

Prof. Dr hab. inż. Maria Siwek – Gapińska
Katedra Biotechnologii i Genetyki Zwierząt
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Uniwersytet Technologiczno – Przyrodniczy
Bydgoszcz

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr inż. Błażeja Nowaka zatytułowanej: **„Analiza mikrosatelitarnych markerów cech reprodukcyjnych loch”** zrealizowanej pod kierunkiem dr hab. Wojciecha Kruszyńskiego prof. nadzw. UP i promotor pomocniczej dr inż. Magdaleny Moski

wykonana na zlecenie Przewodniczącej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Technologia markerów DNA została po raz pierwszy zastosowana w komercyjnej hodowli świń w latach 90tych ubiegłego wieku. Jednym z pierwszych markerów zastosowanym w selekcji wspomaganey markerami (MAS) był Hal – 1843. Ten pierwszy test markerów szybko stał się niezwykle popularny. Przesądzały o tym trzy powody. Po pierwsze: podatność na to zaburzenie u świni jest kontrolowana przez pojedynczy gen. Po drugie: konwencjonalna selekcja przeciwko temu zaburzeniu obejmowała testy halotanu co było związane z pracochłonnością. Po trzecie: docelowy allel jest allelem recesywnym, konwencjonalna selekcja obejmuje badanie potomstwa co jest zarówno czasochłonne jak i kosztowne.

Zdecydowana większość cech ważnych w hodowli i produkcji zwierzęcej ma charakter ilościowy i jest ona kontrolowana przez dużą liczbę genów. Regiony w genomie związane z tymi cechami fenotypowymi nazwane są QTL (Quantitative Trait Loci). Pierwszy zmapowany marker QTL u świń był związany z locus receptora estrogenowego i stwierdzono, że odpowiada za 12% zmienności wielkości miotu. Dość szybko okazało się, iż większość QTL ma jedynie niewielki wpływ na analizowane cechy fenotypowe, a prawdopodobieństwo ich znalezienia jest silnie ograniczona i zależna od wielu różnych czynników m.in. wielkość analizowanej próby, rodzaj populacji doświadczalnej.

Badania dotyczące powiązania markerów DNA z cechami fenotypowymi należy zatem prowadzić dla poszczególnych ras utrzymywanych w określonych warunkach środowiskowych. W tym kontekście badania przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej mgr inż. Błażeja Nowaka mają wydźwięk jest zarówno poznawczy jak i praktyczny.



1. Uwagi ogólne i charakterystyka pracy

Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska ma charakter eksperymentalny, napisana została w sposób zrozumiały, precyzyjny i poprawny od strony językowej. Cała treść dysertacji zawarta jest na 137 stronach. Praca podzielona jest na 7 podstawowych rozdziałów: „Wstęp i cele pracy”, „Przegląd piśmiennictwa”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Podsumowanie i Wnioski” i „Piśmiennictwo”. Pracę uzupełnia streszczenie w języku polskim i angielskim oraz załączniki.

2. Analiza poszczególnych części pracy

Rozdział „Wstęp i cele pracy” wprowadza czytelnika w tematykę dysertacji doktorskiej. Autor prezentuje w nim zasady prowadzenia pracy hodowlanej zmierzającej do osiągnięcia postępu hodowlanego. Klasyczna selekcja osobników przeznaczonych do reprodukcji następnych pokoleń była oparta o szacowanie wartości genetycznej na podstawie wartości cech fenotypowych. Wraz z postępującą techniką genetyki molekularnej i coraz większą dostępnością markerów DNA klasyczne metody selekcji były zastępowane metodami działającymi w oparciu o kolejne rodzaje markerów molekularnych. Autor wspomina w tym rozdziale markery DNA poczynając od najbardziej historycznych markerów erytrocytarnych, białek osocza krwi i mleka, antygenów zgodności tkankowej MHC. W następnej kolejności wskazane są markery RAPD, RFLP, VNTR, STR i SNP. Wśród wymienionych markerów szczególnie cenne w kontekście selekcji wspomaganym markerami (MAS) są markery mikrosatelitarne. Ich zastosowanie w pracach hodowlanych związane jest z detekcją loci cech ilościowych (QTL). We wspomnianym rozdziale Autor wskazuje na zasadność analizy polimorfizmu markerów mikrosatelitarnych w powiązaniu z cechami ilościowymi podając przykłady badań u różnych gatunków zwierząt m.in. kur nieśnych, kaczek czy lisów jak również trzody.

