
AUTOREFERAT OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

Dr inż. Arkadiusz Terman

Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Ul. Doktora Judyma 6
71-466 Szczecin
Tel. 91 449 6787
arkadiusz.terman@zut.edu.pl

1. Dane personalne:

Imię i nazwisko Arkadiusz Terman

Miejsce pracy Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Doktora Judyma 6
71-466 Szczecin

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

19.01.1999 inżynier,
Akademia Rolnicza w Szczecinie, Wydział Zootechniczny,
praca inżynierska pt. *„Przyczyny występowania kolibakteriozy u prosiąt, leczenie i profilaktyka w gospodarstwie rolnym "ROKICINY" w Oskowie”*
promotor: dr Danuta Czernomysy-Furowicz

13.06.2000 magister inżynier,
praca magisterska pt. *„Detekcja mutacji w genie receptora prolaktyny (PRLR) oraz próba ustalenia zależności pomiędzy polimorfizmem w tym genie a cechami nasienia knurów użytkowanych rozplodowo w stacji hodowli i unasienniania zwierząt”*
promotor: prof. dr hab. Marek Kmieć

11.07.2005 doktor inżynier,
praca doktorska pt. *„Charakterystyka genetyczna stada loch na podstawie polimorfizmu wybranych genów kandydujących do statusu „genów głównych” użytkowości rozrodczej”*
promotor: prof. dr hab. Marek Kmieć

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

01.02.2005 – 31.12.2005 asystent,
Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt,
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Akademia Rolnicza w Szczecinie

01.01.2006 – 31.12.2008 adiunkt,
Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt,
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,
Akademia Rolnicza w Szczecinie

od 01.01.2009 adiunkt,
Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt,
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego 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.):

4.1. Osiągnięciem, stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest rozprawa pod tytułem „**Analiza polimorfizmów wybranych genów wykazujących związek z użytkowością rozrodczą *Sus scrofa domestica***”

tworząca jednolity cykl następujących publikacji:

G1. Terman A., Kmiec M., Polasik D. (2006). Estrogen receptor gene (ESR) and semen characteristics of boars. Archives of Animal Breeding, 49 (1), 71-76.

IF₂₀₀₅ – 0,518; 25 pkt. MNiSW

Indywidualny wkład: pomysłodawca sformułowania hipotezy badawczej, wiodący udział w planowaniu eksperymentu, wybór materiału zwierzęcego do badań, gromadzenie danych użytkowych niezbędnych do analiz statystycznych, wybór modelu statystycznego, wiodący udział w izolacji DNA oraz przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, wiodący udział w analizie uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu do druku (75%)

G2. Terman A., Budis H., Kmiec M., Grzelak T., Polasik D., Heuven H.C.M. (2009). Association between mutation on FUT1 gene and reproductive traits in pigs (Einfluss der Mutation am FUT1-Gen auf Reproduktionsleistungen bei Sauen. Tierärztliche Umschau), 64 (9), 397-401.

IF₂₀₀₉ – 0,167; 15 pkt. MNiSW

Indywidualny wkład: sformułowanie hipotezy badawczej, główny udział w planowaniu eksperymentu, wybór materiału zwierzęcego do badań, gromadzenie danych użytkowych niezbędnych do analiz statystycznych, wiodący udział w przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, wiodący udział w analizie uzyskanych wyników, sformułowanie stwierdzeń i wniosków, przygotowanie manuskryptu do druku (65%)

G3. Terman A., Kmiec M., Polasik D., Rybarczyk A. (2011). Association between RBP4 gene polymorphism and reproductive traits in Polish sows. Journal of Animal and Veterinary Advances, 10 (20), 2639-2641.

IF₂₀₁₁ – 0,390; 20 pkt. MNiSW

Indywidualny wkład: sformułowanie hipotezy badawczej, zaplanowanie eksperymentu naukowego, wiodący udział w analizach laboratoryjnych (izolacja DNA, optymalizacja testu molekularnego oraz wykonanie badań), gromadzenie danych użytkowych, wiodący udział w analizie uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu do druku (70%)

G4. Terman A. (2011). The IGF1R gene - a new marker for reproductive performance traits in sows. Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science, 61 (2), 67-71.

IF₂₀₁₁ – 0,729; 20 pkt. MNiSW

Indywidualny wkład: całość prac związanych z wykonaniem analiz laboratoryjnych i przygotowaniem manuskryptu do druku (100%)

G5. Terman A., Kumalska M. (2012). The Effect of a SNP in ESR gene on the reproductive performance traits in polish sows. Russian Journal of Genetics, 48 (12), 1260–1263.

