w metodyce oraz analogicznie FI, FIIA, FIIB jako średnica włókien.

Kolejny rozdział „Dyskusja”, w którym rezultaty badań własnych odnoszono do wyników badań innych autorów uznają za najciekawszy i to zarówno pod względem poznawczym, jak i aplikacyjnym. Warte podkreślenia jest również to, że Autorka omawia poszczególne zagadnienia w odniesieniu się do dostępnego piśmiennictwa, jak i doskonale posługuje się danymi z międzynarodowych baz bioinformatycznych m.in Ensembl, Animal QTLdb i obdarza je własnymi komentarzami, co w pracy doktorskiej uznają, za szczególnie istotne. Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę, że pewne dane, podawane w tym rozdziale wymagają poparcia w postaci piśmiennictwa, co warto byłoby uzupełnić przed przygotowaniem materiałów do publikacji (m.in akapit 3 strona 82; akapit 2. i 4. strona 83; akapit 2. strona 84). Pewien niedosyt budzi również sposób omawiania wartości parametru barwy mięsa (L^*), gdyż sformułowanie „wyższa wartość barwy mięsa L^* ” nie jest jasna. Wartościowy byłby również choć krótkie omówienie analizowanych typów włókien mięśniowych: PRIIA, FI, FII, FIIB w odniesieniu do uzyskanych rezultatów również w tym rozdziale, gdyż Autorka wykazuje się wiedzą o rodzajach włókien mięśniowych w rozdziale „Przegląd piśmiennictwa”.

Rozdział „Stwierdzenia i wnioski” jest syntezą uzyskanych wyników. Lektura rozdziałów pozwala na stwierdzenie, że założone cele badawcze zostały zrealizowane.

Podsumowując ocenę dysertacji doktorskiej stwierdzam, że mgr inż. Dagmara Antoń wykazała się znajomością problematyki dotyczącej prowadzonych badań.

Jako novum o charakterze poznawczym, w dysertacji uznaję:

- wykazanie obecności 4 miejsc polimorficznych w badanym fragmencie genu *ACTN3* u trzech ras świń: wielkiej białej polskiej, polskiej białej zwisłouchiej oraz rasy puławskiej,
- opracowanie metod PCR-RFLP i ACRS-PCR jako szybkich i tanich metod określenia polimorfizmu w genie *ACTN3*,
- określenie frekwencji poszczególnych genotypów i alleli w genie alfa-aktyniny u badanych ras,
- określenie wpływu genotypów w genie *ACTN3* na wybrane cechy tuczne i rzeźne oraz parametry jakości mięsa u trzech ras świń.

Autorka analizuje wyniki badań własnych, nawiązuje w dyskusji do rezultatów prezentowanych w dostępnym piśmiennictwie. Na uwagę zasługuje wykorzystanie licznych metod laboratoryjnych m.in. sekwencjonowanie, ACRS-PCR, PCR-RFLP oraz analiz *in silico* z wykorzystaniem programów komputerowych i internetowych baz danych. Uzyskane dane analityczne mogą być przydatne dla badaczy na całym świecie, jak również dla praktyków. Uwagi zawarte w recenzji mają charakter dyskusji a ewentualne wyjaśnienia pozwolą na pełniejszą analizę zebranych przez Autorkę wyników badań.

Uważam, że oceniana praca „Analiza polimorfizmu genu *ACTN3* w aspekcie cech użytkowych świń” spełnia wymogi stawiane dysertacjom doktorskim, określone w art.13 Ustawy z dnia 14.03.2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.2017 poz 1789 ze zm.) w związku z art.179 ust.2 oraz ust.3 pkt 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2018 poz.1669 z późn.zm.).

Biorąc powyższe pod uwagę, występuję do Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie Pani mgr inż. Dągmary Antoń do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, 29.08.2024r.


Monika Greguła-Kania