
AUTOREFERAT

OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

Dr Hanna Kulig

Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie

1 DANE KONTAKTOWE

Dr Hanna Kulig

Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Al. Piastów 45, 70-311 Szczecin

E-mail – hanna.kulig@zut.edu.pl

Tel: +48914996781

2 POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE

02.07.1996 r. – uzyskanie stopnia magistra biologii

Miejsce: Uniwersytet Szczeciński, Wydział Nauk Przyrodniczych, Katedra Genetyki

Tytuł pracy: Analiza cytogenetyczna i cytofotometryczna odmian *Lolium perenne* L. i *L. hybridum*

Hauskn. ze Stacji Hodowli Roślin w Marchwaczu

Promotor: dr hab. Roman Zieliński, prof. nadzw.

12.11.2003 r. – uzyskanie stopnia doktora nauk rolniczych w zakresie zootechniki

Miejsce: Akademia Rolnicza w Szczecinie, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt

Tytuł pracy: Polimorfizm w genie leptyny oraz możliwości wykorzystania jego wariantów w doskonaleniu cech użytkowości mlecznej bydła

Promotor: dr hab. Marek Kmiec, prof. nadzw.

3 INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

Miejsce: Akademia Rolnicza w Szczecinie (od 01.01.2009 – Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie), Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt

Stanowiska:

01.02.1997 – 31.04.2004 – asystent

od 01.05.2004 – adiunkt

4 OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE (zgodnie z art. 15 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki – Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

Podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego stanowi osiągnięcie pod tytułem „**Analiza polimorfizmu w genach kandydujących w aspekcie przydatności w doskonaleniu cech użytkowości mlecznej bydła**”, udokumentowane jednotematycznym cyklem następujących publikacji:

	Publikacja	IF	P
H1	Kulig H. , Kmiec M., Kowalewska-Łuczak I., Andziak G., Effect of leptin gene polymorphisms on milk production traits of Jersey cows, <i>Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences</i> , 2009, 33(2), 143-146 Indywidualny wkład (75%): sformułowanie hipotezy badawczej, zaplanowanie badań, udział w przygotowaniu bazy danych do analizy statystycznej, optymalizacja testów molekularnych, wiodący udział w izolowaniu DNA i przeprowadzeniu badań laboratoryjnych, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku	0,342	10 (20)
H2	Kulig H. , Kmiec M., Wojdak-Maksymiec K., Associations between leptin gene polymorphisms and somatic cell count in milk of Jersey cows, <i>Acta Veterinaria Brno</i> , 2010, 79(2), 237-242 Indywidualny wkład (75%): sformułowanie hipotezy badawczej, zaplanowanie badań, udział w przygotowaniu bazy danych do analizy statystycznej, optymalizacja testów molekularnych, wiodący udział w izolowaniu DNA, przeprowadzenie badań laboratoryjnych, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku	0,534	27 (20)
H3	Kulig H. , Kowalewska-Łuczak I., Kmiec M., Wojdak-Maksymiec K., <i>ANXA9, SLC27A3, FABP3 and FABP4</i> single nucleotide polymorphisms in relation to milk production traits in Jersey cows, <i>Czech Journal of Animal Science</i> , 2010, 55(11), 463-467 Indywidualny wkład (70%): sformułowanie hipotezy badawczej, zaplanowanie badań, udział w przygotowaniu bazy danych do analizy statystycznej, optymalizacja testów molekularnych, wiodący udział w izolowaniu DNA, przeprowadzenie badań laboratoryjnych, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku	1,190	20 (25)
H4	Kulig H. , Kowalewska-Łuczak I., Kmiec M., Effect of <i>SCD</i> SNPs on milk production traits of Jersey cows (Brief Report), <i>Archiv für Tierzucht</i> , 2010, 53(1), 116-118 Indywidualny wkład (75%): sformułowanie hipotezy badawczej, zaplanowanie badań, udział w przygotowaniu bazy danych do analizy statystycznej, optymalizacja testu molekularnego, wiodący udział w izolowaniu DNA, przeprowadzenie badań laboratoryjnych, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku	0,519	20 (20)
H5	Kulig H. , Kowalewska-Łuczak I., Żukowski K., Kruszyński W., <i>FABP3, FABP4 and ANXA9</i> SNP genotypes in relation to breeding values for milk production traits in Polish Holstein-Friesian cows, <i>Russian Journal of Genetics</i> , 2013, 49(8), 852–856 Indywidualny wkład (65%): sformułowanie hipotezy badawczej, zaplanowanie badań, udział w pozyskaniu materiału badawczego, wiodący udział w przygotowaniu bazy danych do analizy statystycznej i izolowaniu DNA, opracowanie i/lub optymalizacja testów molekularnych, przeprowadzenie badań laboratoryjnych, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku	0,427	15 (15)

H6	Kulig H. , Kowalewska-Łuczak I, Żukowski K., Kunicka M., <i>SCD1</i> SNP in relation to breeding value of milk production traits in Polish Holstein-Friesian cows, <i>Acta Scientiarum Polonorum, Zootechnica</i> , 2013, 12 (1), 41-48 Indywidualny wkład (70%): sformułowanie hipotezy badawczej, zaplanowanie badań, udział w pozyskaniu materiału badawczego, wiodący udział w przygotowaniu bazy danych do analizy statystycznej i izolowaniu DNA, opracowanie i/lub optymalizacja testów molekularnych, przeprowadzenie badań laboratoryjnych, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku		6 (6)
H7	Kulig H. , Kowalewska-Łuczak I, Żukowski K., Kunicka M., Kruszyński W., <i>SLC27A1</i> SNPs in relation to breeding value of milk production traits in Polish Holstein-Friesian cows, <i>Animal Science Papers and Reports</i> , 2013,31 (4), 273-279 Indywidualny wkład (65%): sformułowanie hipotezy badawczej, zaplanowanie badań, udział w pozyskaniu materiału badawczego, wiodący udział w przygotowaniu bazy danych do analizy statystycznej i izolowaniu DNA, opracowanie i/lub optymalizacja testów molekularnych, przeprowadzenie badań laboratoryjnych, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku	0,918	25 (25)
Ogółem		3,930	118 (131)

IF – Impact Factor wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania;

P – liczba punktów wg wykazu czasopism punktowanych MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania (w nawiasach punktacja z dnia 17.12.2013)

Oświadczenia współautorów przedstawionych wyżej prac naukowych wraz z określeniem ich indywidualnego udziału wykazano w załączniku 7.

4.1 WPROWADZENIE I CEL NAUKOWY

Celem programów hodowlanych jest uzyskanie postępu genetycznego dla cech o znaczeniu ekonomicznym. Celem hodowców jest określenie, które cechy wymagają poprawienia i opisanie względnej ważności każdej z tych cech. Cechami podlegającymi ciągłemu doskonaleniu u bydła mlecznego są, z racji kierunku użytkowania, wydajność i jakość mleka, przy czym szczególny nacisk kładzie się na poprawę jego jakości. Białko i tłuszcz zawarte w mleku mają bowiem duży wpływ na odżywcze, technologiczne i sensoryczne właściwości mleka oraz powstałych z niego produktów. Dużą uwagę przywiązuje się także do monitorowania i obniżania liczby komórek somatycznych w mleku; należy przy tym uwzględnić, żeby nie zostały przekroczone granice uważane za fizjologiczne (25-50 tysięcy w 1 ml). Podwyższona ilość komórek somatycznych w mleku towarzyszy zapaleniu wymienia, które przyczynia się do strat ekonomicznych w przemyśle mleczarskim. Powoduje obniżenie wydajności mleka oraz zmianę jego składu, a także wiąże się z ponoszeniem nakładów na leczenie zwierząt.

Cechy związane z użytkowaniem mlecznym bydła, jak większość biologicznie i ekonomicznie istotnych cech zwierząt gospodarskich, są cechami ilościowymi. Ich zmienność jest kontrolowana przez wiele *loci* (tzw. *loci* cech ilościowych – QTLs, quantitative trait *loci*), z których każde jest odpowiedzialne za część ogólnej zmienności, aczkolwiek udział niektórych z nich może być bardziej znaczący w porównaniu z innymi. Zidentyfikowanie *loci* z dużym efektem może ułatwić wytłumaczenie zmienności w zakresie analizowanych cech użytkowych i stanowić dodatkową informację, która mogłaby być włączona do programów tradycyjnej selekcji materiału hodowlanego.

Dostępność narzędzi molekularnych oraz rozwój wysyconych map markerowych, jak również potencjalna korzyść badań genomu dla postępu genetycznego, prowadziły do licznych eksperymentów mających na celu wykrywanie QTL. W przypadku bydła o mlecznym kierunku użytkowania największy nacisk położono na wykrycie QTL odpowiedzialnych za produkcję mleka oraz procesy fizjologiczne, które mogą oddziaływać na cechy użytkowości mlecznej. W efekcie wielu badań, QTL dla cech użytkowości mlecznej zmapowano w każdym autosomie bydła, przy czym najwięcej w 6 i 14 [Ogorevc i wsp. 2009]. Dużą popularność zdobyło podejście zmierzające do identyfikacji mutacji w genach kandydujących. Geny te mogą być wybierane na podstawie zaangażowania ich produktów w rozwój lub fizjologię interesujących cech (funkcjonalne geny kandydujące) lub spośród sąsiadujących z wcześniej zidentyfikowanymi *loci* cech ilościowych (pozycyjne geny kandydujące). Takie podejście ułatwia odkrywanie i lokalizowanie genów o dużym efekcie (a w szczególności mutacji funkcjonalnych w ich obrębie) dla cech ilościowych.

Strategię genów kandydujących stosuje się w odniesieniu do różnych genów, których produkty mogą mieć wpływ na kształtowanie cech użytkowych bydła. U bydła mlecznego intensywnie analizuje się m.in. geny kodujące białka mleka (np. α S1-kazeinę), niektóre hormony (np. leptynę, hormon wzrostu), czy też czynniki transkrypcyjne (np. PIT-1). Stwierdzono statystycznie istotne zależności między polimorfizmem w tych genach a cechami użytkowości mlecznej. Innymi genami kandydującymi, które cieszą się dużym zainteresowaniem są geny kodujące enzymy związane z metabolizmem kwasów tłuszczowych. Jednym z takich genów jest *DGAT1*, którego produkt, acylotransferaza diacyloglicerolowa 1, katalizuje ostatni etap syntezy triglicerydów. W obrębie genu *DGAT1* zidentyfikowano SNP skutkujący niekonserwatywnym podstawieniem lizyny alaniną w pozycji 232 (K232A) polipeptydu i stwierdzono w zbadanych populacjach bydła mlecznego, że ma ono silny wpływ na cechy użytkowości mlecznej. Wykazano, że wariant K związany jest ze zwiększeniem wydajności i zawartości tłuszczu w mleku, natomiast A – ze zwiększeniem wydajności mleka [np. Komisarek i wsp. 2004]. Dlatego gen *DGAT1* rozpatrywany jest jako gen o dużym efekcie. Lista badanych genów kandydujących, które analizowane są ze względu na pełnioną przez ich produkty funkcję, obejmuje także geny kodujące białka wiążące oraz transportujące kwasy tłuszczowe, a także wiele innych. Badania te są jednak w wielu przypadkach na początkowym etapie.

Wśród szerokiej gamy genów, które mogłyby ułatwić wytłumaczenie zmienności cech użytkowości mlecznej bydła, a przez to okazać się przydatne we wczesnej selekcji bydła mlecznego, na szczególne zainteresowanie mogą zasługiwać geny kodujące leptynę, desaturazę stearoilo-CoA, białka wiążące kwasy tłuszczowe 3 i 4, białka transportujące kwasy tłuszczowe (SLC27A1 i SLC27A3) oraz aneksynę A9.

