

Olsztyn, 07.01.2021 r.

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

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Igora Jasielczuka
pt. **Wykorzystanie markerów SNP do identyfikacji przynależności rasowej bydła,**
wykonanej pod kierunkiem dr. hab. Tomasza Ząbka, prof. IZ
i promotora pomocniczego dr. hab. Artura Gurgula, prof. IZ

Ocena wyboru i znaczenia podjętej tematyki badawczej

W naukach zootechnicznych jednym z naturalnych kierunków badań jest doskonalenie systemu identyfikacji osobniczej i rasowej zwierząt. Stosowanie sprawnych i wiarygodnych metod określania przynależności rasowej osobników ma wpływ na efektywność podejmowanych decyzji hodowlanych, zwłaszcza przy realizacji programów ochrony zasobów genetycznych. Mogą one być również wykorzystane w systemie identyfikacji i nadzorze żywności. Początkowo określanie przynależności rasowej zwierząt odbywało się na podstawie zespołu cech fenotypowych, nazwanych jako „wzorzec rasowy”. Wiarygodność tej metody ogranicza się jedynie do zmienności fenotypowej i nie uwzględnia rzeczywistej zmienności genetycznej na poziomie DNA. Okoliczności te skłoniły do poszukiwania bardziej efektywnych metod rejestracji zmienności genetycznej. Rozwój genetyki molekularnej i wykrycie polimorfizmu mikrosatelitarnych sekwencji DNA (STR) stworzyły możliwości wykorzystania go w identyfikacji osobniczej i rozróżnianiu rasowym. Metoda ta okazała się jednak mało doskonała, ze względu na brak porównywalności wyników uzyskanych w różnych laboratoriach. Wraz z rozwojem technik genotypowania opartych na wysokowydajnych mikromacierzach DNA, zawierających sondy dla wielu tysięcy markerów SNP, rozmieszczonych w całym genomie rozpoczęto działania zmierzające do opracowania metod identyfikacji rasowej bydła na podstawie analizy polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP). W odróżnieniu do markerów STR charakteryzują się one m. in. polimorfizmem binarnym, przez co są łatwiejsze do walidacji, mniejszym prawdopodobieństwem popełnienia błędów genotypowania, niskim wskaźnikiem

mutacyjności oraz mogą być genotypowane przy użyciu nowoczesnych technologii i bardzo wydajnych metod.

Biorąc pod uwagę światowe trendy zmierzające do stosowania w praktyce hodowlanej polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP), jako metody pozwalającej na określenie przynależności rasowej bydła temat rozprawy doktorskiej mgr. Igora Jasielczuka należy uznać za aktualny.

Charakterystyka pracy

Przedłożoną do oceny rozprawę doktorską mgr Igora Jasielczuka postrzegam jako kontynuację bogatej i ugruntowanej tradycji badań Instytutu Zootechniki PIB w Balicach nad identyfikacją osobniczą i kontrolą pochodzenia zwierząt w Polsce. Ma ona formę klasycznej rozprawy naukowej i obejmuje rozdziały: Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Bibliografia tworzące łącznie wraz ze spisem treści, wykazem stosowanych skrótów, streszczeniem w języku polskim i angielskim przejrzystą strukturę opracowania, liczącą 102 strony maszynopisu. W pracy dodatkowo zamieszczono „Elektroniczne materiały uzupełniające” opracowane w 21 tabelach, zawierające informacje dotyczące części wynikowej pracy. Praca została napisana z zachowaniem właściwej sekwencji omawianych zagadnień, językiem naukowym w dobrym stylu, z dbałością o rzeczowość przekazywanych treści. Na podkreślenie zasługuje dobra konstrukcja i w konsekwencji przystępna czytelność 21. tabel i 25. wykresów zamieszczonych w części opisowej pracy oraz 21. tabel w Elektronicznych materiałach uzupełniających. Wykaz cytowanej literatury jest obszerny i obejmuje 127 pozycji, w tym zaledwie 13 to opracowania polskojęzyczne. Zdecydowana większość prac została opublikowana w czasopismach o uznanej renomie międzynarodowej a 71 (56%) prac pochodzi z ostatnich 10. lat. Pozycje piśmiennictwa, mimo ich dużej liczby, dobrane zostały w sposób przemyślany i ograniczony głównie do zakresu badań.

