

Warszawa, 04.09.2024r.

Prof. dr hab. Beata Kuczyńska
Katedra Hodowli Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Pauliny Przybylskiej pt: „Wybrane polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNPs) genu FASN oraz inne czynniki wpływające na skład i zawartość tłuszczu mleka krów”, wykonanej pod kierunkiem naukowym promotora Prof. dr hab. inż. Mariana Kuczaja w Instytucie Hodowli Zwierząt, na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt w Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu.

Podstawę formalno-prawną wykonania recenzji stanowi pismo z dnia 27.08.2024 r. Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Szanownego Pana Dr hab. Heliodora Wierzbickiego, prof. uczelni Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (BDDD000, RNDZiR.410.16.2024) z informacją o powołaniu mnie na recenzenta oraz egzemplarz pracy doktorskiej mgr Pauliny Przybylskiej.

Ocena formalna pracy

Rozprawa doktorska opracowana przez mgr Paulinę Przybylską pt: „Wybrane polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNPs) genu FASN oraz inne czynniki wpływające na skład i zawartość tłuszczu mleka krów”

opiera się o doskonale powiązany z tytułem cykl czterech oryginalnych publikacji naukowych. Pierwsze dwie posiadają element nowatorski jakim jest określenie wpływu nie poddawanego do tej pory analizie porównawczej SNP-u g.16060A/C genu FASN w porównaniu do czterech pozostałych dobrze znanych z literatury, jednakże jedynie w odniesieniu do składu chemicznego mleka ras krów dominujących w użytkowości mlecznej, szczególnie o

Szkoła Główna
Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie

Instytut Nauk o
Zwierzętach

ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
+48 22 59 365 10
inz@sggw.edu.pl
www.sggw.edu.pl

niekwestionowanym potencjale genetycznym do wysokiej produkcji rasy krów holsztyńsko-fryzyjskiej.

W dostępnej literaturze nie znaleziono podobnych badań w odniesieniu do ras lokalnych i mniej popularnych. Ostatnie dwie publikacje przyjęte do opublikowania w zeszycie nr 72 na IV kwartał 2024r. w czasopiśmie naukowym *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Seria Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego* odnoszą się do drugiej części tytułu pracy tj. wpływu fazy i numeru laktacji na koncentrację tłuszczu i kompozycję kwasów tłuszczowych w mleku trzech wybranych do eksperymentu ras krów (ZR, RP i RW).

Cykl tych publikacji stanowią następujące prace:

1. Przybylska P., Kuczaj M., 2024a – Relationship between selected SNPs (g.16024A/G, g.16039T/C and g.16060A/C) of the FASN gene and the fat content and fatty acid profile in the milk of three breeds of cows. *Animals*, 14 (13), 1934. <https://doi.org/10.3390/ani14131934>; IF (2023): 2,7; 5-letni IF (2023): 3,0; MEiN: 100 pkt. (2024).

2. Przybylska P., Kuczaj M., 2024b – The effects of two selected single nucleotide polymorphisms of the fatty acid synthase gene on the fat content and fatty acid profile of cow's milk from the Polish Holstein–Friesian Red–and–White breed versus two Polish Red–and–White and Polish Red conservation breeds kept in Poland. *Animals*; 14 (15), 2268. <https://doi.org/10.3390/ani14152268>; IF (2023): 2,7; 5-letni IF (2023): 3,0; MEiN: 100 pkt. (2024).

3. Przybylska P., Kuczaj M., 2024c – Determinants of fat content and fatty acid composition in milk of cows of different breeds. Part 1: Effect of lactation phase. Praca przyjęta do opublikowania (nr manuskryptu: 641-2024; praca zostanie opublikowana w zeszycie nr 72; termin opublikowania: IV kwartał 2024 r.) w czasopiśmie naukowym *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Seria Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego*; MEiN: 40 pkt. (2024).

4. Przybylska P., Kuczaj M., 2024d - Determinants of fat content and fatty acid composition in milk of cows of different breeds. Part 2: Effect of cows' age. Praca przyjęta do opublikowania (nr manuskryptu: 642-2024; praca zostanie opublikowana w zeszycie nr 72; termin opublikowania: IV kwartał 2024 r.) w czasopiśmie naukowym Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Seria Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego; MEiN: 40 pkt. (2024).