Leptyna jest hormonem polipeptydowym produkowanym głównie przez komórki tłuszczowe. Bierze udział w utrzymaniu bilansu energetycznego poprzez regulację pobierania pokarmu i wydatkowania energii. Zaangażowana jest w metabolizm glukozy i lipidów. Znany jest także udział leptyny w działaniu układu odpornościowego. Ponadto, wpływa na funkcjonowanie układu wewnątrzwydzielniczego i procesy związane z reprodukcją [Houseknecht i wsp. 1998]. Uważa się, że leptyna może informować podwzgórze o wystarczających rezerwach energii na potrzeby dojrzewania płciowego i reprodukcji, co może zagwarantować skuteczną ciążę i laktację [McFadin i wsp. 2002]. Głównym miejscem ekspresji genu leptyny i syntezy leptyny jest biała tkanka tłuszczowa. Mniejsze ilości leptyny są także syntetyzowane w gruczole mlekowym w czasie laktacji. Leptyna produkowana w gruczole mlekowym jest wydzielana do mleka, co stwierdzono m.in. u bydła, owcy, człowieka, szczura czy myszy. Ekspresja genu leptyny i wydzielanie leptyny są regulowane harmonijnym współdziałaniem wielu hormonów, które są także zaangażowane w różnicowanie i czynność gruczołu mlekowego oraz laktację, a są to m.in.: estradiol, prolaktyna czy insulina. Wpływ ma również żywienie, a także neuroprzekaźniki i

cytokiny [Houseknecht i wsp. 1998]. Gen kodujący leptynę zmapowano w chromosomie 4 bydła [Stone i wsp. 1996], a w jego obrębie zidentyfikowano wiele miejsc polimorficznych [Pomp i wsp. 1997; Haegeman i wsp. 2000; Buchanan i wsp. 2002]. Niektóre polimorfizmy powiązano z cechami związanymi z użytkowaniem bydła mięsnego i mlecznego. Stwierdzono istotne zależności m.in. z zawartością tłuszczu w tuszy, stopniem marmurkowatości, średnim dobowym przyrostem masy ciała [Buchanan i wsp. 2002; Schenkel i wsp. 2005] u niektórych ras bydła mięsnego, a także wydajnością mleka i innymi cechami użytkowości mlecznej oraz cechami związanymi z reprodukcją [Liefers i wsp. 2002; Buchanan i wsp. 2003; Komisarek i Antkowiak 2007] u bydła o mlecznym kierunku użytkowania. Jednak w niektórych przypadkach wyniki są dość niejednoznaczne, a informacje na temat zależności między polimorfizmami a liczbą komórek somatycznych są bardzo ubogie.

W gruczole mlekowym przeżuwaczy stwierdzono ekspresję genów kodujących enzymy, które pełnią rolę w syntezie i przemianie kwasów tłuszczowych, a do których zaliczyć można m.in. desaturazę stearoilo-CoA (SCD). SCD jest kluczowym enzymem odpowiedzialnym za desaturację kwasów tłuszczowych w gruczole mlekowym i innych tkankach. Enzym ten wprowadza podwójne wiązanie cis między 9 a 10 węglem powodując przekształcenie średnio- i długołańcuchowych kwasów nasyconych w ich nienasycone odpowiedniki; przyczynia się to do utrzymania płynności mleka. Produkty powstające w efekcie aktywności SCD służą jako substraty do syntezy różnych lipidów [Ntambi i Myazaki 2004]. Inną konsekwencją działania SCD jest synteza cis-9 i trans-11 CLA z kwasu wakcenowego [Taniguchi i wsp. 2004]. Aktywność SCD w gruczole mlekowym jest jednym z czynników wpływających na proporcję nienasyconych kwasów tłuszczowych w mleku bydła [Jacobs i wsp. 2011]. W regulację aktywności SCD zaangażowane są m.in. leptyna i insulina [Biddinger i wsp. 2006]. W zmapowanym w chromosomie 26 bydła genie kodującym izoformę 1 SCD (*SCD1*) [Campbell i wsp. 2001] zidentyfikowano 3 SNP w obrębie 3'UTR [Jiang i wsp. 2008] oraz 3 SNP w eksonie 5 [Taniguchi i wsp. 2004]. Stwierdzono istotne zależności między polimorfizmem *g.10329C>T* a indeksem desaturacji i składem kwasów tłuszczowych w mleku [Mele i wsp. 2007; Schennink i wsp. 2008] oraz tuszy [Taniguchi i wsp. 2004; Li i wsp. 2011; Orru i wsp. 2011] różnych ras bydła. SNP z 3'UTR powiązano z grubością tłuszczu śródmięśniowego bydła wagi x limousin [Jiang i wsp. 2008]. Niewiele jest natomiast danych dotyczących analizy SNP w odniesieniu do cech użytkowości mlecznej bydła.

Składniki mleka syntetyzowane są w komórkach nabłonkowych gruczołu mlekowego z substratów pochodzących z osocza krwi. Substratami do syntezy lipidów są kwasy tłuszczowe, które wiążą się z odpowiednimi białkami (FABP – fatty acid binding proteins). FABP są rodziną małych cytoplazmatycznych białek, które wiążą długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LCFA) i inne hydrofobowe ligandy. Jak dotąd, zidentyfikowano 9 różnych członków tej rodziny białek,

FABP1-FABP9. Ich główne funkcje obejmują wychwytywanie, transport i metabolizm kwasów tłuszczowych. Są zaangażowane w transport kwasów tłuszczowych z błony cytoplazmatycznej do miejsc ich β -oksydacji, a także syntezy triglicerydów lub fosfolipidów. Białka FABP mogą modulować stężenie kwasów tłuszczowych w komórce i w ten sposób wpływać na różne procesy komórkowe, a szczególnie metabolizm lipidów [Roy i wsp. 2003; Michal i wsp. 2006]. Białka te są obecne w różnych tkankach z dużym zapotrzebowaniem na kwasy tłuszczowe, takich jak mięsień sercowy, mięśnie szkieletowe, gruczoł mlekowy w czasie laktacji czy tkanka tłuszczowa. W gruczole mlekowym stwierdzono wysoki poziom ekspresji genu kodującego białko FABP3, aczkolwiek wykazano także obecność białka FABP4. We wczesnym okresie laktacji, obserwuje się znaczące zwiększenie ekspresji FABP4 w bydlęcym gruczole mlekowym, jednak jest ona znacznie mniejsza w porównaniu z ekspresją FABP3. Stwierdzono, że FABP3 odgrywa najważniejszą rolę w syntezie tłuszczu w gruczole mlekowym bydła w porównaniu z innymi FABP. Gen FABP3 zmapowano w chromosomie 2 bydła i wykryto kilka SNP w obrębie sekwencji kodujących i niekodujących [Wu i wsp. 2005; Cho i wsp. 2008]. Analizowano zależności między niektórymi SNP a cechami tuszy bydła, jednak nie stwierdzono ich wpływu na powyższe cechy [Cho i wsp. 2008]. Gen FABP4 zmapowano w chromosomie 14 bydła [Michal i wsp. 2006] i zidentyfikowano w nim polimorfizmy typu SNP oraz insdel w obrębie promotora, eksonów, intronów i 5'UTR [Michal i wsp. 2006; Cho i wsp. 2008]. Stwierdzono statystycznie istotnie zależności między kilkoma SNP a cechami tuszy (ciężarem, stopniem marmurkowatości, grubością tłuszczu podskórnego, zawartością niektórych kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym) bydła mięsnego [Michal i wsp. 2006; Cho i wsp. 2008]. W przypadku obu genów nie znaleziono danych na temat analizy zależności między wariantami polimorficznymi a cechami użytkowości mlecznej bydła.

Transport kwasów tłuszczowych wspomagany jest przez specyficzne białka transportujące. Szczególną rolę pełni tu rodzina śródbłonowych białek SLC27 (solute carrier family 27; 27 rodzina nośników substancji rozpuszczonych), znana również jako FATP (fatty acid transport protein), złożona z 6 członków SLC27A1-6. Ich podstawową funkcją jest aktywowanie i ułatwienie transportu długołańcuchowych kwasów tłuszczowych przez błonę cytoplazmatyczną. Należące do tej rodziny białko SLC27A1 wykazuje aktywność enzymatyczną zbliżoną do syntetazy acylo-CoA [Hall i wsp. 2003]. Stymulowane przez insulinę przemieszczenie się SLC27A1 z wnętrza komórki do błony komórkowej, zbiega się ze zwiększonym wychwytem LCFA, co wskazuje na ważną rolę tego białka w utrzymaniu równowagi energetycznej. Badania prowadzone na SLC27A3 sugerują jego rolę w metabolizmie kwasów tłuszczowych w komórkach śródbłonka [Anderson i Stahl 2013]. Ciągłe nie uzyskano natomiast dowodów na jego rolę w transporcie kwasów tłuszczowych. Innym białkiem związanym z błoną cytoplazmatyczną jest aneksyna A9 (ANXA9), która należy do rodziny białek

wiążących fosfolipidy w sposób zależny od Ca^{+2} [Calvo i wsp. 2006]. Aneksyny pełnią różne funkcje w komórce, m.in. biorą udział w przetwarzaniu sygnału, endocytozie, transporcie pęcherzykowym, tworzeniu kanałów wapniowych, czy regulacji odpowiedzi zapalnej w cyklu komórkowym. ANXA9 uznana jest za szczególnie białko w tej rodzinie, którego aktywność nie jest regulowana przez Ca^{+2} . Ekspresję genów *SLC27A1*, *SLC27A3* oraz *ANXA9* stwierdzono w różnych tkankach, szczególnie w tych, które charakteryzuje gwałtowny metabolizm kwasów tłuszczowych, m.in. w tkankach gruczołu mlekowego w czasie laktacji [Calvo i wsp. 2006; Ordovals i wsp. 2006]. Geny kodujące ANXA9 i SLC27A3 zmapowano w chromosomie 3 bydła, a gen *SLC27A1* w chromosomie 7. W obrębie każdego z tych genów zidentyfikowano miejsca polimorficzne, w obrębie sekwencji kodujących i niekodujących [Calvo i wsp. 2006]. Martinez-Royo i wsp. [2010] analizowali zależności między polimorfizmem w genie *ANXA9* oraz *SLC27A3* a cechami użytkowości mlecznej bydła i jest to prawdopodobnie jedyna dostępna publikacja z tego zakresu badań. Polimorfizm w genie *SLC27A1* w odniesieniu do cech użytkowości mlecznej bydła analizowany był natomiast przez Ordovals i wsp. [2008] oraz Lv i wsp. [2011], odpowiednio u bydła ras holsztyńsko-fryzyjskiej i chińskiej holsztyńskiej.

Rola biologiczna białek kodowanych przez omawiane geny, obecność transkryptów w gruczole mlekowym, jak również lokalizacja chromosomowa, wskazują na zasadność rozpatrywania ich w kategorii genów kandydujących dla cech związanych z użytkowaniem mlecznym bydła. Wyniki prac dotyczących analizy zależności między polimorfizmem w omawianych genach a cechami użytkowości mlecznej są w niektórych przypadkach niejednoznaczne, w niektórych natomiast brak dostępnych wyników z tego zakresu lub jest ich niewiele i dotyczą innych ras bydła. W celu zweryfikowania istniejącej wiedzy na ten temat oraz jej uzupełnienia podjęte zostały badania, w ramach których:

- oszacowano frekwencje alleli i genotypów SNP zlokalizowanych w genach: *LEP*, *FABP3*, *FABP4*, *ANXA9*, *SLC27A1*, *SLC27A3* i *SCD1* w stadach krów rasy jersey (181 osobników) oraz polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej (975 osobników);
- analizowano zależności między genotypami a wartością cech użytkowości mlecznej (wydajność mleka, wydajność białka, wydajność tłuszczu, zawartość białka i zawartość tłuszczu), liczbą komórek somatycznych w mleku oraz wartością hodowlaną dla cech użytkowości mlecznej krów należących do wyżej wymienionych ras.