IF₂₀₁₁ – 0,424; 15 pkt. MNiSW

Indywidualny wkład: sformułowanie hipotezy badawczej, planowanie doświadczeń, wybór materiału badawczego, gromadzenie danych użytkowych, wiodący udział w przeprowadzeniu analiz molekularnych, wybór modelu oraz przeprowadzanie analiz statystycznych, główny udział w analizie uzyskanych wyników, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu do druku (85%)

- Ogólna liczba punktów za jednolity cykl publikacji wg wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 21.12.2012) wynosi 95 punktów;
- Sumaryczny Impact Factor (IF) za jednolity cykl publikacji wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy wynosi 2,228;

Oświadczenia współautorów przedstawionych powyżej prac naukowych wraz z określeniem ich indywidualnego udziału wykazano w załączniku nr VIII.

4.2. Omówienie celu naukowego w/w publikacji, jak również osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

4.2.1. Wprowadzenie

Problem naukowy, który został podjęty w niniejszych badaniach dotyczy przede wszystkim detekcji polimorfizmów w określonych fragmentach genów ważnych z punktu widzenia użytkowości rozrodczej trzody chlewnej. Doskonalenie cech związanych z reprodukcją zwierząt gospodarskich jest interesujące zarówno od strony hodowlanej, jak i naukowej. Cechy te odgrywają istotną rolę w opłacalności produkcji zwierzęcej, co szczególnie widoczne jest u gatunków wydających na świat liczne potomstwo, do których między innymi zaliczamy trzodę chlewną. Maksymalne wykorzystanie potencjału produkcyjnego zwierząt gospodarskich wpływa na rentowność hodowli, ponieważ uzyskanie miotów o dużej liczebności pozwala na zmniejszenie kosztów produkcji.

Aktualna wiedza i nowoczesne techniki laboratoryjne pozwalają na prowadzenie oceny wartości genetycznej zwierząt hodowlanych na poziomie populacji, komórki oraz DNA. Uzyskiwany postęp genetyczny w populacjach zwierząt gospodarskich zależy jest w głównej mierze od dokładności oceny wartości hodowlanej, intensywności selekcji oraz wielkości zmienności genetycznej.

Aby osiągnąć ten cel prowadzi się mapowanie genów cech ilościowych QTL (ang. *quantitative traits loci*), jak również analizę oddziaływania tzw. „genów kandydujących”, czyli takich, których produkty białkowe biorą udział w procesach fizjologicznych. Zainteresowania genetyków koncentrują się przede wszystkim na molekularnej identyfikacji genów i ich zmutowanych form, które są odpowiedzialne za rozwój chorób genetycznych lub wpływają w sposób znaczący (tzw. geny główne) na poziom niektórych cech ilościowych np. tempo wzrostu, wydajność rzeźną, czy cechy reprodukcyjne.

Obecnie znane są dwie zasadnicze metody identyfikacji QTLs kształtujących cechy produkcyjne zwierząt. Jedną z nich jest mapowanie hipotetycznych QTLs w genomie. Proces ten wymaga kilku czynników niezbędnych do właściwego przeprowadzenia analizy. Przede wszystkim materiał wyjściowy powinny stanowić rasy (linie) charakteryzujące się przeciwstawnymi wartościami danej cechy. Ponadto mapowanie QTLs dokonuje się poprzez analizę sprzężenia z markerami genetycznymi charakteryzującymi się odpowiednim polimorfizmem.

Drugą metodą identyfikacji QTLs jest ocena wpływu polimorfizmu tzw. genów kandydujących na fenotypową wartość cechy ilościowej. Wytypowanie takich genów jest możliwe na podstawie znajomości procesów fizjologicznych lub przemian metabolicznych kształtujących daną cechę.

Obserwowany w ostatnich latach dynamiczny rozwój metod genetyki molekularnej (między innymi PCR-RFLP, SSCP, TGGE, RT-PCR, czy Real-Time PCR) stosowanych w badaniach genomów zwierząt gospodarskich umożliwił poznanie lokalizacji, struktury oraz funkcjonowania genów, których produkty odpowiedzialne są za kształtowanie cech ilościowych.

Celowe wydaje się, więc podejmowanie badań w kierunku poszukiwania ewentualnego markera genetycznego powiązanego z cechami użytkowości rozrodczej.

Analizując funkcje białek można stwierdzić, że taką rolę może odgrywać gen receptora estrogenu (*ESR*), gen kodujący α 1- fukozylotransferazę (*FUT1*), gen białka wiążącego retinol 4 (*RBP4*) oraz gen receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu (*IGF-IR*).