Łączny współczynnik oddziaływania (IF) przedstawionych prac naukowych wynosi 5,4, a łączna liczba punktów wg ministerialnego wykazu czasopism punktowanych (MEiN) wynosi 280 pkt.

We wszystkich publikacjach wchodzących w skład dysertacji Doktorantka jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Indywidualny wkład Doktorantki w przygotowanie poszczególnych prac wg zamieszczonych oświadczeń autorki i współautora Pana prof. dr hab. Mariana Kuczaja był wiodący w trzech pierwszych po 70% w ostatniej czwartej 60%. Wg zamieszczonych oświadczeń Doktorantka uczestniczyła w tworzeniu każdej z prac na różnych etapach jej realizacji m.in. w opracowaniu koncepcji i metodyk badań, nadzorowaniu nad badaniami, analizie i interpretacji danych, pisaniu i redagowaniu manuskryptów oraz korespondencji z redaktorami czasopism. Wyżej wymienione aktywności potwierdzają umiejętności wskazane dla pracowników naukowych. Godne podkreślenia jest fakt, iż Doktorantka wykazała wyjątkową skuteczność, determinację i zaangażowanie w powstawanie prac, które zostały opublikowane lub uzyskały pozytywną zgodę czasopisma do opublikowania w trakcie trwania pierwszego półrocza 2024 roku.

Szczegółowa struktura i ocena rozprawy

Układ pracy jest poprawny i zasługuje na podkreślenie bardzo szczegółowego i logicznego podejścia do jej zaprezentowania. W części opisowo- informacyjnej dysertacji znajduje się 13 rozdziałów. Są to w kolejności: Streszczenie w języku polskim, Abstract w języku angielskim, Wykaz skrótów, Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy, Wstęp (w którym

wyszczególniono podrozdział – Uzasadnienie wyboru tematu), Cel pracy i Hipotezy badawcze, Materiał i Metody, Omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy oraz ich znaczenie, Powiązanie tematyczne cyklu publikacji, Omówienie wyników i Dyskusja, Podsumowanie, Wnioski Literatura Kopie publikacji i Dorobek naukowy. Manuskrypt dysertacji został sporządzony na 168 stronach, którą pomimo takiej obszerności czyta się bardzo płynnie i z zainteresowaniem, ponieważ każdy wątek pracy jest ze sobą w logiczny sposób połączony. Taki układ pracy potwierdza głębokie przemyślenia, wysoką dozę skrupulatności, a przede wszystkim satysfakcjonującą dojrzałość naukową Doktorantki.

W rozdziale streszczenie Doktorantka zwraca uwagę czytelnika na charakterystykę genu FASN i związek jego polimorfizmów z gospodarką tłuszczową mleka oraz wpływ dwóch niewątpliwie istotnych czynników poza genetycznych tj. numeru i fazy laktacji krów użytkowanych mlecznie na zawartość całkowitą tłuszczu i kształtowanie profilu kwasów tłuszczowych w mleku.

Uzasadniając wybór tematu pracy doktorskiej Doktorantka uświadamia znaczenie prowadzenia badań genomicznych, w szczególności badania związku konkretnych wariantów genotypowych SNP-ów genu FASN z jakością prozdrowotną mleka.

Doktorantka postawiła 5 celów badawczych i 3 hipotezy z nimi związane, do których odniosła się na końcu pracy w rozdziale Wnioski.

W rozdziale Materiał i Metody, zastosowane metody badawcze i procedury analityczne oraz model analizy statystycznej zostały dobrane właściwie, a ich opis zamieszczony w pracy jest w pełni satysfakcjonujący, co świadczy o samodzielnym przygotowaniu się do doświadczenia i bardzo dobrym opanowaniu warsztatu badawczego. Badaniami objęto 485 krowy reprezentujące trzy rasy (polską czerwono-białą ZR, n=95; polską czerwoną RP, n=148 i polską holsztyńsko-fryzyjską odmiany czerwono-białej RW, n=242) w 17 gospodarstwach, pozyskując od nich mleko w tym samym sezonie żywienia letniego, eliminując prawdopodobnie tym samym oddziaływanie na rezultaty

eksperymentu kolejnych ważnych czynników jakimi są m.in. żywienie i pora roku, czy temperatura. W zebranym materiale biologicznym dokonano izolacji genomowego DNA, a następnie genotypowania polimorfizmów pojedynczych nukleotydów z uwzględnieniem sekwencji par primerów dla każdego SNP-u, co jest istotnie ważne dla weryfikacji zapisów SNP-ów z danymi literaturowymi, w których jak słusznie Doktorantka zauważyła istnieją czasami rozbieżności w nazewnictwie. W tym celu Doktorantka wykorzystała uniwersalną ale wysoce specjalistyczną metodę PCR.