Rozdział „Przegląd piśmiennictwa” to bardzo sumienna prezentacja cech reprodukcyjnych trzody chlewnej w powiązaniu z podłożem genetycznym czyli wskazaniem regionów QTL zmapowanych w badaniach innych autorów. Autor dokonuje szczegółowej charakterystyki szeregu cech reprodukcyjnych: długości ciąży, liczby prosiąt urodzonych w miocie, liczby prosiąt martwo urodzonych w miocie, liczby prosiąt odsadzonych od lochy, długości laktacji, długości okresu jałowienia oraz długości okresu międzyciążowego i cyklu reprodukcyjnego.

Rozdział „Materiał i metody” to 7 stron, na których po pierwsze scharakteryzowane zostały lochy wykorzystane w badaniach wraz z podziałem na rasy. Kolejne podrozdziały przedstawiają zastosowane: analizy molekularne (izolacja DNA, ilościowa i jakościowa ocena DNA, amplifikacja sekwencji mikrosatelitarnych,

analiza jakościowa produktów PCR, genotypowanie produktów PCR) i analizy statystyczne. Rozdział jest uzupełniony trzema zestawieniami tabelarycznymi przedstawiającymi: liczbę loch poszczególnych ras wykorzystanych w badaniach (Tabela 1), charakterystykę 12 markerów mikrosatelitarnych (Tabela 2), zestawienie markerów mikrosatelitarnych z podziałem na multiplexy (Tabela 3).

Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawione są w 7 tabelach umieszczonych w rozdziale "Wyniki" i dodatkowych 12 tabelach umieszczonych w Załączniku. Uzyskane wyniki zostały również przedstawione w postaci graficznej na 59 wykresach.

W rozdziale „Dyskusja” Autor w kolejnych podrozdziałach ustosunkowuje się do: Polimorfizmu analizowanych markerów mikrosatelitarnych (Podrozdział 5.1); Zróżnicowania cech reprodukcyjnych loch w poszczególnych rasach (Podrozdział 5.2); Zróżnicowania cech reprodukcyjnych w zależności od genotypu (Podrozdział 5.3).

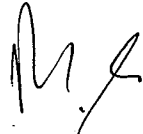
Wnioski są sformułowane precyzyjnie, przedstawione prawidłowo i wynikają z rezultatów uzyskanych w trakcie realizacji doświadczeń.

Ostatni rozdział dysertacji to „Piśmiennictwo” obejmujący 189 pozycji literatury zarówno krajowej jak i zagranicznej.

3. Uwagi krytyczne

Do zadań recenzenta należy również wskazanie ewentualnych merytorycznych i formalnych nieścisłości zauważonych w ocenianej dysertacji. Nieścisłości te omówione są poniżej w kolejności chronologicznej:

- W pracy brakuje jasno sformułowanej hipotezy badawczej
- Celem dysertacji była „...analiza dwunastu markerów STR zlokalizowanych w obrębie *loci* cech ilościowych oraz wskazanie tych, które mogą znaleźć zastosowanie w pracy hodowlanej prowadzącej do poprawy wybranych cech reprodukcyjnych loch”. Autor nie wyjaśnia dlaczego podjął się analizy 12 markerów mikrosatelitarnych? Jakie były przesłanki o wyborze tych konkretnych 12 markerów STR? I przede wszystkim jaka jest lokalizacja danego markera STR w genomie świni i czy jest on powiązany z regionem QTL a jeśli tak to z jakim? Zwłaszcza ta ostatnia informacja jest ważna w kontekście dyskusji wyników własnych z danymi literaturowymi.
- Autor w swojej dysertacji, nie wspomina o bazie danych QTL (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index>), w której zebrane są informacje dotyczące regionów QTL wielu cech fenotypowych, w tym również cech reprodukcyjnych. Zgodnie ze wskazaniami tej bazy danych liczba regionów QTL dla niektórych cech analizowanych w Dysertacji jest zdecydowanie większa niż podana przez Autora.