W badaniach uwzględniono następujące miejsca polimorficzne:

- gen *LEP* – *g.1180C>T* (*LEP/KpnI*, R4C, R25C) w eksonie 2, *g.2059C>T* (*LEP/Sau3AI*) w intronie 2, *g.3100T>C* (*LEP/HphI*, A59V, A80V) w eksonie 3 (U50365.1) opisane odpowiednio przez Buchanan i wsp. [2002], Pomp i wsp. [1997] i Haegeman i wsp. [2000];
- gen *SCD1* – *g.10153G>A* i *g.10329C>T* w eksonie 5 (AY241932) opisany przez Taniguchi i wsp. [2004];
- gen *FABP3* – tranzycję *A>G* w regionie niekodującym [Wu i wsp. 2005] – (brak informacji na temat dokładnej lokalizacji);
- gen *FABP4* – *g.7516G>C* w sekwencji niekodującej (AAGC01136716) opisany przez Michal i wsp. [2006];
- gen *SLC27A1* – *g.14996C>G* w eksonie 3, *g.14791C>T* w eksonie 4 i *g.14589A>G* w eksonie 5 (AAFC03051286) opisane przez Ordovas i wsp. [2008];
- gen *SLC27A3* – *2566C>T* w eksonie 10 (AY995157) opisany przez Calvo i wsp. [2006];
- gen *ANXA9* – *951A>G* w eksonie 3 (AY785287) opisany przez Calvo i wsp. [2006].

Genotypy oznaczane były w oparciu o metodyki dostępne w literaturze, aczkolwiek dokonywane były pewne modyfikacje w celu zoptymalizowania procedur. W przypadku polimorfizmu w genach *ANXA9*, *SLC27A1* i *SLC27A3* dopasowano odpowiednie enzymy restrykcyjne i zaprojektowano startery w oparciu o sekwencje dostępne pod wyżej wymienionymi numerami akcesyjnymi. Analiza statystyczna przeprowadzona została przy użyciu programów: Statistica wersja 7.1 oraz SAS wersja 9.3. Dane użytkowe pochodziły z dokumentacji hodowlanej stad prowadzonej w ramach kontroli użytkowości.

4.2 UZYSKANE WYNIKI

(H1) W stadzie 181 krów rasy jersey analizowano polimorfizmy A59V oraz *LEP/Sau3AI* w genie leptyny w odniesieniu do cech użytkowości mlecznej. Frekwencje genotypów i alleli były następujące: A59V *CC* – 0,52, *CT* – 0,40, *TT* – 0,08, *C* – 0,72, *T* – 0,28; *LEP/Sau3AI* *CC* – 0,30, *CT* – 0,57, *TT* – 0,13, *C* – 0,59, *T* – 0,41. W badaniach wykazano statystycznie istotne różnice w wydajności mleka ($P \leq 0,05$), białka ($P \leq 0,05$) i tłuszczu ($P \leq 0,01$) między krowami z różnymi genotypami A59V. Krowy z genotypem *TT* charakteryzowały się istotnie mniejszymi wartościami tych cech niż krowy z genotypami *CC* i *CT*. Nie stwierdzono istotnych zależności między polimorfizmem *LEP/Sau3AI* a analizowanymi cechami. Jednak analizując łącznie obydwa polimorfizmy jako genotypy kombinowane A59V/*Sau3AI* stwierdzono istotne zależności między niektórymi genotypami a zawartością tłuszczu oraz sumą wydajności białka i tłuszczu. Istotnie mniejszą wartością ostatniej cechy charakteryzowały się krowy z genotypem *TT/CC* w porównaniu z krowami *CC/TT* oraz *CT/CC*.

(H2) W tym samym stadzie krów oszacowano zależności między polimorfizmem R4C oraz wyżej wymienionymi polimorfizmami (A59V oraz *LEP/Sau3AI*) a liczbą komórek somatycznych (SCC – somatic cell count) w mleku. Wykazano statystycznie istotne ($P \leq 0,01$, $P \leq 0,05$) zależności między genotypami R4C i *LEP/Sau3AI* rozpatrywanymi oddzielnie oraz genotypami kombinowanymi (R4C/A59V, R4C/*Sau3AI*, A59V/*Sau3AI*) a średnią wartością ln SCC. Największą ilością komórek somatycznych charakteryzowało się mleko krów z genotypami R4C-*TT*, *LEP/Sau3AI-CC* i *LEP/Sau3AI-CT*. Wyniki te potwierdziła analiza genotypów kombinowanych, w której wykazano istotnie większą wartość ln SCC u krów *TT/CC* niż krów z innymi genotypami R4C/*Sau3AI*. Nie stwierdzono istotnych zależności między polimorfizmem A59V a omawianą cechą, aczkolwiek polimorfizm ten rozpatrywany łącznie z pozostałymi wykazywał wpływ na liczbę komórek somatycznych w mleku. Krowy R4C/A59V *TT/CC* charakteryzowały się istotnie większą wartością ln SCC, a krowy A59V/*Sau3AI CT/TT* istotnie mniejszą niż osobniki z innymi genotypami.

(H3) Kolejne badania dotyczyły analizy SNP w genach *ANXA9*, *SLC27A3*, *FABP3* oraz *FABP4* w powiązaniu z cechami użytkowości mlecznej. W stadzie krów jersey częściej pojawiały się allele *ANXA9-A* (0,56), *FABP3-A* (0,76) i *FABP4-C* (0,95), natomiast w przypadku *SLC27A3* stwierdzono obecność jednego genotypu (*CC*). Wykazano istotne zależności między genotypami *ANXA9* a liczbą komórek somatycznych, a także między genotypami *FABP3* a zawartością tłuszczu i białka w mleku. Mleko krów z genotypem *ANXA9-GG* charakteryzowało się istotnie większą wartością ln SCC ($P \leq 0,01$), a krów z genotypem *FABP3-AA* istotnie większą zawartością białka ($P \leq 0,01$ i $P \leq 0,05$) i tłuszczu ($P \leq 0,01$) w porównaniu z mlekiem krów o innych genotypach. Nie stwierdzono istotnych zależności między polimorfizmem *FABP4* a rozpatrywanymi cechami, przy czym w stadzie nie zidentyfikowano osobników z genotypem *GG*.

(H4) W stadzie krów rasy jersey oszacowano także zależności między SNP w genie *SCD1* a cechami użytkowości mlecznej oraz liczbą komórek somatycznych. W przypadku polimorfizmu *g.10153G>A* częściej pojawiał się allel *A* (0,76), natomiast w przypadku polimorfizmu *g.10329C>T* – allel *C* (0,74). Nie stwierdzono istotnych zależności między badanymi polimorfizmami a cechami użytkowości mlecznej. Aczkolwiek genotypy *g.10329C>T* wpływały istotnie na liczbę komórek somatycznych. Krowy *TT* charakteryzowały się istotnie większą ($P \leq 0,01$) wartością ln SCC w porównaniu z krowami *CC* i *TC*.

(H5) Polimorfizm *g.10329C>T* w genie *SCD1* analizowany był również w stadzie krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej w aspekcie ewentualnego wpływu na wartość hodowlaną dla cech użytkowości mlecznej. Frekwencja częściej pojawiającego się allelu *C* wynosiła, podobnie jak w stadzie jersey, 0,74. Stwierdzono istotne zależności między genotypami a wartością hodowlaną dla zawartości tłuszczu ($P \leq 0,01$) i zawartości białka w mleku ($P \leq 0,01$). Istotnie większymi wartościami tych cech charakteryzowały się krowy z

genotypem *TT* w porównaniu z krowami *CC*. Jednak po zastosowaniu poprawki Bonferroni'ego istotne różnice utrzymały się jedynie w przypadku zawartości białka ($P \leq 0,01$).

(H6) W tym samym stadzie krów przeprowadzono także analizę zależności między polimorfizmem w genach *ANXA9*, *FABP3* oraz *FABP4* a wartością hodowlaną dla cech użytkowości mlecznej. Frekwencje częściej występujących alleli wynosiły *ANXA9*A* – 0,71, *FABP3*G* – 0,74 i *FABP4*C* – 0,75. Stwierdzono istotne zależności między polimorfizmem w genie *ANXA9* a wartością hodowlaną dla zawartości tłuszczu ($P \leq 0,01$), co potwierdzone zostało po poprawce Bonferroni'ego. Krowy z genotypem *GG* charakteryzowały się istotnie mniejszą wartością tej cechy niż krowy z innymi genotypami. W przypadku polimorfizmu w genie *FABP3* różnice w wartościach analizowanych cech między krowami należącymi do różnych grup genotypowych nie zostały potwierdzone statystycznie. Analizując polimorfizm w genie *FABP4* zaobserwowano obecność wszystkich genotypów, aczkolwiek frekwencja genotypu *GG* (niezaobserwowanego we wcześniejszych badaniach w stadzie jersey) była niewielka i wynosiła jedynie 0,04. Polimorfizm *FABP4* powiązano z cechami białka ($P \leq 0,01$ i $P \leq 0,05$), przy czym istotnie wyższą wartość hodowlaną dla wydajności i zawartości białka stwierdzono w mleku krów z genotypem *GG*. Po korekcie Bonferroni'ego istotne zależności potwierdziły się tylko w przypadku wartości hodowlanej dla zawartości białka w mleku ($P \leq 0,01$).

(H7) Badania prowadzone w stadzie krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej uzupełniono o analizę miejsc polimorficznych w genie *SLC27A1* w aspekcie ich ewentualnego wpływu na wartość hodowlaną dla cech użytkowości mlecznej. Frekwencje częściej występujących alleli były następujące: *G* – 0,80 (*g.14996C>G*), *T* – 0,64 (*g.14791C>T*) i *G* – 0,70 (*g.14589A>G*). Stwierdzono istotne zależności między genotypami *g.14791C>T* a wartością hodowlaną dla zawartości białka w mleku ($P \leq 0,01$). Istotnie większą wartością tej cechy charakteryzowały się krowy z genotypem *CC* w porównaniu z krowami *TT*, co potwierdzone zostało po poprawce Bonferroni'ego. Dwa pozostałe polimorfizmy nie wpływały istotnie na badane cechy.

4.3 ANALIZA UZYSKANYCH WYNIKÓW ORAZ ICH EWENTUALNE WYKORZYSTANIE

Analizowany w genie leptyny SNP *g.1180C>T* (*LEP/KpnI*) generuje niekonserwatywne podstawienie argininy cysteiną (R25C w syntetyzowanym polipeptydzie, R4C w dojrzałym białku), które może wpływać na strukturę trzeciorzędową i funkcję białka. Sugeruje się, że obecność cysteiny w helisie A może zakłócać wiązanie leptyny do receptora oraz wpływać na destabilizację mostka dwusiarczkowego. Co więcej, stwierdzono wyższy poziom mRNA leptyny u bydła homozygotycznego *TT* [Buchanan i wsp. 2002]. Przemawia to za funkcjonalnym efektem tego polimorfizmu, który stał się przedmiotem wielu badań. W badaniach prowadzonych na bydło ras

mlecznych częściej obserwowano allel *C*, co potwierdzone zostało w badanym stadzie rasy jersey (**H2**). Jednak uzyskiwano niejednoznaczne wyniki badań asocjacyjnych. Madeja i wsp. [2004] nie stwierdzili zależności między tym polimorfizmem a cechami związanymi z użytkowością mleczną u bydła rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. Natomiast Buchanan i wsp. [2003] powiązali genotyp *TT* z istotnie wyższą wydajnością mleka i białka krów rasy holsztyńskiej. Pojawiły się też prace analizujące polimorfizm w genie leptyny w odniesieniu do komórek somatycznych w mleku, których podwyższona ilość wiąże się ze zmianą jakości mleka i jest wskaźnikiem podklinicznej postaci zapalenia wymienia. Warto tu wspomnieć o wpływie leptyny na funkcjonowanie układu immunologicznego. Wykazano, że pośredniczy ona w proliferacyjnej oraz antyapoptotycznej aktywności limfocytów T i monocytów, a także przyczynia się do wydzielania prozapalnych cytokin. Stwierdzono również podwyższone stężenie leptyny we krwi w czasie infekcji i procesów zapalnych [Matarese i wsp. 2005]. Wyniki zaprezentowane w pracy **H2** sugerują istotny wpływ polimorfizmu R4C na liczbę komórek somatycznych w mleku krów rasy jersey i w chwili opublikowania były to prawdopodobnie pierwsze dane na ten temat u bydła tej rasy. Istotnie większą wartością ln SCC charakteryzowały się krowy z genotypem *TT* niż osobniki z innymi genotypami. Podobne wyniki uzyskali Buchanan i wsp. [2003] w badaniach prowadzonych w grupie krów rasy holsztyńskiej. Natomiast w równoległej opublikowanej pracy Komisarek i wsp. [2010] nie stwierdzono wpływu tego polimorfizmu na wartość hodowlaną dla SCS buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej.

