

prof. dr hab. Zenon Nogalski  
Wydział Bioinżynierii Zwierząt  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
Katedra Hodowli Bydła i Oceny Mleka

Olsztyn 2018-01-19

### Ocena

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Anny Balakowskiej pt. „Wpływ polimorfizmu genów  
CAST, CAPN1 i MSTN na jakość mięsa wołowego”

wykonanej w Zakładzie Hodowli Bydła Instytutu Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu  
Rolniczego w Krakowie pod kierunkiem dr hab. inż. Andrzeja Węglarza  
i promotora pomocniczego dr inż. Dominiki Kułaj.

Recenzja została wykonana na wniosek Rady Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt  
Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z dnia 29 kwietnia 2015 roku,  
zgodnie z wymaganiami art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule  
naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r, Nr 65, poz. 595;  
Dz.U. z 2005 r, Nr 164 poz. 1365 oraz Dz.U. z 2011 r. Nr 84 poz. 455).

Polska należy do krajów o dużym potencjale produkcji mięsa wołowego. W Unii  
Europejskiej produkcja krajowa stanowi 6% a na przykład Francji 19%, czy Niemców 14%.  
Statystyczny Polak zjada zaledwie 1,5 kg wołowiny rocznie a ponad 85% naszej produkcji  
trafia na eksport. Uzyskujemy za nią 80-85% średnich cen europejskich. Jest to efekt niskiej  
jakości oferowanej wołowiny. Pozyskiwana jest ona głównie w stadach mlecznych, w których  
wołowina jest produktem ubocznym. Bydło mięsne, czyli tzw. stada nie dojone stanowią  
zaledwie 7% populacji bydła w Polsce.

W stadach mięsnych objętych oceną użytkowania zbierane są głównie dane dotyczące  
tempa wzrostu i rozrodu, co umożliwia prowadzenie pracy hodowlanej w tym zakresie. Cechy  
określające wartość rzeźną i jakość mięsa najlepiej ocenić poubojowo. W przyzyciowym  
szacowaniu wykorzystuje się pomiary zoometryczne i ultrasonograficzne. Ocena stacyjna na  
podstawie użytkowania potomstwa, ze względu na wysoki koszt traci na znaczeniu. W wielu

populacjach bydła mięsnego na świecie wprowadza się obecnie ocenę genomową. Jest ona szczególnie cenna w odniesieniu do cech jakości mięsa, ze względu na ich niską odziedziczalność i fakt, że jakość mięsa uwarunkowana jest poligenicznie, czyli odpowiada za nią wiele genów. Zadaniem do rozwiązania jest obecnie poszerzenie wiedzy o genach i regionach chromosomów powiązanych z cechami pożądanymi w mięsnym użytkowaniu bydła. Wiele zespołów badawczych próbuje znaleźć rozwiązanie na poziomie molekularnym, poprzez wskazanie nośników genetycznych odpowiedzialnych za ekspresję określonych cech. W badania te wpisuje się przedłożona mi do recenzji praca Pani mgr inż. Anny Balakowskiej, w której Autorka podejmuje się oceny związku polimorfizmu genów CAST, CAPN1 i MSTN z cechami określającymi jakość mięsa wołowego.

## CHARAKTERYSTYKA PRACY I UWAGI

Praca napisana jest na 102 stronach, zawiera 29 tabel i 9 rycin. Układ pracy, obejmujący numeracją również wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo, skonstruowany w oparciu o 9 części, jest typowy dla tego typu prac naukowych. Formalna strona pracy nie budzi zastrzeżeń.

Na 19 stronach zamieszczono WSTĘP, który w rzeczywistości powinien nazywać się WSTĘPEM i PRZEGLĄDEM PIŚMIENNICTWA. W pierwszej części tego rozdziału Autorka charakteryzuje uwarunkowania produkcji mięsa wołowego w Polsce, jego spożycie, perspektywy rozwoju chowu i hodowli bydła mięsnego oraz możliwości eksportu. W dalszej części pracy Doktorantka omówiła w syntetyczny sposób wpływ wybranych czynników na wartość rzeźną i jakość mięsa. Następnie Pani mgr inż. Anna Balakowska charakteryzuje stan wiedzy na temat zależności między polimorfizmami występującymi w obrębie genów CAPN1, CAST i MSTN a cechami użytkowości mięsnej i jakości mięsa bydła różnych ras. Na podstawie licznych badań, głównie prowadzonych w innych krajach wykazano, że zróżnicowanie alleliczne genów CAPN1 i CAST wiązało się głównie z kruchością mięsa, natomiast polimorfizm genu MSTN miał wpływ na występowanie hipertrofii mięśniowej i niektórych cech wartości rzeźnej.