Estrogeny są hormonami ściśle związanymi z reprodukcją. Ich synteza zachodzi głównie w jajnikach i jądrach. Aktywność metaboliczna estrogenu przejawia się w różnych okresach fizjologicznych i w komórkach różnych narządów, zwłaszcza w drogach rodnych samic i gruczole mlekowym. Estrogen odgrywa dużą rolę na różnych etapach ciąży, a szczególnie istotna jest jego wzmożona synteza w komórkach szybko rosnącego zarodka. Jest on uznawany za główny czynnik podtrzymujący ciążę, który działa jak metaboliczny sygnał dla układu rozrodczego do wydłużenia działania ciała żółtego. Funkcja estrogenu jest regulowana i kontrolowana przez gen receptora estrogenu *ESR* (ang. *estrogen receptor*).

Receptor estrogenowy należy do rodziny receptorów jądrowych (**Enmark i Gustafsson, 1996**). Znane są dwie izoformy tego receptora – α (*ESR1*) i β (*ESR2*). Każda z nich kodowana jest przez osobne geny, zlokalizowane w innych chromosomach. Receptor α zbudowany jest z sześciu funkcjonalnych domen i pełni on kluczową funkcję w procesach reprodukcyjnych zwierząt gospodarskich (**Szreder i Zwierzchowski, 2007**). U świń ekspresja *ESR* α została wykryta w macicy i w zarodku jednokomórkowym, dwukomórkowym i czterokomórkowym. Dowiedziono, że istniejący związek między produkcją estrogenu przez zarodek, a działaniem receptora estrogenu w macicy odgrywa ważną rolę w określeniu losu każdego zarodka podczas ciąży (**Geisert i wsp., 1990**). Estrogeny produkowane przez zarodki sygnalizują macicy moment przygotowania do implantacji i kontrolują dalszy rozwój płodowy. Zarodki przedimplantacyjne produkują największe ilości tych hormonów (**Pusateri i wsp., 1990**).

Ze względu na udowodnione oddziaływanie estrogenu i jego receptora na reprodukcję trzody chlewnej, podjęto liczne badania nad potencjalnym wpływem genu receptora estrogenu na rozrodczość loch różnych ras (**Bradley i Isler, 2003**).

W roku 1996 podjęto analizy mające na celu określenie położenia genu receptora estrogenowego α i poznanie jego struktury u świń. Gen ten został zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 1 w pozycji 1p25-p24 (**Rothschild i wsp., 1996**).

W badaniach nad polimorfizmem locus genu *ESR* zidentyfikowano trzy mutacje punktowe. Dwie z nich zlokalizowano w eksonie 8. Pierwsza jest tranzycją T→C w pozycji 1665 nukleotydu, tworząca miejsce restrykcyjne dla enzymu *AvaI*, druga zaś tworzy miejsce rozpoznawalne przez endonukleazę *MspA1I*, występuje w pozycji 1756 i spowodowana jest tranzycją A→G (**Dromüller i wsp. 1997**). Trzecia mutacja została zlokalizowana w 3 intronie przy użyciu enzymu restrykcyjnego *PvuII* (**Gibson i wsp., 2002**).

Pierwsze badania dotyczące wpływu polimorfizmu genu receptora estrogenu α na cechy reprodukcyjne prowadził **Rothschild i wsp. (1991)** na chińskiej odmianie rasy Meishan. Wynikiem było odkrycie czterech polimorficznych fragmentów o wielkościach około 7.7 kb, 5.0 kb, 4.3 kb, and 3.7 kb. Potwierdziło to wcześniejsze przypuszczenia, że gen receptora estrogenowego może kandydować do roli genu o dużym efekcie, odpowiedzialnego za wielkość miotu. Według autora poszukiwanie genów wpływających na cechy rozrodcze i ich wykorzystanie w selekcji typu MAS, może w przyszłości mieć ogromne znaczenie dla poprawy wydajności produkcji trzody chlewnej (**Rothschild i in., 1995**).

Kolejnym genem kandydującym do statusu „genu głównego” dla cech użytkowości rozrodczej jest gen kodujący $\alpha 1$ - fukozylotransferazę (*FUT1*).

Enzym *FUT1* należy do grupy glikozylotransferaz, do rodziny $\alpha 2$ -fukozylotransferazy i jak pokazują badania ma istotne znaczenie w procesie rozrodczym u różnych gatunków zwierząt (**Larsen i wsp. 1990**).