Problematykę rozprawy Autor zasygnalizował w krótkim jednostronicowym wprowadzeniu, w którym skupił się na uzasadnieniu potrzeby kontynuowania prac na nad doskonaleniem metod rozpoznawalności rasowej w oparciu o markery SNP, zwłaszcza w odniesieniu do polskich ras bydła. Następnie w dalszych rozdziałach **Wstępu** w sposób czytelny i systematyczny omówił ewolucję doskonalenia metod identyfikacji rasowej bydła w Polsce i na świecie, dokonując kompletnego przeglądu wiedzy na temat dotychczas wykorzystywanych metod, począwszy od wzorców

rasowych, poprzez markery mikrosatelitane (STR) do polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP), wskazując wady i zalety ich stosowania. Wiele miejsca poświęcił również na omówienie zastosowań markerów SNP w badaniach struktury i zróżnicowania genetycznego ras bydła oraz ochronie bioróżnorodności.

Wielowątkowa i staranna kompilacja wyników badań krajowych i zagranicznych z tego zakresu świadczy o dobrej orientacji Autora w obszarze badawczym, w którym mieści się przygotowana rozprawa. W mojej ocenie rozdział ten stanowi bardzo dobre kompendium wiedzy ograniczone do tematu i zakresu pracy. Właściwy dobór pozycji bibliograficznych pozwoliły Autorowi wytyczyć nadrzędny cel pracy, którym był wybór metod selekcji markerów uzyskanych z mikromacierzy Illumina BovineSNP50 i utworzenie panelu markerów, umożliwiającego efektywną identyfikację rasową bydła. Dodatkowo podjęta została próba zweryfikowania przydatności zaproponowanego panelu markerów SNP do określenia struktury i zmienności genetycznej 10-ciu ras bydła utrzymywanego w Polsce. Proponuję, aby przy przygotowaniu pracy do druku przeredagować cel pracy, gdyż w 1 zadaniu zamieszczonym w 6-ciu wierszach zawarto zbyt dużo informacji, przez co stał się on mało przejrzysty.

W rozdziale **Materiał i metody** Autor opisał zgromadzony do badań materiał zwierzęcy, przeprowadzone analizy laboratoryjne, techniki molekularne oraz kolejność działań z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych i statystycznych zmierzających do osiągnięcia założonego celu pracy. W badaniach Autor uwzględnił 10 ras bydła utrzymywanych w Polsce, w tym 4 rasy lokalne (białogrzbiętą, polską czerwono-białą, polską czerwoną, polską czarno-białą) i 6 ras które można scharakteryzować jako wysokoprodukcyjne (Charolaise, Hereford, holsztyńsko-fryzyjską, Limousine, Montbeliarde, simentalską). Uważam, że do osiągnięcia założonego celu dobór ras jest właściwy, natomiast brak jest informacji, dlaczego w badaniach uwzględniono różną liczbę osobników przynależących do każdej z 10-ciu ras bydła, mimo iż Autor podaje, że wyboru dokonano losowo. Reasumując rozdział ten został opracowany z bardzo dużą starannością, jednak w mojej ocenie dla ułatwienia percepcji można było w formie graficznej przedstawić kolejność działań objętych metodyką badań.

Rozdział – **Wyniki** - zawiera opisową, graficzną i tabelaryczną prezentację uzyskanych wyników. W tej części Autor w sposób wiarygodny, wręcz fotograficzny omawia uzyskane wyniki z kolejnych etapów przeprowadzonych analiz. W pierwszej części dokonuje charakterystyki 41 276 markerów SNP uzyskanych z mikromacierzy,

zlokalizowanych na 29 chromosomach. Doktorant z wykorzystaniem 3 metod statystycznych, tj.: delta (D), współczynnik F_{ST} między parami ras (F) i po raz pierwszy zastosowany w tej pracy współczynnik F_{ST} , obliczony pomiędzy jedną rasą względem reszty ras (G) oraz dodatkowo stosując dwa odrębne podejścia metodyczne, dokonał doboru markerów i utworzył trzy panele liczące odpowiednio 96, 192 i 288 SNP. Wykazał, że niezależnie od zastosowanej metody selekcji markerów wszystkie utworzone panele charakteryzowały się nierównomiernym rozkładem SNP w genomie bydła, a największa liczba markerów SNP występowała na chromosomie 6. W dalszej części tego rozdziału stosując trzy wskaźniki tj.: czułość (C), średnie prawdopodobieństwo przypisania (P_p) oraz specyficzność (S) Autor dokonał oceny efektywności utworzonych paneli w rozróżnianiu ras bydła. Kolejnym etapem przeprowadzonych analiz było wykazanie, przydatności zaproponowanych przez siebie paneli SNP do określenia struktury i zróżnicowania genetycznego wewnątrz populacji oraz pomiędzy populacjami. Odnosząc uzyskane wyniki do otrzymanych na pełnym zbiorze 41 276 markerów SNP, wspólnych dla wszystkich badanych ras, Autor wykazał przydatność zredukowanych paneli do szacowania wartości parametrów genetycznych w powszechnie stosowanych analizach z zakresu genetyki populacji.