Uwagi:

- Podano m.in., że bydło mięsne stanowi poniżej 1% ogółu pogłowia. Tak jest, jeśli uwzględnimy wyłącznie populację aktywną krów ras mięsnych oraz mieszańców mięsnych. W rzeczywistości bydło mięsne utrzymywane w tzw. stadach nie dojonych stanowi 7-8% populacji bydła w Polsce.



W rozdziale UZASADNIENIE BADAŃ I CELE PRACY Autorka zgodnie z przedstawionym i omówionym w poprzednim rozdziale piśmiennictwem, w sposób jasny i czytelny sformułowała cele pracy, które już w tytule dysertacji w skróconej formie zostały ujęte. Celem niniejszej pracy była analiza polimorfizmów w obrębie genów: CAPN1, CAST i MSTN oraz analiza ich związku z mikrostrukturą *musculus longissimus thoracis* (MLT) i cechami jakości mięsa wołowego takimi jak: tekstura, marmurkowatość, barwa, pH, udział poszczególnych rodzajów włókien oraz ocena organoleptyczna. Uzasadnieniem do podjęcia tych badań, zdaniem Autorki, jest fakt, że niewiele prac z tego zakresu dotyczyło bydła hodowanego w Polsce, a zwłaszcza rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. Ponadto, dotychczasowe prace nie zawsze obejmowały analizy wszystkich istotnych cech warunkujących jakość wołowiny.

W części metodycznej na 18 stronach podano szczegółowy zakres badań, omawiając kolejne ich etapy. Nie budzą zastrzeżeń podrozdziały opisujące: dobór materiału zwierzęcego, analizę cech mięśni, analizę polimorfizmu genów CAPN1, CAST i MSTN oraz zastosowane metody w statystycznym opracowaniu wyników. Na podkreślenie zasługuje duża pracowitość przeprowadzonych badań oraz konieczność opanowania nowoczesnych metod analitycznych.

Uwagi:

- Zbyt ogólnikowo opisano analizę wycieku termicznego (s. 27). Nie podano: rodzaju obróbki termicznej, wielkości próbek, czasu trwania.
- Brak informacji na temat sposobu przygotowania prób do oceny sensorycznej mięsa. W tabeli 5, na stronie 27, gdzie podano zasady punktowania w ocenie organoleptycznej wg Baryłko-Pikelnej (1975), odwrócono skalę. Wg tabeli 5 jeden punkt oznacza najwyższy poziom jakości. Jest odwrotnie: najwyższy poziom jakości oznacza 5. Tak jest również wg PN-ISO 4121:1998 (Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania) – najwyższe noty w skali wykorzystuje się dla oznaczenia najwyższej jakości lub intensywności.

Rozdział WYNIKI I DYSKUSJA zamieszczono na 32 stronach i składa się on z dwóch zasadniczych podrozdziałów, a każdy z nich z trzech części odpowiadających poszczególnym genom. W pierwszym podrozdziale scharakteryzowano frekwencje alleli i częstość występowania genotypów a w drugim oceniono wpływ genotypu na cechy mięsa. W

tym miejscu chciałbym zaznaczyć, że w rozdziale wyniki i dyskusja należało raczej zachować układ zastosowany w części metodycznej pracy. Prezentację wyników rozpocząć od przedstawienia oceny mięsa, następnie wyników analizy polimorfizmów w obrębie genów i na końcu analizy ich związku z cechami jakościowymi mięsa.