W badaniach przeprowadzonych przez **Sidhu i Kimber, (1999)** odnotowano najwyższy poziom $\alpha 1,2$ - fukozylotransferazy oraz estrogenu w 1 i 2 dniu ciąży, czyli w czasie implantacji. Świński gen *FUT1* wykazuje 72% homologię w sekwencji aminokwasów z mysim genem *FUT1* (4). U świń gen *FUT1* zlokalizowany jest w chromosomie 6q11. Składa się on z 1098 par zasad i koduje białko o 366 aminokwasach. Wykryto 2 mutacje tego genu, z których jedna, oznaczona symbolem *M307*, polegająca na tranzycji guaniny na adeninę w kodonie 307 wykazuje ścisłe sprzężenie z genem *ECF18R* (**Meijerink i wsp. 1997**). Analizując zależności pomiędzy polimorfizmem w genie *FUT1*, a cechami użytkowości rozrodczej loch stwierdzono, że osobniki o genotypie homozygotycznym *GG* charakteryzowały się najwyższą ogólną liczbą prosiąt urodzonych, liczbą prosiąt żywo urodzonych oraz liczbą prosiąt odsadzonych we wszystkich analizowanych miotach, a liczba ta wahała się w granicach od 0,66 do ponad jednego prosięcia na miot (**Horakl i wsp. 2005**).

Powyższe badania oraz fakt, iż niewielu naukowców podjęło się sprawdzenia zależności polimorfizmu genu *FUT1* z niektórymi cechami użytkowości rozrodczej świń, wskazują na konieczność kolejnych analiz pod względem ewentualnego zastosowania genu *FUT1* w hodowli trzody chlewnej.

Przeprowadzenie badań na większym stadzie zwierząt pozwoliłoby odpowiedzieć na pytanie czy polimorfizm genu *FUT1* może mieć wpływ na cechy związane z wielkością miotu u świń.

Jednym z genów, stanowiącym obecnie główny przedmiot badań wielu naukowców w aspekcie cech reprodukcyjnych jest gen białka wiążącego retinol 4 - *RBP4* (*ang. retinol binding protein 4*). Działanie białka wiążącego retinol RBP4 ma miejsce w czasie ciąży i związane jest z transportem witaminy A (retinolu) do zarodka (**Murray i in., 2004**).

Stwierdzono występowanie polimorfizmu sekwencji genu *RBP4*, jednak brak jest statystycznie potwierzonego wpływu tej mutacji na poziom cech reprodukcyjnych u świń ras polskich (**Korwin-Kossakowska i wsp., 2006**). **Adams i wsp. (1981)** wykryli obecność białka wiążącego retinol w płynie omoczniovym w 60 dniu ciąży, jak również w surowicy matczynej świń w 3 dniu cyklu rujowego oraz u ciężarnych w 45 dniu ciąży. Późniejsze badania pozwoliły stwierdzić jego występowanie w okołoinplantacyjnych zarodkach (w trofoektodermie i woreczku żółtkowym), powierzchni endometrium i nabłonku wydzielniczym. Sugeruje się, że świńskie zarodki już 10 dnia ciąży wydzielają RBP do światła macicy.

Zaobserwowano również obecność RBP w płynie omoczniovym w 30 dniu ciąży (**Harney i wsp., 1990**). U ciężarnych świń w wydzielinie macicy stwierdzono wzrost poziomu retinolu w odpowiedzi na progesteron podawany z pożywieniem. Sugeruje to, że jego transport w poprzek nabłonka macicy wzrasta pod wpływem tego hormonu. Obserwowany niski poziom witaminy A w płynie omoczniovym może wynikać z faktu jej magazynowania lub wykorzystania przez zarodek (**Clawitter i wsp., 1990**).

Bardziej dokładne analizy ekspresji genu *RBP* w macicy ukazały czasowe zmiany w ilości mRNA w różnych narządach i tkankach układu rozrodczego, co może być wynikiem potencjalnych różnic w regulacji ekspresji. Wysoki poziom mRNA został wykryty w endometrium w 15, 20, 30, 90, 105, 112 dniu ciąży, w miometrium obserwowano stopniowy wzrost od dnia 30 do 112, w trofoblaście, z którego rozwija się łożysko, w 20 dniu i w zarodku w dniu 15 (**Harney i wsp., 1994**). Przypuszcza się, że embrionalny RBP sprzyja: zwiększeniu wydajności absorpcji retinolu z krążenia matczynego, bardziej efektywnemu transportowi retinolu do tkanek, szczególnie wtedy, gdy jego poziom w krążeniu matczynym jest limitowany oraz mobilizacji wątrobowych zapasów witaminy A (**Qadro i wsp., 2005**).

Johansson i wsp. (2001) wykonali dokładniejszą analizę mającą na celu lokalizację RBP w części matczynej i płodowej łożyska w trzech stadiach rozwoju: wczesnej ciąży (między 16 a 35 dniem), średnio zaawansowanej ciąży (od 36 do 69 dnia) oraz późnej ciąży (w dniach 70-79). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono obecność RBP przez cały okres ciąży w części pęcherzykowo-wydzielniczej oraz pomiędzy pęcherzykami, natomiast w trofoblaście stwierdzono obecność tylko w niektórych komórkach w okresie wczesnej ciąży.