Kolejny analizowany SNP *g.3100T>C (LEP/HphI)* skutkuje konserwatywnym podstawieniem alaniny waliną (A80V w syntetyzowanym polipeptydzie, A59V w dojrzałym białku), przy czym obydwie aminokwasy posiadają podobne niepolarne grupy alifatyczne. Zatem możliwość zmian strukturalnych białka wynikających z istnienia tego polimorfizmu wydaje się mało prawdopodobna. Można jednak przypuszczać, że SNP leży w bliskim sąsiedztwie innego polimorfizmu istotnie związanego z cechami użytkowości mlecznej bydła. Niewiele jest badań na temat QTL w chromosomie 4 bydła, zlokalizowanych w sąsiedztwie genu leptyny. Lindersson i wsp. [1998] wykryli jedynie QTL dla zawartości białka. Nie można jednak wykluczyć możliwego oddziaływania jeszcze nie odkrytych QTL w tym regionie na kształtowanie się cech użytkowości mlecznej bydła. W dostępnych danych literaturowych z zakresu analizy polimorfizmu A59V w genie leptyny w odniesieniu do cech użytkowości mlecznej, nie napotkano wyników dotyczących bydła rasy jersey. Stąd wyniki zaprezentowane w pracy **H1** można uznać za pierwsze z tego zakresu badań. W badanym stadzie krów jersey wykazano wyższą frekwencję allelu *C* (inna nazwa stosowana w literaturze to *A*) niż *T* (*B*) i generalnie znajduje to potwierdzenie w wynikach większości badań dotyczących tego polimorfizmu. W stadzie tym wykazano istotne zależności między polimorfizmem A59V a wydajnością mleka, białka i tłuszczu, przy czym mniejszymi wartościami tych cech charakteryzowały się krowy z genotypem *TT* niż krowy *CC* i *CT*. Natomiast

Liefers i wsp. [2002] nie wykazali istotnego wpływu tego polimorfizmu na cechy użytkowości mlecznej bydła rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. W badaniach prowadzonych przez Madeję i wsp. [2004] na buhajach rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej, istotnie większe wartości hodowlane dla wydajności mleka i białka stwierdzono u zwierząt z genotypem *TT*. W pracy **H2** nie wykazano istotnych zależności między polimorfizmem A59V a liczbą komórek somatycznych w mleku krów rasy jersey. Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi przez Komisarek i wsp. [2010] w odniesieniu do wartości hodowlanej dla SCS buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej.

Trzeci z badanych polimorfizmów w genie leptyny, *LEP/Sau3AI*, zlokalizowany jest w obrębie sekwencji intronowej. Może jednak wykazywać wpływ na ekspresję genów, m.in. poprzez oddziaływanie na wiązanie czynników transkrypcyjnych. Może również być zaangażowany w mechanizmy regulacyjne wykorzystujące elementy niekodujące genów. Ponadto, nie jest wykluczona możliwość sprzężenia z innym polimorfizmem kontrolującym cechy użytkowości mlecznej bydła. W badaniach dotyczących bydła mlecznego odnotowywano wyższą frekwencję allelu *C* (nazywanego też *A*) niż *T*, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi w stadzie krów rasy jersey, zaprezentowanymi w pracy **H1**. W pracy tej nie wykazano istotnych zależności między polimorfizmem *LEP/Sau3AI* a cechami użytkowości mlecznej krów rasy jersey. Podobnie, Madeja i wsp. [2004] nie powiązali genotypów z wartością hodowlaną dla cech użytkowości mlecznej buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. Liefers i wsp. [2002] stwierdzili natomiast zależność między tym polimorfizmem a cechami użytkowości mlecznej krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. Autorzy wykazali istotnie wyższą wydajność mleka i białka u osobników heterozygotycznych w porównaniu z krowami z genotypem *CC* (*AA*). Przeciwnie, w badaniach prowadzonych przez Zwierzchowskiego i wsp. [2002] nie stwierdzono istotnych zależności między polimorfizmem *LEP/Sau3AI* a dzienną wydajnością mleka, białka i tłuszczu. Stwierdzono natomiast, że istnieje zależność między genotypami a procentową zawartością tłuszczu i białka. Wyniki zaprezentowane w pracy **H2** sugerują istotny wpływ polimorfizmu *LEP/Sau3AI* na liczbę komórek somatycznych w mleku krów rasy jersey. U krów z genotypem *TT* stwierdzono istotnie mniejszą wartość *ln* SCC niż u osobników z innymi genotypami. Podobnie jak w przypadku polimorfizmu R4C, są to prawdopodobnie pierwsze dane na ten temat u bydła jersey. Również nie znaleziono w dostępnej literaturze danych dotyczących analizy tego polimorfizmu w odniesieniu do zawartości komórek somatycznych w mleku krów innych ras. Jak widać, w badaniach polimorfizmu w genie leptyny w odniesieniu do cech związanych z użytkowaniem mlecznym bydła obserwuje się pewne rozbieżności w wynikach uzyskiwanych przez różnych autorów. Tłumaczyć je mogą różne czynniki, w tym badana rasa, płeć osobników, liczba zwierząt, czy zastosowany model statystyczny. Utrudnia to interpretację wyników i wskazuje na potrzebę szerszych badań w tym zakresie.

Analizowana w pracach **H4** i **H5** tranzycja *g.10329C>T* w genie *SCD1* generuje podstawienie waliny alaniną (A293V) w kodowanym białku, a ściślej w jego trzecim regionie bogatym w histydynę. Tanigushi i wsp. [2004] sugerują możliwość zmiany aktywności katalitycznej enzymu w efekcie podstawienia aminokwasów. Jednak ze względu na ich właściwości, w tym na hydrofobowy charakter, wydaje się to mało prawdopodobne. Substytucja ta może jednak w inny sposób oddziaływać na ekspresję genu, czy też strukturę i funkcję białka. Gen *SCD1* zmapowano w chromosomie 26 byłą w sąsiedztwie QTL dla wydajności tłuszczu [Gautier i wsp. 2006]. Można przypuszczać, że analizowany SNP leży w bliskim sąsiedztwie innego polimorfizmu istotnie związanego z wydajnością tłuszczu, bądź niewykrytego jeszcze polimorfizmu wpływającego na inne cechy użytkowości mlecznej. W badanych stadach krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej i jersey wykazano wyższą frekwencję allelu *g.10329*C* i znajduje to potwierdzenie w wynikach innych badań dotyczących tego polimorfizmu. W pracy **H5** stwierdzono istotne zależności między polimorfizmem *g.10329C>T* a wartością hodowlaną dla zawartości białka i tłuszczu w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej. Jednak po korekcie Bonferroni'ego potwierdziły się wyniki dotyczące zawartości białka. Istotnie większą wartością tej cechy charakteryzowały się krowy z genotypem *TT* w porównaniu z krowami *CC*. Podobne wyniki uzyskali Alim i wsp. [2012] analizując cechy użytkowości mlecznej w grupie krów rasy chińskiej holsztyńskiej. Autorzy powiązali ponadto ten polimorfizm z wydajnością mleka, białka i tłuszczu, a największe wartości tych cech wykazane zostały u krów z genotypem heterozygotycznym. Stwierdzono także istotne zależności między powyższym polimorfizmem a wydajnością mleka i białka krów rasy włoskiej holsztyńskiej [Macciotta i wsp. 2008], a także wartością hodowlaną dla zawartości tłuszczu buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej [Komisarek i Dorynek 2009]. Największe wartości tych cech obserwowane były również u osobników z genotypem *TT*, aczkolwiek wyniki nie zostały potwierdzone po przeprowadzeniu korekty FDR (false discovery rate). W pracy **H4** nie potwierdzono wpływu polimorfizmu *g.10329C>T* na cechy użytkowości mlecznej w stadzie krów rasy jersey. Stwierdzono natomiast istotne zależności między genotypem a ilością komórek somatycznych w mleku, z istotnie mniejszą wartością ln SCC u osobników z obecnością allelu *C* w genotypie. Drugi z badanych SNP, *g.10153G>A*, nie wpływał istotnie na żadną z analizowanych cech. W dostępnym piśmiennictwie nie napotkano prac dotyczących analizy polimorfizmu w genie *SCD1* w odniesieniu do ilości komórek somatycznych w mleku, dlatego uzyskane wyniki można uznać za pierwsze. Wymagają jednak weryfikacji w badaniach prowadzonych na innych stadach bydła.

Analizowane w pracach **H3** i **H6** SNP w genach *FABP3* oraz *FABP4* umiejscowione są wprawdzie poza sekwencjami kodującymi oraz poza regionem promotora, jednak mogą wpływać na ekspresję genów, wiązanie czynników transkrypcyjnych bądź procesy składania

[Woolfe i wsp. 2010]. Mogą też wpływać na mechanizmy regulacyjne angażujące elementy niekodujące genów. Gen *FABP3* zmapowano w chromosomie 2 bydła, gdzie opisano QTL wpływające na wydajność i zawartość tłuszczu w mleku [Roy i wsp. 2003]. Gen *FABP4* zmapowano natomiast u bydła w chromosomie 14 [Michal i wsp. 2006], w regionie bogatym w QTL m.in. dla zawartości białka w mleku [Schnabel i wsp. 2005; Ogorevc i wsp. 2009]. Może być zatem sprzężony z funkcjonalnymi polimorfizmami dla tej cechy. W przypadku polimorfizmu w genie *FABP3*, stwierdzono istotne zależności między genotypem a zawartością białka i tłuszczu w mleku krów rasy jersey, przy czym największe wartości tych cech obserwowano u najliczniej reprezentowanych osobników z genotypem *AA* (**H3**). Nie powiązano natomiast tego polimorfizmu z wartością hodowlaną dla powyższych cech krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej (**H6**). Aczkolwiek, stwierdzono istotnie wyższą wartość hodowlaną dla wydajności tłuszczu u krów z genotypem *GG* w porównaniu z krowami *AG*. Co więcej, w stadzie tym częściej występował allel *G*, co okazało się zgodne z wynikami uzyskanymi u bydła wazy x limousin [Wu i wsp. 2005]. Powodem rozbieżności w uzyskanych wynikach może być badana rasa, różnice w liczebności stad, jak również zastosowany model statystyczny. Ponadto, analizowane cechy prezentowane były w wartościach fenotypowych bądź hodowlanych. W pracy **H6** wykazano również, że SNP w genie *FABP4* wpływał istotnie na wartość hodowlaną dla zawartości białka w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej. Największą wartością tej cechy charakteryzowały się krowy z genotypem *GG*. W pracy **H3** nie stwierdzono natomiast istotnych zależności między tym polimorfizmem a cechami użytkowości mlecznej i ilością komórek somatycznych w mleku krów rasy jersey. W stadzie tym nie stwierdzono również obecności krów z genotypem *GG*, co mogło wpłynąć na otrzymane wyniki. W obu badanych stadach stwierdzono wyższą frekwencję allelu *C*, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez Michal i wsp. [2006] u bydła wazy x limousin. Nie znaleziono w dostępnej literaturze danych na temat analizy tych polimorfizmów w odniesieniu do cech użytkowości mlecznej. Dlatego uzyskane wyniki wymagają weryfikacji poprzez włączenie do analizy innych stad bydła mlecznego.