W próbkach mleka oznaczono zawartość tłuszczu, a w nim profil 28 kwasów tłuszczowych za pomocą dedykowanych tym celom nowoczesnych metod analitycznych (FTIR i GC). W tej części pracy Autorka zobrazowała w sposób graficzny przykłady amplifikacji badanych prób dla uwzględnionych SNP-ów, co może się okazać bardzo przydatne dla innych badaczy zajmujących się podobną tematyką.

Przy omawianiu poszczególnych publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej zauważa się powtarzalny układ opracowania i podkreślenie przez Doktorantkę wartości aplikacyjnej każdej z nich. Autorka odnosi się nie tylko do cech wykazujących różnice statystycznie istotnie, ale także do tych najbardziej pożądaných zdrowotnie, które nie były istotne, a były uwzględnione w analizie statystycznej.

Wszystkie wyniki zostały dodatkowo w sposób czytelny w języku polskim zebrane w postaci rankingu w 6 tabelach w rozdziale Podsumowanie, pomimo tego, że były opublikowane w publikacjach w języku angielskim. Ta klasyfikacja pozwoliła w sposób klarowny wskazać, jak duży jest wpływ zmienności genetycznej na jakość mleka pod względem gospodarki tłuszczowej.

Wszystkie zacytowane pozycje literatury zostały dobrane tematycznie, są prawidłowo cytowane a ich łączna liczba to 250 (95 – w autoreferacie, 40 – w 1. publikacji; 50 – w 2. publikacji; 31- w 3. publikacji; 34- w 4. publikacji). Analizując dane bibliometryczne niespełna 25% pozycji z całości powtarza się w cyklu publikacji stanowiących rozprawę. Jest to literatura zarówno polsko, jak i anglojęzyczna datowana od

najstarszej z 1957 roku (metoda referencyjna ekstrakcji tłuszczu wg Folcha) do 2024 r., z przewagą publikacji z ostatniej dekady, co potwierdza umiejętność korzystania przez Doktorantkę ze światowych zasobów specjalistycznego piśmiennictwa naukowego.

Imponujący jest także przedstawiony dorobek naukowy Doktorantki w postaci 4 oryginalnych publikacji i 26 doniesień naukowych prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Uwagi i pytania do Doktorantki

W tej części mojej recenzji chciałabym podzielić się uwagami i pytaniami, które nasunęły mi się w czasie opiniowania pracy i nie są zarzutami, ale mogą stanowić podstawę do dyskusji w czasie obrony, a być może inspirację do dalszych badań naukowych:

1. W materiałach i metodyce brak podania informacji według jakiej metody prowadzono ekstrakcję tłuszczu z mleka a może wykorzystano transmetylację kwasów tłuszczowych bezpośrednio z mleka? W publikacji numer 1 jest zawarta informacja o ekstrakcji wg opisu Folcha. Jeśli taka metoda była zastosowana to dlaczego?, przecież referencyjna dla ekstrakcji mleka jest wg Rosego-Gotlieba. Czy Doktorantka mogłaby wytłumaczyć jaka jest różnica zastosowania do ekstrakcji tłuszczu z materiału biologicznego między tymi dwoma metodami?
2. W zamieszczonym w dysertacji doktorskiej w sformułowaniu celu numer 2, Doktorantka wskazuje na określenie frekwencji poszczególnych wariantów genotypów pięciu badanych SNP-ów genu FASN, jednakże we wnioskach nie znalazłam informacji na ten temat. Informacja ta znajduje się w publikacji nr 1 w tabeli 2. dlatego też proszę o uzupełnienie wniosku w części informacyjno-opisowej pracy tzw. autoreferatu, ze względu na uzyskanie spójności

odniesienia się do celów pracy we wnioskach oraz wartości poznawczej tej informacji.