Wyniki te sugerują, że RBP w kompleksie z retinolem jest wydzielany przez gruczoły maciczne i absorbowany przez trofoblast oraz, że regiony pęcherzykowo-wydzielnicze pełnią ważną rolę w dostarczaniu retinolu do płodu.

U trzody chlewnej gen białka wiążącego retinol 4 znajduje się w chromosomie 14 (**Messer i wsp. 1996**) i według wyników uzyskanych przez **Drogemüller i wsp. (2001)** odgrywa istotną rolę w okresie największej śmiertelności zarodków, w związku z tym uznany został, jako gen kandydujący do wielkości miotu.

Biorąc pod uwagę powyższe dane literaturowe można stwierdzić, że ważne i uzasadnione są badania mające na celu wykazania wpływu istniejących polimorfizmów w genie *RBP4* na wielkość miotu u świń.

Ostatnim z omawianych genów wykazujących istotny wpływ na użytkowość rozrodczą jest gen receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 – *IGF-1R* (ang. *insulin like growth factor receptor 1*). Insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF) należy do rodziny hormonów białkowych i jego główne działanie polega na regulacji wzrostu i różnicowaniu komórek (**Werner i wsp., 1994, Baker i wsp., 1993**).

Rodzina insulinopodobnych czynników wzrostu obejmuje ligandy (IGF-I, IGF-II oraz insulinę), sześć białek wiążących IGFBP-1-6 oraz specyficzne receptory pośredniczące w działaniu w/w ligand (**LeRoith i wsp., 1995**). Wykrycie obecności IGF-I w macicy świń oraz jego receptorów (IGF-1R) w embrionach (**Simmen i Simmen, 1990**) sugeruje, że może mieć on wpływ na poziom cech reprodukcyjnych tych zwierząt.

Inni badacze (**Youngs i wsp., 1994**) zaobserwowali zaś różnice w tempie wzrostu embrionów pomiędzy różnymi rasami świń.

Ponadto wykazano, że IGF-I reguluje transport łożyskowy glukozy, stymulującej wydzielanie płodowej insuliny, która odpowiedzialna jest między innymi za odkładanie tłuszczu w tkankach płodowych. Badania przeprowadzone przez **Lackey i wsp., (2002)** wykazały wpływ IGF-I nie tylko na poziom cech reprodukcyjnych u osobników żeńskich, ale i męskich. Ponadto **Spiteri-Grech i Nieschlang (1992)** dowiedli, że IGF-I związany jest z początkowym okresem dojrzałości płciowej oraz z rozwojem embrionalnym.

Biologiczne działanie IGF następuje dzięki interakcji z receptorami specyficznych komórek membranowych, które mają duże podobieństwo do tej rodziny białek. Receptor IGF-I jest glikoproteiną składającą się z dwóch pozakomórkowych podjednostek α (135 kDa), które budują IGF i zlokalizowane są w całości w domenie zewnątrzkomórkowej oraz z dwóch podjednostek śród błonowych β (90 kDa) posiadających aktywną kinazę tyrozynową i zlokalizowanych w domenie wewnątrzkomórkowej (**Giudice, 1992**).

Wykazano, że sekwencja DNA receptora IGF-I świni jest homologiczna w 91,9% z sekwencją IGF-IR człowieka oraz w 87,7% z sekwencją DNA szczura, ponadto stwierdzono, że na poziomie aminokwasowym IGF-IR świni wykazuje podobieństwo w 98,1% z IGF-IR człowieka i w 95,2% z IGF-IR szczura (**Harumi i wsp., 2001**).

Gen receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu (*IGF-IR*) zlokalizowany został w 1 chromosomie świni (1q1.7-q2.1) (Ryc.4) i składa się z 22 eksonów przedzielonych sekwencjami intronowymi (**Lahbib-Mansais i wspn., 1995**). Gen *IGF-IR* człowieka zmapowano w 15 chromosomie (15q25-q26) (**Donlon i Malcolm, 1990**) i wykazano, że obejmuje on około 100 kbp genomowego DNA i ma taką samą strukturę jak gen *IGF-IR* świni (**Abbott i wsp., 1992**).

Harumi i wsp. (2001) wykazali istnienie kilku podstawień pojedynczych nukleotydów (SNPs) w genie *IGF-IR* świni. Jednym z takich miejsc jest polimorfizm T/C zlokalizowany w 9 intronie w pozycji 145 i rozpoznawany przez enzym restrykcyjny *SacII*.

W przypadku tego polimorfizmu badano jedynie frekwencje alleli i genotypów genu *IGF-IR* u różnych ras świń (**Kopecny i wsp., 2002**).