W pracach **H3** i **H6** analizowany był polimorfizm w genach *ANXA9* oraz *SLC27A3*. Geny te zlokalizowane są w chromosomie 3 bydła [Roy i wsp. 2003] w rejonie, w którym wcześniej zmapowano QTL dla zawartości tłuszczu w mleku i innych cech związanych z użytkowością mleczną [Ogorevc i wsp. 2009], stąd są wskazane jako kandydujące dla tych cech. Zaprezentowane wyniki są pierwszymi, które dotyczą analizy SNP w tych genach w rodzimych stadach bydła. W przypadku polimorfizmu w genie *ANXA9* stwierdzono wyższą frekwencję allelu *A* u bydła rasy jersey i polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez Martinez-Royo i wsp. [2010] dotyczącymi bydła rasy hiszpańskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. Obecność tylko jednego genotypu *SLC27A3* stadzie bydła rasy jersey

(H3) mogła być spowodowana niedużą liczebnością stada, prowadzoną selekcją czy specyfiką rasy. Nie znaleziono danych dotyczących analizy tego polimorfizmu u bydła jersey, stąd trudno potwierdzić bądź wykluczyć powyższe potencjalne przyczyny takiej sytuacji. W pracy H6 powiązано polimorfizm w genie *ANXA9* z wartością hodowlaną dla zawartości tłuszczu krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, przy czym największą wartością tej cechy charakteryzowały się krowy heterozygotyczne. Martinez-Royo i wsp. [2010] wykazali natomiast istotne zależności między tym polimorfizmem a wydajnością tłuszczu w mleku krów rasy hiszpańskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, z największą wartością tej cechy u krów z genotypem *GG*. W pracy H3 nie wykazano wpływu tego SNP na cechy tłuszczu mleka krów rasy jersey. Stwierdzono jednak istotne zależności między genotypami a ilością komórek somatycznych w mleku. Istotnie niższą wartość ln SCC zaobserwowano u krów z genotypami *AA* oraz *AG* niż *GG*. Można rozważyć kilka przyczyn tej rozbieżności. Otóż, analiza dotyczyła różnych ras, stado krów jersey było dużo mniej liczne i zastosowano inny model statystyczny. Analizowany SNP umiejscowiony w obrębie sekwencji kodującej genu *ANXA9* (*A951G*) skutkuje semikonserwatywnym podstawieniem histydyny arginina (H84R) na poziomie polipeptydu. Zatem ta substytucja, prawdopodobnie nie wpływa znacząco na zmianę struktury białka, która mogłaby z kolei wiązać się z jego aktywnością [Martinez-Royo i wsp. 2010]. Analizowany SNP może być jednak sprzężony z innym polimorfizmem, który znacząco wpływa na kształtowanie się zawartości tłuszczu i ilości komórek somatycznych w mleku. Jego obecność może też oddziaływać na procesy związane z ekspresją genu czy potranslacyjną obróbką polipeptydu.

Analizowane w pracy H7 polimorfizmy eksonowe w genie *SLC27A1* mają charakter synonimiczny. Ich obecność może oddziaływać na składanie mRNA, na stabilność i strukturę transkryptów, a także na procesy związane z transkrypcją i obróbką potranslacyjną [Woolfe i wsp. 2010]. Podobnie jak w przypadku polimorfizmu w genach *ANXA9* oraz *SLC27A3*, uzyskane wyniki są pierwszymi, które dotyczą analizy SNP w genie *SLC27A1* w rodzimym stadzie bydła. Wyższe frekwencje alleli *g.14996*G*, *g.14791*T* i *g.14589*G* stwierdzone u bydła rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej, znajdują potwierdzenie w wynikach uzyskanych przez Ordovas i wsp. [2008] oraz Lv i wsp. [2011] u ras, odpowiednio holsztyńsko-fryzyjskiej i chińskiej holsztyńskiej. Wyniki zaprezentowane w pracy H7 wskazują na wpływ polimorfizmu *g.14791C>T* na wartość hodowlaną dla zawartości białka w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej, z istotnie większą wartością u krów z genotypem *CC*. Gen *SLC27A1* zlokalizowany jest w regionie chromosomu 7, w którym zmapowano QTL dla zawartości białka w mleku [Mosig i wsp. 2001], dlatego ten polimorfizm może być sprzężony z innym funkcjonalnym polimorfizmem dla tej cechy. W badaniach prowadzonych przez Lv i wsp. [2011] wartość hodowlana dla zawartości białka w mleku bydła chińskiego holsztyńskiego była także wyższa u osobników z genotypem *CC*, ale różnica nie była statystycznie istotna. Autorzy

powiązali natomiast SNP *g.14791C>T* z wartością hodowlaną dla wydajności mleka. Zwierzęta z genotypem *CC* charakteryzowały się istotnie większą wartością tej cechy niż osobniki o innych genotypach. Ordovas i wsp. [2008] analizowali potencjalny wpływ tego polimorfizmu na wartość hodowlaną dla zawartości tłuszczu w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, jednak nie stwierdzili istotnych zależności. Badania te nie uwzględniały analizy innych cech związanych z użytkowością mleczną, w tym zawartości białka. Niewiele jest dostępnych danych na temat badań dotyczących analizy polimorfizmu w genach *ANXA9*, *SLC27A1* oraz *SLC27A3* w aspekcie możliwości doskonalenia cech związanych z użytkowością mleczną bydła. Kontynuowanie prac w tym zakresie będzie mogło ułatwić bardziej dogłębną interpretację uzyskanych wyników.

Polimorfizmy genetyczne istotnie związane z ważnymi ekonomicznie cechami bydła mogą być użyteczne w wytłumaczeniu mechanizmów leżących u podstaw genetycznej zmienności tych cech. Mogą stać się przez to pomocne w polepszeniu dokładności i efektywności tradycyjnych metod selekcji. Stąd badania asocjacyjne są kontynuowane. Uzyskane wyniki dają pewien pogląd na potencjalny udział badanych polimorfizmów w kształtowaniu cech związanych z mlecznym użytkowaniem bydła ras jersey i polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. Mogłyby być zatem użyteczne w strategiach selekcji zmierzającej do doskonalenia tych cech. Włączenie informacji o polimorfizmie A59V w genie leptyny do programów hodowlanych opracowywanych dla bydła rasy jersey, mogłoby być pomocne w doskonaleniu wydajności tłuszczu oraz, w mniejszym stopniu, wydajności mleka i białka. Preferowanie w hodowli osobników z obecnością allelu *C* mogłoby wiązać się ze wzrostem wartości tych cech. Informacja dotycząca genotypów *FABP3* mogłaby być natomiast pomocna w doskonaleniu zawartości tłuszczu i białka, przy czym udział w zwiększeniu wartości tych cech mogłyby mieć osobniki z genotypem *AA*. Uzyskane wyniki mogłoby być również użyteczne w selekcji zmierzającej do obniżenia ilości komórek somatycznych w mleku krów rasy jersey, co z kolei wiązałoby się z poprawą zdrowotności wymienia oraz polepszeniem jakości mleka. W przypadku wykorzystania informacji o polimorfizmie w genach *SCD1* (*g.10329C>T*) oraz *ANXA9*, prowadzenie takiej selekcji mogłoby opierać się o genotypy z obecnością odpowiednio allelu *C* oraz allelu *A*. W strategiach selekcyjnych opracowanych w oparciu o polimorfizm w genie leptyny, genotypy *R4C CT*, *R4C CC* oraz *LEP/Sau3AI TT* mogłyby przyczynić się do osiągnięcia takiego efektu. Niska odziedziczalność tej cechy może co prawda przysparzać trudności w prowadzeniu selekcji, aczkolwiek nie czyni jej niemożliwą. Selekcja w tym kierunku powinna być jednak prowadzona z zachowaniem dużej ostrożności, aby nie przekroczyć granicy, która mogłaby wiązać się z obniżeniem odporności zwierząt. Wyniki zaprezentowane w pracach H5, H6 i H7 mogłyby być użyteczne w strategiach selekcji zmierzającej do doskonalenia cech użytkowości mlecznej bydła rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. Preferowanie krów z genotypami *SCD1 TT* (*g.10329C>T*), *SLC27A1 CC* (*g.14791C>T*) oraz z obecnością allelu *FABP4*G* mogłoby przyczynić się do

zwiększenia zawartości białka w mleku. Ponadto, preferowanie krów z genotypem *ANXA9 GG* mogłoby wiązać się z obniżeniem zawartości tłuszczu w mleku. Sugestie dotyczące możliwości wykorzystania informacji o powyższych polimorfizmach w doskonaleniu cech związanych z użytkowością mleczną bydła powinny być jednak poparte dalszymi badaniami prowadzonymi w innych stadach, liczniejszych, z bardziej wyrównaną dystrybucją poszczególnych genotypów.

4.4 PIŚMIENNICTWO

1. Alim M.A., Fan Y.P., Wu X.P., Xie Y., Zhang Y., Zhang S.L., Sun D.X., Zhang Y., Zhang Q., Liu L., Guo G., Genetic effects of stearoyl-coenzyme A desaturase (*SCD*) polymorphism on milk production traits in the Chinese dairy population, *Mol. Biol. Rep.*, 2012, 39, 8733-8740.
2. Anderson C.M., Stahl A., SLC27 fatty acid transport proteins, *Mol. Aspects Med.*, 2013, 34, 516-528.
3. Biddinger S.B., Miyazaki M., Boucher J., Ntambi J.M., Kahn C.R., Leptin suppresses stearoyl-CoA desaturase 1 by mechanisms independent of insulin and sterol regulatory element-binding protein-1c., *Diabetes*, 2006, 55, 2032-2041.
4. Buchanan F.C., Fitzsimmons C.J., Van Kessel A.G., Thue T.D., Winkelman-Sim D.C., Schmutz S.M., Association of missence mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels, *Genet., Sel. Evol.*, 2002, 34, 105-116.
5. Buchanan F.C., Van Kessel A.G., Waldner C., Christensen D.A., Laarveld B., Schmutz S.M., Hot Topic: An association between a leptin single nucleotide polymorphism and milk and protein yield, *J. Dairy Sci.*, 2003, 86, 3164-3166.
6. Calvo J.H., Martínez-Royo A., Silveri L., Floriot S., Eggen A., Marcos-Carcavilla A., Serrano M., Isolation, mapping and identification of SNPs for four genes (*ACP6, CGN, ANXA9, SLC27A3*) from a bovine QTL region on BTA3, *Cytogenet. Genome Res.*, 2006, 114, 39-43.
7. Campbell E.M.G., Gallagher D.S., Davis S.K., Taylor J.F., Smith S.B., Rapid communication: Mapping of the bovine stearoyl-coenzyme A desaturase (*SCD*) gene to BTA26, *J. Anim. Sci.*, 2001, 79, 1954-1955.
8. Cho S., Park T.S., Yoon D-H., Cheong H.S., Namgoong S., Park B.L., Lee H.W., Han C.S., Kim E.M., Cheong I-C., Kim H., Shin H.D., Identification of genetic polymorphisms in *FABP3* and *FABP4* and putative association with back fat thickness in Korean native cattle, *BMB Rep.*, 2008, 41, 29-34.
9. Gautier M., Barcelona R.R., Fritz S., Grohs C., Druet T., Boichard D., Eggen A., Meuwissen T.H., Fine Mapping and Physical Characterization of Two Linked Quantitative Trait Loci Affecting Milk Fat Yield in Dairy Cattle on BTA26, *Genetics*, 2006, 172, 425-436.
10. Haegeman A., van Zeveren A., Peelman L.J., New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene, *Anim. Genet.*, 2000, 31, 79.
11. Hall A.M., Smith A.J., Bernlohr D.A., Purified Murine Fatty Acid Transport Protein 1, *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 43008-43013.
12. Houseknecht K.L., Baile C.A., Matteri R.L., Spurlock M.E., The biology of leptin: a review, *J. Anim. Sci.*, 1998, 76, 1405-1420.
13. Jacobs A.A.A., van Baal J., Smits M.A., Taweel H.Z.H., Hendriks W.H., van Vuuren A.M., Dijkstra J., Effects of feeding rapeseed oil, soybean oil, or linseed oil on stearoyl-CoA desaturase expression in the mammary gland of dairy cows, *J. Dairy. Sci.*, 2011, 94, 874-87.
14. Jiang Z., Michal J.J., Tobey D.J., Daniels T.F., Rule D.C., MacNeil M.D., Significant associations of stearoyl-CoA desaturase (*SCD1*) gene with fat deposition and composition in skeletal muscle, *Int. J. Biol. Sci.*, 2008, 4, 345-351.
15. Komisarek J., Waśkowicz K., Michalak A., Dorynek Z., Effects of DGAT1 variants on milk production traits in Jersey cattle, *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2004, 22, 307-313.