3. Wniosek końcowy wskazujący, że najlepsze jakościowo mleko z punktu widzenia profilu lipidowego pochodzi od krów rasy rodzimej polskiej czerwono-białej (ZR) z dwóch pierwszych laktacji powinien moim zdaniem być o uzupełniony np. o podkreślenie najwyższej koncentracji pożądanego w diecie prekursora dla rodziny kwasów omega-3, czyli kwasu alfa-linolenowego C18:3 n3 i uwzględnienia związku między jego koncentracją w tłuszczu mlekowym a frekwencją SNP-u typu 2, czyli g16024 AA.
4. Czy Doktorantka zastanawiała się dlaczego jest tak duże zróżnicowanie zmienności genetycznej u badanych ras rodzimych krów pod względem analizowanych SNP-ów genu FASN.
5. Czy zdaniem Doktorantki zasadne są badania genomowe w selekcji bydła użytkowanego mlecznie, jeśli tak - to w odniesieniu do jakich parametrów oceny użyteczności mlecznej?

Praca jest napisana bardzo dobrym stylem. Zauważyłam jedynie bardzo drobne nieścisłości w postaci braku rozwinięć niektórych skrótów pojawiających się w tekście po raz pierwszy a nie uwzględnionych w wykazie (np. bp.) lub zamiany terminów specjalistycznych wynikających prawdopodobnie z zaciągnięcia z tłumaczeń angielskich (np. ekson vs. egzon), które nie wpływają w żaden sposób na obniżenie wartości rozprawy, ale należałoby je uwzględnić w celu poprawności i ujednolicenia tekstu.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Pracę doktorską Pani mgr Pauliny Przybylskiej pt. „Wybrane polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNPs) genu FASN oraz inne czynniki wpływające na skład i zawartość tłuszczu mleka krów” oceniam pozytywnie i bardzo wysoko. Doktorantka właściwie sformułowała i zweryfikowała 3 hipotezy badawcze, zrealizowała cele badań i uzyskała wyniki o istotnej wartości merytorycznej oraz niekwestionowanej wartości aplikacyjnej w odniesieniu do badań genomicznych nie tylko w naszym kraju ale także o zasięgu międzynarodowym, o czym świadczą opublikowane wyniki pracy w renomowanym czasopiśmie *Animals* nr 14 w dwóch artykułach, po pozytywnym zweryfikowaniu przez anonimowych recenzentów. Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej istotnie poszerzają wiedzę na temat wykorzystania selekcji genomowej dla produkcji mleka o jakości prozdrowotnej i wpisują się w rozwój dyscypliny zootechniki i rybactwo.

Wyrażam opinię, że przedstawiono do oceny praca doktorska Pani mgr Pauliny Przybylskiej pt. „Wybrane polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNPs) genu FASN oraz inne czynniki wpływające na skład i zawartość tłuszczu mleka krów”, spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i odpowiada warunkom określonym w artykuł 187 z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (tekst jednolity Dz.U. z 2023r. poz.742 ze zm.) i wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Przybylskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Ze względu na wartość poznawczą i aplikacyjną wyników pracy szczególnie w odniesieniu do jakości prozdrowotnej mleka krów ras lokalnych, będących w programach ochrony zasobów genetycznych i uzyskaniu wysokiego wpływu oddziaływania (IF) na rozwój dyscypliny zootechniki i rybactwo o łącznej wartości 5,4 w ciągu zaledwie jednego roku kalendarzowego wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Pauliny Przybylskiej pt. „Wybrane polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNPs) genu FASN oraz inne czynniki wpływające na skład i zawartość tłuszczu mleka krów”. Chciałabym także podkreślić, że samodzielne wykonanie analiz na tak dużej liczbie krów (485 sztuk) wymagało od Doktorantki bardzo kompleksowego przygotowania logistycznego eksperymentu i opanowania warsztatu analitycznego, czego dowodzi fakt, że jest współautorką prac oryginalnych składających się na rozprawę doktorską jedynie z promotorem pracy Panem prof. dr hab. Marianem Kuczajem.

Z poważaniem

Prof. dr hab. Beata Kuczyńska