W wyniku przeprowadzonych badań wykazano istnienie dwóch alleli (*A* i *B*) oraz trzech genotypów (*AA*, *AB* oraz *BB*) genu *IGF-IR*. **Kopecny i wsp. (2002)** nie podjęli jednak próby ustalenia ewentualnych zależności pomiędzy w/w miejscem polimorficznym a określonymi cechami użytkowymi u loch.

Z dostępnych danych literaturowych wynika, iż istnieją tylko nieliczne źródła informacji dotyczące danych o polimorfizmach genów należących do rodziny IGF u świń. Z tego powodu celowym wydaje się przeprowadzenie badań odnoszących się do określonego miejsca polimorficznego genu *IGF-IR* oraz jego wpływu na poziom cech reprodukcyjnych u świń.

4.2.2. Cel badawczy

Główny cel badawczy dotyczący wszystkich pięciu publikacji stanowiących podstawę o ubieganie się o stopień naukowy doktora habilitowanego polegał na analizie mutacji punktowych typu SNP w wybranych fragmentach genów mających istotne znaczenie z punktu widzenia użytkowości rozrodczej zwierząt.

Cele szczegółowe przedstawionych publikacji:

- poszukiwanie genów kandydujących do statusu „genu głównego” użytkowości rozrodczej zwierząt;
- detekcja polimorfizmu w wytypowanych do analiz fragmentach genów:
 - receptora estrogenu - *ESR* (publikacja **G1, G5**);
 - α 1 fukozylotransferazy - *FUT1* (publikacja **G2**);
 - białka wiążącego retinol 4 - *RBP4* (publikacja **G3**);
 - receptora insulino podobnego czynnika wzrostu 1 – *IGF-1R* (publikacja **G4**);

- oszacowanie częstości występowania alleli i genotypów badanych fragmentów genów w stadach loch (G2, G3, G4, G5) oraz knurów (G1) należących do różnych ras;
- ustalenie asocjacji między poszczególnymi wariantami analizowanych genów, a cechami użytkowości rozrodczej badanych zwierząt.

4.2.3. Materiał i metody badawcze

Materiał badawczy stanowiła krew obwodowa pochodząca z żyły szyjnej zewnętrznej i pobierana od każdego zwierzęcia w objętości około 2 ml do próbek próżniowych zawierających jako antykoagulant K₃EDTA. Z tak pobranej krwi przeprowadzona została izolacja DNA w oparciu o zestaw do izolacji MasterPure™ firmy Epicentre Technologies®. Krew pochodziła od zwierząt należących do różnych ras:

- duroc x pietrain, hampshire x pietrain, pietrain, PIC, linia 990 (**G1**);
- wielka biała polska (**G1, G2, G4, G5**);
- polska biała zwisłoucha (**G1, G2, G4, G5**);
- wielka biała polska x polska biała zwisłoucha (**G2, G3, G4**).

Celem ustalenia genotypów w analizowanych fragmentach polimorficznych badanych genów wykorzystana została metoda PCR-RFLP. Analizę molekularną przeprowadzono w oparciu o cztery mutacje punktowe typu SNP zlokalizowane w określonych miejscach genu:

- receptora estrogenu (*ESR*) – tranzycja C/T zlokalizowana w 8 eksonie rozpoznawana przez *Ava*I, oraz tranzycja A/G występująca w 3 intronie rozpoznawana przez endonukleazę *Pvu*II;
- α1 fukozylotransferazy (*FUT1*) – tranzycja G/A zlokalizowana w 2 eksonie; rozpoznawana przez enzym *Hin*6I;
- białka wiążącego retinol 4 (*RBP4*) – tranzycja C/T zlokalizowana w 3 intronie rozpoznawana przez enzym *Msp*I;
- receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu (*IGF-IR*) - tranzycja T/C zlokalizowana w 9 intronie, rozpoznawana przez restryktazę *Sac*II.

Po uzyskaniu określonych wyników badań PCR-RFLP analizowanych fragmentów genów przeprowadzono analizę statystyczną. W celu określenia struktury genetycznej badanych stad zwierząt oszacowano częstości występowania alleli i genotypów badanych polimorfizmów. Następnie przeprowadzono analizę zależności pomiędzy genotypami a badanymi cechami użytkowości rozrodczej. Analizę statystyczną, przeprowadzono za pomocą pakietu obliczeniowego *SAS/STAT (1996)* wykorzystując procedurę GLM (ang. *General Linear Models*), przy użyciu określonego modelu liniowego.

Uzyskane różnice pomiędzy średnimi wartościami analizowanych cech zostały przetestowane za pomocą wielokrotnego testu rozstępu Duncana.