16. Komisarek J., Impact of LEP and LEPR gene polymorphisms on functional traits in Polish Holstein-Friesian cattle, *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2010, 28, 133-141.
17. Komisarek J., Antkowiak I., The relationship between leptin gene polymorphisms and reproductive traits in Jersey cows, *Pol. J. Vet. Sci.*, 2007, 10, 193-197.
18. Komisarek J., Dorynek Z., Effect of *ABCG2*, *PPARGC1A*, *OLR1* and *SCD1* gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in Polish Holstein-Friesian bulls, *J. Appl. Genet.*, 2009, 50, 125-132.
19. Li C., Aldai N., Vinsky M., Dugan M.E.R., McAllister T.A., Association analyses of single nucleotide polymorphisms in bovine stearoyl-CoA desaturase and fatty acid synthase genes with fatty acid composition in commercial cross-bred beef steers, *Anim. Genet.*, 2011, 43, 93-97.
20. Liefers S.C., te Pas M.F.W., Veerkamp R.F., van der Lende T., Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers, *J. Dairy Sci.*, 2002, 85, 1633-1638.
21. Lindersson M., Andersson-Eklund L., de Koning D.-J., Lundén A., Mäki-Tanila A., Andersson L., Mapping of Serum Amylase-1 and Quantitative Trait Loci for Milk Production Traits to Cattle Chromosome 4, *J. Dairy Sci.*, 1998, 81, 1454-1461
22. Lv Y., Wei C., Zhan L., Lu G., Liu K., Du L., Association between polymorphisms in the *SLC27A1* gene and milk production traits in Chinese Holstein cattle, *Animal Biotechnol.*, 2011, 22, 1-6.
23. Macciotta N.P.P., Mele M., Conte G., Serra A., Castiglioni B., Chessa S., Buccioni A., Pagnacco G., Secchiari P., Association Between a Polymorphism at the Stearoyl CoA Desaturase Locus and Milk Production Traits in Italian Holsteins, *J. Dairy. Sci.*, 2008, 91, 3184-3189.
24. Madeja Z., Adamowicz T., Chmurzyńska A., Jankowski T., Melonek J., Świtoński M., Strabel T., Effect of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits, *J. Dairy Sci.*, 2004, 87, 3925-3927.
25. Manga I., Říha H., The *DGAT1* gene *K232A* mutation is associated with milk fat content, milk yield and milk somatic cell count in cattle (Short Communication), *Arch. Tierz.*, 2011, 54, 257-263.
26. Matarese G., Moschos S., Mantzoros C.S. Leptin in immunology, *J. Immunol.*, 2005, 173, 3137-3142.
27. Martínez-Royo A., Ordovas L., Zaragoza P., Altarriba J., Serrano M., Rodellar C., Calvo J.H., The bovine annexin 9 gene (*ANXA9*) is significantly associated with milk-fat yield in a Spanish Holstein-Friesian population, *Res. Vet. Sci.*, 2010, 88, 452-455.
28. McFadin E.L., Morrison C.D., Buff P.R., Whitley N.C., Keisler D.H., Leptin concentrations in periparturient ewes and their subsequent offspring, *J. Anim. Sci.*, 2002, 80, 738-43.
29. Mele M., Conte G., Castiglioni B., Chessa S., Macciotta N.P.P., Serra A., Buccioni A., Pagnacco G., Secchiari P., Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Gene Polymorphism and Milk Fatty Acid Composition in Italian Holsteins, *J. Dairy Sci.*, 2007, 90, 4458-4465.
30. Michal J.J., Zhang Z.W., Gaskins C.T., Jiang Z., The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses, *Anim. Genet.*, 2006, 37, 400-402.
31. Ntambi J.M., Miyazaki M., Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism, *Prog. Lipid Res.*, 2004, 43, 91-104.
32. Ogorevc J., Kunej T., Razpet A., Dovc P., Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis, *Anim. Genet.*, 2009, 40, 832-851.
33. Ordovas L., Roy R., Zaragoza P., Rodellar C., Structural and functional characterization of the bovine solute carrier family 27 member 1 (*SLC27A1*) gene, *Cytogenet. Genome Res.*, 2006, 115, 115-122.
34. Ordovas L., Zaragoza P., Altarriba J., Rodellar C., Identification of 14 new single nucleotide polymorphisms in the bovine *SLC27A1* gene and evaluation of their association with milk fat content, *J. Dairy Res.*, 2008, 75, 129-134.

35. Orrù L., Cifuni G.F., Piasentier E., Corazzin M., Bovolenta S., Moioli B., Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the *LEP* and *SCD1* genes on the fatty acid profile of muscle fat in Simmental bulls, *Meat Sci.*, 2011, 87, 344-348.
36. Pomp D., Zou T., Clutter A.C., Barendse W., Rapid communication: Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR-based polymorphism, *J. Anim. Sci.*, 1997, 75, 1427.
37. Roy R., Calvo J.H., Hayes H., Rodellar C., Eggen A., 2003, Fine mapping of the bovine heart fatty acid-binding protein gene (*FABP3*) to BTA2q45 by fluorescence *in situ* hybridization and radiation hybrid mapping, *Anim. Genet.*, 34, 466-467.
38. Nkrumah J.D., Li C., Yu J., Hansen C., Keisler D.H., Moore S.S., Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit, *J. Anim. Sci.*, 2005, 83, 20-28.
39. Schennink A., Heck J.M.L., Bovenhuis H., Visker M.H.P.W., Van Valenberg H.J.F., Van Arendonk J.A.M., Milk fatty acid unsaturation: Genetic parameters and effects of stearoyl-CoA desaturase (*SCD1*) and acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT1*), *J. Dairy Sci.*, 2008, 91, 2135-2143.
40. Schnabel R.D., Sonstegard T.S., Taylor J.F., Ashwell M. S., Whole-genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families, *Anim. Genet.*, 2005, doi:10.1111/j.1365-2052.2005.01337.x.
41. Stone R.T., Kappes S.M., Beattie C.W., The bovine homolog of the obese gene maps to chromosome 4, *Mamm. Genome*, 1996, 7, 399-400.
42. Taniguchi M., Utsugi T., Oyama K., Mannen H., Kobayashi M., Tanabe Y., Ogino A., Tsuji S., Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle, *Mamm. Genome*, 2004, 14, 142-148.
43. Woolfe A., Mullikin J.C., Elnitski L., Genomic features defining exonic variants that modulate splicing, *Genome Biol.*, 2010, 11, R20, doi:10.1186/gb-2010-11-2-r20, <http://genomebiology.com>.
44. Wu X-L., MacNeil M.D., De S., Xiao Q-J., Michal J.J., Gaskins C.T., Reeves J.J., Busboom J.R., Wright Jr. R.W., Jiang Z., Evaluation of candidate gene effects for beef backfat *via* Bayesian model selection, *Genetica*, 2005, 125, 103-113.
45. Zwierzchowski L., Krzyżewski J., Strzałkowska N., Siadkowska E., Ryniewicz Z., Effects of polymorphism of growth hormone (*GH*), Pit-1, and leptin (*LEP*) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black-and-White cows, *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2002, 20, 213-227.

5 POZOSTAŁE FORMY AKTYWNOŚCI NAUKOWO-BADAWCZEJ

5.1 ANALIZA GENETYCZNA CECH ROZRODCZYCH KÓZ I OWIEC

Po podjęciu pracy w Katedrze Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt zostałam włączona w realizację badań związanych z analizą cech rozrodczych kóz i owiec. Analizowane były wskaźniki charakteryzujące rozród w powiązaniu z typem urodzenia, typem kojarzenia, a także fenotypem rogatości bądź braku rogów. Analiza została przeprowadzona na grupie kóz 3 ras (saaneńska, alpejska, biała uszlachetniona). Ustalono, że wartość analizowanych parametrów generalnie zwiększała się z wiekiem samicy. Ponadto stwierdzono istotnie wyższą plenność u kóz bezrogich w porównaniu z rogatymi, a także u kóz pochodzących z urodzeń trojacznych. Z analizy wynikało również, że wskaźnik plenności korzystniejszy był w przypadku kojarzenia par pochodzących z urodzeń mnogich (**B1**). Ustalono ponadto, że rozkład płci wśród potomstwa rogatych kóz był bliski 1:1, natomiast kozy bezrogie rodziły istotnie więcej samców. Z uwagi na to i na brak osobników hermafrodytycznych wśród rogatych kóz, preferowanie ich w hodowli wydaje się korzystniejsze, mimo ich niższej plenności, w porównaniu z kozami rogatymi (**b3**). Powyższe wyniki mogą być pomocne przy prowadzeniu selekcji w kierunku zwiększania plenności z uwzględnieniem ryzyka urodzeń kóz obojnaczych.

Uczestniczyłam także we wstępnych badaniach dotyczących identyfikacji chimeryzmu komórkowego 54,XX/54,XY u owiec i kóz, który związany jest ze zjawiskiem frymartynizmu. W analizie wykorzystano gen SRY, który posłużył jako marker braku lub obecności chromosomu Y. Badania prowadzono na grupie macierek rasy merynofin i mieszańców merynoromanowa, owiec rasy laine oraz kóz należących do ras saaneńskiej i białej uszlachetnionej, pochodzących z cięż bliźniaczych. Maciorki merynoromanowa były wolne od chimeryzmu. Obecność genu SRY świadczącego o występowaniu tego zjawiska zidentyfikowano u wśród osobników merynofina i pozostałych zwierząt. Prowadzone były również analizy cytogenetyczne potwierdzające obecność dwóch linii komórkowych (54,XX i 54,XY) we krwi tych osobników (**a2, a3, c1**). Ponadto, analizowano kasetę HMG w obrębie genu SRY u kóz i innych gatunków pod kątem konserwatyizmu genetycznego (**b1**).

5.2 POLIMORFIZM DNA A MOŻLIWOŚCI DOSKONALENIA CECH UŻYTKOWYCH BYDŁA I ŚWIŃ

Kolejnym, a zarazem wiodącym, obszarem badawczym, który znalazł się w kręgu moich zainteresowań była próba poszukiwania polimorfizmów DNA, które w istotny sposób mogą wpływać na kształtowanie zmienności cech użytkowych bydła i świń. Tematyką podejmowanych badań była analiza polimorfizmów typu podstawienia pojedynczego nukleotydu (SNP – single nucleotide polymorphism) w aspekcie przydatności w doskonaleniu tych cech.