Doktorantka analizując frekwencję wariantów polimorficznych, w badanej populacji buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej oraz mieszańców tej rasy z rasami mięsnymi wykazała zróżnicowanie genetyczne w trzech analizowanych loci genów: CAPN1, CAST oraz MSTN, natomiast u rasy simentalskiej, polimorfizm zidentyfikowano tylko w odniesieniu do genów CAST i MSTN. W loci genu CAPN1 stwierdzono występowanie dwóch alleli: C oraz T, z tym że allel T występował bardzo nielicznie, a w przypadku rasy SM nie wykazano jego obecności w badanej populacji zwierząt. U pozostałych grup rasowych frekwencja allelu T wynosiła od 0,071 u SM×HO do 0,146 u LM x HO. W przypadku genu CAST stwierdzono występowanie dwóch alleli: G oraz C we wszystkich sześciu badanych grupach rasowych zwierząt. Frekwencja allelu G wynosiła od 0,50 u mieszańców SM x HO do 0,778 u mieszańców CH x HO. Najczęściej występował genotyp GG: od 0,428 u SM x HO do 0,667 u CH x HO.

Uwagi:

- W przypadku testów PCR-RFLP Atorka powinna podać jakiej wielkości fragmenty PCR powstają dla każdego genotypu, np. AA – 300 pz, CC – 180 pz i 120 pz, a AC – 300, 180 i 120 pz (Ryc. 9-11). Dobrze widziana byłaby również rycina przedstawiająca teoretyczny wzorzec genotypowania przedstawiający ilość oraz wielkość poszczególnych fragmentów PCR w żelu agarowym, aby porównać go z uzyskanym obrazem elektroforezy. Ponadto na prezentowanych obrazach brakuje kontroli – nietrawionego produktu PCR.

W drugiej części rozdziału WYNIKI I DYSKUSJA Doktorantka wykazała wpływ wybranych wariantów polimorficznych na fenotypową wartość niektórych cech mięśnia *longissimus thoracis*. W odniesieniu do genu CAST u obu badanych ras mięso osobników o genotypie GG charakteryzowało się istotnie lepszym natężeniem smaku niż mięso buhajków o genotypie GC. Ponadto u buhajków rasy HO, na podstawie pomiaru siły cięcia stwierdzono korzystny wpływ genotypu GG na kruchość mięsa.

Uwagi i pytania:



- Mięso buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, niezależnie od genotypu, charakteryzowało się bardzo wysoką wartością pH. Czym to było spowodowane? Czy nie popełniono błędów podczas oznaczania pH?

Zasadniczą część pracy zakończono rozdziałem STWIERDZENIA I WNIOSKI, w którym Autorka w pięciu punktach obiektywnie podsumowała przeprowadzone badania oraz sformułowała jeden wynikający z nich wniosek. Wniosek dotyczy genu CAST i podaje, że ze względu na zróżnicowanie genetyczne w obrębie badanego locus, należy kontynuować badania nad wpływem polimorfizmu tego genu na cechy użytkowości mięsnej a szczególnie na jakość mięsa, co ewentualnie w przyszłości zostanie wykorzystane w selekcji bydła.

Wykaz piśmiennictwa obejmuje łącznie 220 pozycji, w tym 3 to źródła internetowe. W większości są to prace wydane w języku angielskim. Dobór literatury, zarówno pod względem przedmiotowego zakresu jak i poziomu wydawnictw jest właściwy.

Podsumowując stwierdzam, że praca pomimo pewnych moich uwag, jest wartościowym opracowaniem z poznawczego i użytecznego punktu widzenia. Porusza aktualną i potrzebną w doskonaleniu bydła mięsnego problematykę. Szeroki zakres zebranych danych dotyczył licznych materiałów, a jego uzyskanie i opracowanie wymagało opanowania bardzo trudnego warsztatu badawczego. Doktorantka wykazała się dobrą znajomością nowoczesnych metod analitycznych stosowanych w badaniach zootechnicznych. Praca została napisana zgodnie z wymogami stawianymi rozprawom doktorskim.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca autorstwa Pani mgr inż. Anny Balakowskiej spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Biorąc powyższe pod uwagę, wnoszę do Rady Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr inż. Anny Balakowskiej do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim i publicznej obrony pracy.

Z poważaniem