 3

- Na stronie 14 dysertacji Autor cytując publikację Wimmers i in. 2005 wskazuje, iż wspomniani Autorzy analizowali marker STR zlokalizowany w eksonie 1 genu receptora androgenowego. Wskazana lokalizacja jest inna niż podana w cytowanej publikacji.
- Na stronie 22 dysertacji Autor cytując publikację Wilkie i in. 1999 wskazuje iż QTL dla liczby prosiąt odsadzonych od lochy zostały zlokalizowane na SSC11 i SSC18 co nie jest zgodne z cytowaną publikacją.
- Zarówno w rozdziale „Wstęp i cele pracy” jak i „Dyskusja” Autor dość konsekwentnie unika tematyki markerów SNP. Są to obecnie najczęściej i najpowszechniej stosowane markery molekularne wykorzystywane w programach hodowlanych w powiązaniu z selekcją genomową.
- Na stronie 77 (Dyskusja) Autor porównując wyniki polimorfizmu markerów uzyskane w badaniach własnych odnosi się do wyników badań realizowanych w oparciu o zestaw markerów mikrosatelitarnych rekomendowany przez ISAQ/FAO. Prosiłabym o uzasadnienie wyboru tej referencji.

Wymienione uwagi mają charakter polemiczny i mają na celu zainicjowanie dyskusji w czasie obrony pracy doktorskiej. Zastosowane przez mgr Nowaka metody badawcze, dobór materiału do badań, analiza i późniejsza interpretacja uzyskanych wyników wskazuje iż Autor dysertacji wykazał się bardzo dobrym przygotowaniem merytorycznym i opanowaniem warsztatu badawczego.

4. Wartość merytoryczna pracy

Przedłożona do recenzji dysertacja doktorska ma charakter eksperymentalny. Autor wykorzystuje w niej sprawdzone narzędzia molekularne jakimi są markery mikrosatelitarne. Uzyskane dane genotypowe i fenotypowe są przeanalizowane z zastosowaniem kompleksowych narzędzi statystycznych. Z przedstawionego opracowania wynika, że Mgr inż. Błażej Nowak posługuje się zarówno technikami genetyki molekularnej jak i najnowszymi narzędziami statystycznej analizy danych.

Dysertacja doktorska mgr inż. Błażeja Nowaka ma dużą wartość poznawczą jak i znaczenie praktyczne dla hodowli trzody chlewnej. Na szczególne podkreślenie zasługuje:

- Rzetelne zebranie reprezentatywnego materiału doświadczalnego loch pochodzących z sześciu ras utrzymywanych w Polsce i Stanach Zjednoczonych
- Charakterystyka polimorfizmu zastosowanych markerów DNA w poszczególnych rasach trzody chlewnej

M. S.

- Zastosowanie kompleksowymi analiz i testów statystycznych
- Wskazanie korelacji między cechami fenotypowymi, które mogą stanowić wskazówkę dla hodowców
- Wytypowanie markerów DNA dla których wykazano związek pomiędzy genotypem matki z zmiennością cech fenotypowych w pokoleniu potomnym

Uzyskane w pracy wyniki dostarczają nowej wiedzy na temat zmienności cech fenotypowych związanych z rozrodem i polimorfizmem wybranych markerów DNA w genomie sześciu ras świń utrzymywanych w gospodarstwach w Polsce i Stanach Zjednoczonych Ameryki. Przedstawione rezultaty analiz są niewątpliwie cennymi wskazówkami, które mogą zostać wykorzystane w praktyce hodowlanej.

5. Wnioski końcowe

Dysertacja doktorska mgr inż. Błażeja Nowaka zatytułowana: „**Analiza mikrosatelitarnych markerów cech reprodukcyjnych loch**” spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki (Dz. U. 65, poz. 595) z późniejszymi zmianami w brzmieniu z dnia 18 marca 2011 r. (Dz.U. 84 poz. 455).

Uwzględniając wartość merytoryczną ocenianej rozprawy uważam, że stanowi ona osiągnięcie naukowe spełniające wymagania postawione pracom naukowym zarówno zakresie dotychczasowych dyscyplin i dziedziny (dziedzina nauk: nauki rolnicze, dyscyplina: zootechnika) jak również dyscyplin i dziedzin wg. nowej klasyfikacji (dziedzina: nauki rolnicze, dyscyplina: zootechnika i rybactwo). W związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr inż. Błażeja Nowaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Bydgoszcz 02.12.2019

Prof. dr hab. Maria Siwek – Gapińska