4.2.4. Uzyskane wyniki badań

Przedmiotem badawczym pierwszej pracy (**G1**), była analiza związku pomiędzy dwoma polimorfizmami genu *ESR* (*ESR/AvaI*, *ESR/PvuII*), a cechami ilościowymi i jakościowymi nasienia knurów. Przeprowadzając doświadczenie wykazano istnienie dwóch alleli i trzech genotypów (w każdym z analizowanych polimorfizmów) genu *ESR* w populacji knurów użytkowanych rozplodowo w tej samej Stacji Hodowli i Unasieniania Zwierząt. Wszystkie knury były utrzymywane w jednakowych warunkach i użytkowane rozplodowo wyłącznie do inseminacji. W badanej populacji knurów analizowano poszczególne cechy jakościowe i ilościowe nasienia (objętość ejakulatu, koncentracja plemników, procent plemników żywych, liczba plemników żywych w ejakulacie) w zależności od genotypów receptora estrogeny.

Analizując częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów stwierdzono, że najwyższą frekwencją charakteryzowały się osobniki o genotypie *AA* dla polimorfizmu *ESR/AvaI*, która wahała się od 0,47 (PIC) do 0,81 (pietrain i hampshire x pietrain).

Dla polimorfizmu *ESR/PvuII*, wykazano najwyższą częstość występowania osobników *CC*, mieszcząc się w przedziałach od 0,42 (PIC) do 0,94 (pietrain). Polimorfizm genu *ESR/AvaI* był również podstawą badań dla innych naukowców, którzy wykazali wyższą frekwencję allelu *A* - 0,87 (**Dromüller i wsp. 1997**) oraz 0,91 (**Dvorak i wsp. 1998**).

W przypadku *ESR/PvuII* podobną frekwencję zaobserwowano w badaniach **Short i wsp. 1997**, **Linville i wsp. 2001** oraz **Kmiecia i wsp. 2002**. Wyższą zaś frekwencję (1.00) wykazał w swoich badaniach **Drogemüller i wsp. 2001**, zaś niższą <0,6 **Legaut i wsp. 1996** oraz **Gibson i wsp. 2002**.

Analizując zależności pomiędzy badanymi cechami nasienia knurów a genotypami receptora estrogeny stwierdzono, że średnia objętość ejakulatu badanych knurów była najwyższa u osobników o genotypie *AA* (220.5 cm³), najniższa zaś u knurów o genotypie *BB* (207.9 cm³), a różnice te zostały potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,01$). **Pawlak i wsp., (1990)** uzyskali natomiast wyższą wartość tej cechy dla knurów rasy pbz - 281,1 cm³, podobnie jak **Gasiński (1999)** - 286 cm³ oraz **Łyczyński i Pawlak (1975)** - 404,8 cm³.

Kolejną omawianą cechą nasienia była koncentracja plemników. Najwyższą wartość dla tej cechy zaobserwowano u knurów o genotypie *BB* ($620.4 \times 10^6/\text{cm}^3$), najniższa zaś koncentracja plemników wystąpiła u osobników o genotypie *AA* ($595.2 \times 10^6/\text{cm}^3$). Podobnie jak w przypadku objętości ejakulatu różnice w koncentracji były statystycznie istotne ($P \leq 0,01$). Wartość ta jest znacznie wyższa od średniej koncentracji plemników uzyskanej przez **Łyczyńskiego i Pawlaka (1975)** wynoszącej 250 [mln/cm³] oraz od średniej wartości tej cechy przedstawionej przez **Pawlaka i wsp., (1990)** - 393 [mln/cm³] i **Gasińskiego (1999)** wynoszącej 411 [mln/cm³].

Istotnym elementem w charakterystyce jakości nasienia jest procent plemników żywych. Uzyskane w niniejszych badaniach wyniki pokazują, że najwyższą wartość dla tej cechy charakteryzowały się knury o genotypie *AA* (72.8%), a najniższą zaś knury o genotypie *BB* (71.0%), a różnice te zostały potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,01$). Średni procent plemników żywych w nasieniu wszystkich badanych knurów spełnia wymagania dotyczące ruchliwości i żywotności plemników (minimum 60% plemników wykazujących ruch prawidłowy) podawane przez **Wilka (1986)**, **Łyczyńskiego i Pawlaka (1975)**, jak również wymogi stawiane dla tej cechy przez **Gasińskiego (1999)**, który podaje, że odsetek plemników żywych powinien wynosić 70-80%.

Kolejnym analizowanym parametrem była liczba plemników żywych w ejakulacie. Jak wynika z przeprowadzonych badań statystycznie istotnie ($P \leq 0,01$) wyższą wartość dla tej cechy mają osobniki o genotypie *AA* (91.6×10^9), najniższą zaś liczbę plemników w ejakulacie uzyskano u knurów o genotypie *BB* (88.7×10^9).