W mojej ocenie opis wyników jest kompletny i szczegółowy. Wyniki przeprowadzonych badań Autor zamieścił w 21 tabelach i na 25 rysunkach. Na szczególne podkreślenie zasługuje doskonale opracowana graficzna prezentacja wyników, która bez trudu pozwala czytelnikowi zapoznać się z dużą dawką informacji zamieszczonej w tej części pracy. Konstrukcja oraz objaśnienie zestawień tabelarycznych i rysunków są informatywne i nie wymagają korekty redakcyjnej.

Dyskusja wyników bezpośrednio nawiązuje do zakresu przeprowadzonych badań i odpowiada podrozdziałom zamieszczonym w części wynikowej pracy. Została napisana z dużą znajomością zagadnienia i literatury źródłowej. Autor wyniki badań własnych odniósł do podawanych przez innych autorów, starając się znaleźć wyjaśnienie dla uzyskanych przez siebie rezultatów. W tej części rozprawy za ważne uznaję dywagacje Autora dotyczące wad i zalet oraz ograniczeń praktycznych stosowanych metod identyfikacji rasowej bydła.

Rozprawa zakończona jest dwunastoma uogólnieniami i wnioskami odzwierciedlającymi uzyskane wyniki i odnoszącymi się do celów badań. W mojej ocenie tak sformułowane osiągnięcia bardziej stanowią uogólnienia niż wnioski, ponieważ

zawierają informacje o uzyskanych wynikach, dlatego też rozdział ten powinien zostać zatytułowany podsumowanie i wnioski.

Podsumowanie

Reasumując stwierdzam, że praca doktorska mgr. Igora Jasielczuka jest cenną pozycją piśmiennictwa naukowego. Uzyskane wyniki mają perspektywicznie duże znaczenie praktyczne i stanowią próbę wskazania łatwej i efektywnej metody, obejmującej niewielkie zbiory informatywnych markerów SNP, pochodzących z mikromacierzy Illumina BovineSNP50, umożliwiających pewne przypisanie badanego osobnika do określonej rasy. Niepodważalnym walorem tej pracy jest kompleksowość przeprowadzonych analiz bioinformatycznych i statystycznych potwierdzających wiarygodność uzyskanych wyników. Wartość rozprawy powiększa fakt, że opisane w niej wyniki badań dotyczą aż 10-ciu ras będących reprezentujących różne typy użytkowe, w tym czterech ras objętych programem ochrony zasobów genetycznych, co z pewnością ułatwi monitorowanie zmian w strukturze populacji oraz zarządzanie zasobami genetycznymi. Z pewnością będzie to cytowana pozycja literatury naukowej. Zakres przeprowadzonych analiz świadczy o dużej wiedzy merytorycznej oraz opanowaniu nowoczesnych technik analitycznych mgr. Igora Jasielczuka. Wymienione w recenzji nieliczne uwagi mają wyłącznie charakter dyskusyjny i nie obniżają ogólnej, pozytywnej oceny merytorycznej opracowania.

Wniosek końcowy

Oceniając wysoko poziom naukowy, oryginalność i przydatność praktyczną uzyskanych wyników stwierdzam, że praca doktorska mgr Igora Jasielczuka pt. **Wykorzystanie markerów SNP do identyfikacji przynależności rasowej** była spełnia wymogi określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, z 2003 r., poz. 595 z póź. zmianami) oraz w przepisach wprowadzającym ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z póź.zm.). Dlatego zgłaszam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Zootechniki PIB w Krakowie o przyjęcie pracy mgr Igora Jasielczuka bez zastrzeżeń i dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy stosowną nagrodą.

Prof. dr hab. Urszula Czarnik