5.2.1 Analiza polimorfizmu w niektórych genach w odniesieniu do cech użytkowych świń

W ramach tego kierunku badawczego przeanalizowane zostały geny, których produkty mogą mieć istotne znaczenie w kształtowaniu zmienności ważnych z ekonomicznego punktu widzenia cech świń, jakimi są cechy związane z użytkowością rzeźną i rozplodową. W grupie knurów (polska biała zwisłoucha, wielka biała polska, pietrain, duroc x pietrain, hampshire x pietrain, duroc x hampshire, PIC, linie syntetyczne) określono strukturę genetyczną na podstawie SNP w genach kodujących: receptor rianodiny (RYR1), receptor estrogenu (ESR), receptor prolaktyny (PRLR), hydrolazę steroidową 21 (CYP21), leptynę (LEP), peroksydazę glutationową 5 (GPX 5) i hormon wzrostu (GH) (**b11**). Ponadto, oszacowano frekwencje alleli i genotypów leptyny i receptora estrogenu w stadzie loch rasy polskiej białej zwisłouchej (**b2**), receptora rianodiny w stadzie loch mieszańców WBP x PBZ (**c3**) oraz receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF1R) w stadzie loch rasy wielka biała polska (**c10**). Na podstawie tych wstępnych analiz ustalono, że powyższe polimorfizmy mogą być użyteczne w badaniach zmierzających do poszukiwania markerów cech ilościowych świń.

Celem kolejnych badań było ustalenie czy istnieją zależności między polimorfizmem *LEP/Hinfl* (*T3469C*, *Leu72Leu*) w genie leptyny a cechami związanymi z użytkowością rzeźną i rozrodczą świń. Leptyna wpływa na spożycie paszy, równowagę energetyczną organizmu i płodność i można uznać kodujący ją gen za kandydujący dla tych cech. W stadzie loch rasy polskiej białej zwisłouchej stwierdzono statystycznie istotne różnice w zawartości mięsa w tuszy i średnim dobowym przyroście masy ciała między osobnikami z genotypami *TT* i *TC*. Świnie homozygotyczne charakteryzowały się istotnie niższą zawartością mięsa w tuszy i dobowym przyrostem w porównaniu z osobnikami heterozygotycznymi. W analizie nie uwzględniono jednak loch z genotypem *CC* z uwagi na ich bardzo małą liczebność (**A1**). Powyższy polimorfizm analizowany był także w odniesieniu do cech nasienia knurów. Wykazano istotny wpływ genotypów na koncentrację plemników oraz liczbę plemników w dawce inseminacyjnej. Największymi wartościami powyższych cech charakteryzowały się knury z genotypami, odpowiednio *CC* i *TC*. Ponadto ustalono, że istnieją statystycznie istotne różnice w objętości ejakulatu i odsetku prawidłowych plemników między knurami z różnymi genotypami, przy czym największe wartości osiągały osobniki z genotypem *TT* (**A2, A5, b6**).

Podjęto również badania mające na celu ustalenie ewentualnych zależności między polimorfizmem w genie *RYR1* a wspomnianymi wyżej cechami nasienia knurów. Liczne badania wskazują, że niesynonimiczna mutacja *C1843T* (*Arg615Cys*) zlokalizowana w 17 eksonie genu powiązana jest z większą mięsnością i mniejszym otłuszczeniem tuszy, ale jednocześnie podatnością świń na stres, a także obniżonym potencjałem rozrodczym. W badaniach prowadzonych na grupie knurów wykazano statystycznie istotne zależności między genotypami a

koncentracją plemników i procentem plemników żywych. W przypadku koncentracji plemników, istotne różnice stwierdzono pomiędzy osobnikami z różnymi genotypami, przy czym najwyższą koncentracją charakteryzowały się knury z genotypem *CC*. Osobniki heterozygotyczne charakteryzowały się natomiast istotnie wyższym odsetkiem żywych plemników (**a4**, **b7**). Ponadto, powyższy polimorfizm analizowany był w odniesieniu do cech związanych z użytkowością rozrodczą loch. W stadzie mieszańców wbp x pbz nie stwierdzono obecności zwierząt z genotypem *TT* (nazywanych również *nn*). Analiza statystyczna obejmowała takie cechy jak: wiek przy oproszeniu, liczba prosiąt urodzonych żywo, liczba prosiąt urodzonych martwo, całkowita liczba prosiąt urodzonych i liczba prosiąt odsadzonych. Jednak nie stwierdzono istotnych zależności między genotypami a średnimi wartościami powyższych cech (**B3**, **c3**).

Uzyskane wyniki prowadzą do konkluzji, że w przypadku polimorfizmu w genie leptyny, allel *C* może mieć pozytywny wpływ na zawartość mięsa w tuszy i dobowe przyrosty masy ciała świń rasy polskiej białej zwisłouchej. Polimorfizm ten, a także polimorfizm w genie *RYS1* mogłyby być użyteczne w pracy hodowlanej zmierzającej do doskonalenia niektórych cech reprodukcyjnych (związanych z jakością i ilością nasienia) knurów. Wymagana byłaby jednak weryfikacja uzyskanych wyników na liczniejszych grupach zwierząt.

5.2.2 Polimorfizm w genach kandydujących w odniesieniu do cech związanych z użytkowością mleczną i rzeźną bydła

Przy planowaniu badań wybierano geny, których produkty mogą mieć wpływ na kształtowanie cech użytkowych bydła, szczególnie cech związanych z użytkowością mleczną (jako funkcjonalne geny kandydujące) lub wybrane spośród sąsiadujących z wcześniej zidentyfikowanymi QTL dla tych cech (jako pozycyjne geny kandydujące). Wśród nich znalazły się geny kodujące hormony: leptynę (*LEP*), prolaktynę (*PRL*), hormon wzrostu (*GH*), hormon uwalniający hormon wzrostu (*GHRH*), hormon uwalniający kortykotropinę (*CRH*) oraz geny kodujące inne białka, m.in. pełniące funkcje receptorów, biorące udział w regulacji transkrypcji, transporcie cząsteczek, a także innych biologicznych procesach. Były to geny kodujące receptor prolaktyny (*PRLR*), czynnik transkrypcyjny specyficzny dla przysadki (*PIT-1*), transduktor sygnału i aktywator transkrypcji 5A (*STAT5A*), podjednostkę gamma kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (*PRKAG3*), aromatazę cytochromu P450 (*CYP19*), tyreoglobulinę (*TG*), grelinę (*GHRL*), laktoferynę (*LTF*), laktoalbuminę alfa (*LALBA*), beta-laktoglobulinę (*LGB*), insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (*IGF-1*). Przedmiotem badań były również geny zlokalizowane wokół markera *BM143*, w bogatym w QTL dla cech użytkowości mlecznej chromosomie 6 bydła. W pracach uwzględnione zostały geny kodujące: osteopontynę (*OPN*), koaktywator 1A aktywowany czynnikiem proliferacji peroksysomów (*PPARGC1A*), transportera ABC, drugiego członka podrodziny G (*ABCG2*), białko *FAM13A1*, aminopeptydazę leucyny 3 (*LAP3*), podjednostkę 3 kompleksu kondensującego (*HCAP-G*).

Celem podejmowanych badań była analiza zależności między polimorfizmem w tych genach a wartością cech związanych z użytkowością mleczną i rzeźną bydła. W przypadku każdego polimorfizmu oszacowano częstości występowania genotypów i alleli (**A3, A4, A6, A7-A18, B2, B4-B9, a1, b4, b5, b8, b9, b10, b12-b14, c2, c4-c9, c11, c12**).

Znaczna część badań, w tym związanych z realizacją pracy doktorskiej, dotyczyła analizy polimorfizmów w genie leptyny w odniesieniu do cech użytkowych bydła. Leptyna jest białkiem o szerokim spektrum działania, o czym wspomniano już we wcześniejszym opisie. Wyniki badań różnych autorów wskazują, że może być ważnym połączeniem między procesami wzrostu, stanem metabolicznym i działaniem układu wewnątrzwydzielniczego. Może to mieć znaczenie w kształtowaniu cech użytkowych bydła i innych zwierząt gospodarskich. Postanowiono zatem dokonać analizy miejsc polimorficznych w aspekcie możliwości doskonalenia cech związanych z użytkowością mleczną krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, a także użytkowością rzeźną cieląt rasy limousin. Wykazano, że istnieją istotne różnice w masie ciała i dobowych przyrostach między cielętami o różnych genotypach *g.3100T>C* (inne stosowane nazwy to *LEP/HphI*, A59V). Cielęta z genotypem *TT* osiągały istotnie większą masę ciała w wieku 210 dni oraz charakteryzowały się istotnie większym dobowym przyrostem masy między 3 a 210 dniem życia w porównaniu z cielętami *CC* (**A9, b13**). Wyniki te zostały potwierdzone w analizie kombinowanych genotypów R4C/A59V w odniesieniu do powyższych cech, przy czym cielęta z genotypem *CC/TT* charakteryzowały się istotnie większymi wartościami obu cech w porównaniu z cielętami *CC/CC* (**A6**). Nie stwierdzono natomiast istotnych zależności między polimorfizmem *g.2059C>T* (*LEP/Sau3AI*) a analizowanymi cechami tj. masą ciała, wysokością w kłębie, wysokością w krzyżu i obwodem klatki piersiowej w 3., 210. i 365. dniu życia, a także średnim dziennym przyrostem masy ciała między 3. a 210. dniem życia oraz między 3. a 365. dniem życia (**A9, b13**). W grupie krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czarno-białej ustalono, że istnieje zależność między polimorfizmem A59V oraz *LEP/Sau3AI* a wydajnością mleka, wydajnością białka i wydajnością tłuszczu w laktacji. W przypadku polimorfizmu A59V, osobniki z genotypem *CC* charakteryzowały się istotnie wyższą wydajnością mleka, białka i tłuszczu w I i II laktacji niż osobniki z pozostałymi genotypami (**A4**). Ponadto, wykazano statystycznie istotne różnice w zakresie dobowej wydajności mleka (**c4**) i procentowej zawartości tłuszczu w mleku między osobnikami *CC* i *TT* (**A4, c2**). W przypadku polimorfizmu *LEP/Sau3AI* osobniki z genotypem *TT* (*BB*) charakteryzowały się istotnie wyższą wydajnością mleka, białka i tłuszczu (**A4**). Wyniki te zostały potwierdzone statystycznie w analizie genotypów kombinowanych (**A3**). Polimorfizm intronowy *LEP/Sau3AI* obejmuje dwa SNP rozpoznawane przez ten sam enzym restrykcyjny, przy czym wymiana nukleotydów w jednym z miejsc zachodzi rzadko i nie określono jego precyzyjnej lokalizacji. Obydwa polimorfizmy analizowane były łącznie w pracach różnych autorów, a także w wyżej prezentowanych. W badaniach prowadzonych w stadzie krów rasy

polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czerwono-białej obydwie SNP analizowano oddzielnie. Wykazano statystycznie istotne różnice w zawartości tłuszczu oraz suchej masy między osobnikami o różnych genotypach *LEP/Sau3AI* oraz *LEP/Sau'*. W przypadku polimorfizmu *LEP/Sau3AI* osobniki z genotypem *CC* charakteryzowały się istotnie większą zawartością tłuszczu i suchej masy w porównaniu z krowami *TT*. Analizując polimorfizm *LEP/Sau'* stwierdzono, że istotnie większą zawartością tłuszczu i suchej masy charakteryzowały się krowy z genotypem nazwanym *22* w porównaniu z krowami z genotypem *11*. Wyniki te zostały potwierdzone w analizie genotypów kombinowanych *Sau3AI/Sau'*. W stadzie tym stwierdzono także istotne zależności między genotypami kombinowanymi *Sau3AI/A59V* a zawartością suchej masy oraz między genotypami *Sau'/A59V* a zawartością tłuszczu i suchej masy (**A7**). Wykazano również statystycznie istotne różnice w dobowej wydajności mleka między osobnikami z różnymi genotypami *g.1180C>T* (inne stosowane nazwy to *LEP/Kpnl*, *R4C*). Istotnie większą wartością tej cechy charakteryzowały się krowy *TT* w porównaniu z krowami z genotypem heterozygotycznym (**B5**). Polimorfizm *A59V* powiązано natomiast z istotnymi różnicami w wartościach cech użytkowości mlecznej za I laktację (**c5**). Z uzyskanych danych wynika, że analizowane polimorfizmy w genie leptyny mogą mieć znaczenie w doskonaleniu cech użytkowości mlecznej krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. W przypadku bydła rasy limousin, polimorfizm *A59V* mógłby być użyteczny w selekcji zmierzającej do doskonalenia masy ciała i dobowych przyrostów masy ciała. Ewentualna przydatność powyższych wyników do zastosowania jako jednego z kryterium wczesnej selekcji powinna być jednak zweryfikowana w szerszej zakrojonych badaniach.

Leptyna, uczestnicząc w regulacji równowagi energetycznej organizmu, wpływa na działanie różnych neuronów zawierających neuropeptydy o charakterze oreksygenym i anoreksygenym. Wśród nich szczególną rolę pełni hormon uwalniający kortykotropinę (*CRH*), uważany za główny czynnik regulujący funkcje osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (*HPA*), która odpowiada za fizjologiczną reakcję na stres. Jednak jego działanie jest bardziej rozległe. Uważa się, że sygnał przenoszony z leptyny na *CRH* może być zaangażowany w centralną regulację pobierania pokarmu i wydatkowania energii. Postanowiono przeanalizować dwa niesynonimiczne podstawienia nukleotydów w genie *CRH*. Stwierdzono istotny wpływ polimorfizmu *A145G* na wydajność tłuszczu oraz zawartość białka i zawartość tłuszczu w mleku krów rasy jersey. Istotnie większe wartości tych cech osiągały krowy z genotypem *AG*, przy czym w stadzie nie stwierdzono obecności krów z genotypem *AA* (**B7**). Analizując polimorfizm *C22G* w stadzie krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czerwono-białej stwierdzono, że u krów heterozygotycznych wszystkie cechy osiągały największe wartości, a w drugiej laktacji różnice w wydajności mleka i białka zostały potwierdzone statystycznie (**A16**). W dostępnej literaturze nie znaleziono danych dotyczących analizy polimorfizmu w tym genie w powiązaniu z cechami użytkowości mlecznej bydła, stąd można uznać, że są to pierwsze dane na ten temat. Wymagają

zatem weryfikacji poprzez dalsze badania na liczniejszych stadach, w których obecne będą wszystkie genotypy.

Uczestniczyłam również w badaniach dotyczących analizy polimorfizmu w innych genach bydła, przy czym część z nich miała charakter wstępnych analiz. Przeprowadzona w stadzie krów rasy jersey analiza polimorfizmu *LGB/HaeIII* wykazała jego istotny wpływ na cechy użytkowości mlecznej (**b9**), natomiast polimorfizm *LTF/EcoRI* (**b12**) powiązany został z istotnymi różnicami w ilości komórek somatycznych w mleku. Ustalono ponadto, że istnieją zależności między polimorfizmem *PRLR/XagI* (**A12**) a cechami użytkowości mlecznej. Krowy z genotypem *AC* charakteryzowały się istotnie wyższą wydajnością mleka i białka niż krowy z pozostałymi genotypami. W przypadku innych polimorfizmów, mianowicie w genach *CYP19* (**B9, b10**), *PRKAG3* (**A15**) oraz *TG* (**B6**) nie stwierdzono istotnych różnic w wartościach cech użytkowości mlecznej między krowami z różnymi genotypami. Badania prowadzone w stadzie krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czerwono-białej wykazały, że polimorfizm *GHRH/HaeIII* wpływał istotnie na cechy użytkowości mlecznej (**B4,c6**), przy czym istotnie większe wartości cech, zwłaszcza w zakresie wydajności i zawartości tłuszczu oraz sumy wydajności tłuszczu i białka, osiągały krowy z genotypem *AA*. Natomiast nie stwierdzono istotnego wpływu polimorfizmu w genie *GHRL (G375A)* (**B8**) oraz *STAT5A/AvaI* (**A13, c9**) na powyższe cechy. W przypadku ostatniego polimorfizmu wyniki potwierdziły się też u krów h-f, odmiany czarno-białej (**A8, c12**).

Kolejna część badań, w których uczestniczyłam dotyczyła analizy zależności między polimorfizmem w genach zlokalizowanych w chromosomie 6 bydła (*PPARGC1A, ABCG2, OPN, FAM13A, LAP3* oraz *HCAP-G*) a cechami użytkowości mlecznej i ilością komórek somatycznych w mleku. Geny te zlokalizowane są w regionie z licznymi QTL dla cech użytkowości mlecznej oraz *mastitis*. W badaniach prowadzonych w stadzie krów rasy jersey stwierdzono istotny wpływ genotypów *OPN-T432C* oraz kombinowanych genotypów *OPN* i *FAM13A1* na liczbę komórek somatycznych w mleku (**A17**). Krowy z genotypami *OPN-CC/TT*, *FAM13A1-GG/CA* i *FAM13A1-GG/AA* produkowały mleko z istotnie mniejszą liczbą komórek somatycznych niż krowy z innymi genotypami. Polimorfizmy w pozostałych genach nie wpływały istotnie na wartość analizowanej cechy. Uzyskane wyniki są pierwszymi, które dotyczą tej cechy krów rasy jersey. Polimorfizm *ABCG2/Hpy188I* okazał się wpływać istotnie na zawartość tłuszczu w mleku krów rasy jersey, przy czym krowy z genotypem *AC* charakteryzowały się istotnie większymi wartościami tej cechy w porównaniu z krowami z genotypem *AA* (**A10**). W badanym stadzie krów jersey stwierdzono też istotny wpływ genotypów kombinowanych *PPARGC1A-T1892C/A3359C* na cechy użytkowości mlecznej. Krowy z genotypem *CC/AC* produkowały istotnie mniej mleka o istotnie większej zawartości białka niż krowy z innymi genotypami kombinowanymi (**A11**). Genotypy *T1892C/A3359C* nie wpływały natomiast istotnie na wartości powyższych cech krów

rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, odmiany czerwono-białej (A14). Nie stwierdzono również istotnego wpływu polimorfizmu w genach *OPN*, *FAM13A*, *LAP3* oraz *HCAP-G* na cechy użytkowości mlecznej krów rasy jersey (A18). Spośród analizowanych polimorfizmów, *OPN-T432C* mógłby być użyteczny w pracy hodowlanej zmierzającej do obniżenia ilości komórek somatycznych w mleku krów rasy jersey. Informacja o kombinacji genotypów *PPARGC1A - T1892C/A3359C* mogłyby natomiast być rozważona w strategiach selekcyjnych skierowanych na doskonalenie wydajności mleka u bydła tej rasy. Ze względu na wstępny charakter badań, uzyskane wyniki wymagają weryfikacji na liczniejszych grupach zwierząt.

Prowadzone badania finansowano ze środków wewnętrznych.

Projekty w ramach badań własnych:

- BW/IZ/06/98 – Wpływ wybranych czynników na cechy reprodukcyjne kóz rasy saaneńskiej i białej uszlachetnionej – wykonawca, 1998;
- BW/DB/13/99 – Polimorfizm w genie leptyny oraz możliwości wykorzystania poszczególnych jego wariantów w doskonaleniu cech użytkowości mlecznej bydła – wykonawca projektu doktorskiego, 1999-2003;
- BW/IB/15/2004 – Zależność między polimorfizmem w genie leptyny (*LEP/HphI* oraz *LEP/Kpn2I*) a wybranymi cechami użytkowymi bydła mięsnego oraz mlecznego – kierownik projektu, 2004-2006;
- BW/HB/04/2004 – Analiza polimorfizmu wybranych genów ulegających ekspresji w gruczole mlekowym w odniesieniu do cech użytkowości mlecznej bydła ze szczególnym uwzględnieniem cech tłuszczu – kierownik projektu habilitacyjnego, 2007-2011;
- 502-01-022-1325-99/3 – Analiza polimorfizmu wybranych genów ulegających ekspresji w gruczole mlekowym w odniesieniu do cech użytkowości mlecznej bydła ze szczególnym uwzględnieniem cech tłuszczu – dofinansowanie projektu habilitacyjnego w ramach Rektorskiej Kadry Habilitantów (RKH) – kierownik, 2010-2012.

Badania statutowe / utrzymanie potencjału badawczego:

- 501-01-022-1187-04/02 – Poszukiwania zależności między polimorfizmem w wybranych genach a cechami użytkowości rozplodowej loch i knurów, 2002-2008;
- 518-01-022-3115-01/18 – Analiza zależności między polimorfizmem DNA wybranych genów a cechami użytkowymi zwierząt, 2011-2013

6 PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

- sumaryczny Impact Factor (IF) za publikacje naukowe wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy – **12,282**, w tym:
 - jednotematyczny cykl publikacji – 3,930,
 - pozostałe publikacje – 8,352;
- ogólna liczba punktów za publikacje naukowe wg wykazu czasopism naukowych MNiSW zgodnie z rokiem ukazania się pracy – **433**, w tym:
 - jednotematyczny cykl publikacji – 118,
 - pozostałe publikacje – 315;
- indeks h wg ICI Web of Science – **5**;
- liczba cytowań wg ICI Web of Science – **58** (bez autocytowań – **49**).

Dorobek naukowy przed i po uzyskaniu stopnia doktora

Rodzaj publikacji	Przed uzyskaniem stopnia doktora		Po uzyskaniu stopnia doktora				Ogółem	
			jednotematyczny cykl publikacji		pozostałe publikacje			
	N	IF	N	IF	N	IF	N	IF
1 Prace oryginalne w czasopismach z bazy JCR	2	0,494	6	3,930	16	7,337	24	11,761
2 Prace oryginalne w czasopismach spoza bazy JCR	1		1		8		10	
3 Artykuły przeglądowe	2	0,236			1	0,285	3	0,521
4 Monografie	0				1		1	
5 Prace w materiałach konferencyjnych i suplementach	3				1		4	
6 Streszczenia w materiałach konferencyjnych i suplementach	8				18		26	
Ogółem	16	0,730	7	3,930	45	7,622	68	12,282

N – liczba publikacji;

IF – suma Impact Factor wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania.

Zestawienie liczbowe publikacji z podziałem na czasopisma

Czasopismo	Jednotematyczny cykl publikacji			Pozostałe publikacje		
	N	IF	P	N	IF	P
1 Acta Veterinaria Brno	1	0,534	27 (20)			
2 Animal Science Papers and Reports	1	0,918	25 (25)			
3 Archiv für Tierzucht	1	0,519	20 (20)	4	1,580	42 (80)
4 Czech Journal of Animal Science	1	1,190	20 (25)	1	1,190	20 (25)
5 Journal of Animal and Feed Sciences				1	0,316	15 (20)
6 Research in Veterinary Science				1	1,649	35 (35)
7 Russian Journal of Genetics	1	0,427	15 (15)	4	1,786	53 (60)
8 Tierärztliche Umschau				6	1,089	68 (90)
9 Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences	1	0,342	10 (20)	1	0,221	20 (20)
10 Acta Scientiarum Polonorum, Zootechnica	1		6 (6)	4		22 (24)
11 Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Zootechnica *				2		6 (10)
12 Journal of Animal and Veterinary Advances				1		(15)
13 Journal of Central European Agriculture				1		8 (8)
14 Medycyna Weterynaryjna				3	0,521	24 (45)
15 Prace i Materiały Zootechniczne				1		2
Ogółem	7	3,930	118 (131)	29	8,352	315 (432)

N – liczba publikacji;

IF – suma Impact Factor wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania;

P – suma punktów wg wykazu czasopism punktowanych MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania (w nawiasach podano sumę punktów z dnia 17.12.2013);

* aktualna nazwa czasopisma to *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*.