Zbliżone wartości dla liczby plemników żywych w ejakulacie uzyskał w swoich badaniach **Pawlak i wsp., (1990)** – 100,7 [mld], zaś niższe wartości podaje **Łyczyński (1984)** wynoszące 75,3 [mld].

Po przeprowadzonej analizie badawczej stwierdzono istotne statystycznie zależności ($P \leq 0,01$) między genotypami receptora estrogenu dla wszystkich badanych parametrów nasienia, co sugeruje możliwości wykorzystania istniejącego polimorfizmu w genie receptora estrogenu w doskonaleniu cech użytkowości rozplodowej knurów.

Polimorfizm genu *ESR* został analizowany przez wielu badaczy i uznany za „gen kandydat” dla cech użytkowości rozrodczej zwierząt należących do obu płci, co potwierdzają wyniki badań uzyskane w pracy **G5** dotyczącej użytkowości rozrodczej loch. Do eksperymentu włączono 359 loch rasy wielkiej białej polskiej (wbp) oraz 260 osobników należących do rasy polskiej białej zwisłouchiej (pbz). Po pobraniu krwi oraz wyizolowaniu DNA wykonano analizy laboratoryjne wykorzystując metodę PCR-RFLP. W wyniku amplifikacji fragmentu genu *ESR* uzyskiwano produkt reakcji PCR o długości 457 par zasad, który następnie poddawano trawieniu enzymem restrykcyjnym *AvaI* w celu zidentyfikowania poszczególnych alleli i genotypów. W wyniku przeprowadzonych badań ustalono, że allel występował z największą frekwencją u obu analizowanych ras zwierząt: 0,69 (wbp) oraz 0,71 (pbz). Równie wysoką frekwencję dla allelu *A* zanotowali w swoich badaniach **Kmieć i wsp. 2002** oraz **Wang i wsp. 2006**. Dużo wyższą, częstość występowania allelu *A*, wahającą się w przedziale 0,28-0,40 wykazali w swoich badaniach czescy naukowcy (**Vrtkova i Dvorak 2001, Matousek 2003**).

Kolejnym etapem badań była analiza zależności pomiędzy określonymi wariantami genetycznymi genu *ESR*, a badanymi cechami użytkowości rozrodczej loch pochodzącymi z dokumentacji hodowlanej prowadzonej w gospodarstwie, które dotyczyły: ogólnej liczby prosiąt urodzonych, liczby prosiąt żywo urodzonych oraz liczby prosiąt odsadzonych.

W badanym stadzie loch stwierdzono, że osobniki o genotypie homozygotycznym *BB* charakteryzowały się najwyższymi wartościami analizowanych cech we wszystkich badanych miotach, jednakże tylko w przypadku analizy pierwszego miotu dla osobników rasy wbp, uzyskane różnice zostały potwierdzone statystycznie ($P \leq 0.01$). W kolejnych miotach w dalszym ciągu zanotowano związek allelu *B* z wielkością miotu, jednak różnice były mniejsze i statystycznie nie istotne. Podobne wyniki otrzymano analizując asocjacje dla rasy pbz, gdzie tak jak u osobników wbp korzystniejszy okazał się allel *B*, jednak nie wykazano istotności różnic.

Wielu innych naukowców potwierdziło, że gen *ESR* jest uważany jako gen główny dla cech rozrodczych. **Rothschild i wsp. (1996)** w swoich badaniach wykazali istotny związek pomiędzy polimorfizmem w tym genie a wielkością miotu, gdzie różnica w pierwszym miocie wynosiła 1,15 prosięcia na miot i utrzymywała się w kolejnych miotach na poziomie około 0,5 prosięcia na miot.

Podobne analizy przeprowadzili **Short i wsp. (1997)** w stadzie loch należących do rasy large white. Autorzy ci wykazali również przewagę osobników o genotypie *BB* pod względem analizowanych cech rozrodczych która wahała się od 0,31 do 0,42 prosięcia na miot.

Badania przeprowadzone przez **Ye i wsp. (2003)**; **Drogemüller i wsp. (2001)** oraz **Wu i wsp. (2006)** wykazały brak statystycznie istotnych różnic w wartości ogólnej liczby prosiąt urodzonych, liczby prosiąt żywo urodzonych oraz liczby prosiąt odsadzonych pomiędzy lochami z różnymi genotypami genu *ESR*.

Jednak badacze ci analizując wartości badanych cech stwierdzili, że świnie o genotypie *BB* posiadały wyższe wartości w porównaniu z lochami o genotypie *AA* i *AB*. Odwrotne wyniki uzyskali **Van Rens i wsp. (2002)** przeprowadzając badania na lochach pokolenia F_2 należących do ras Meishan×Landrace, gdzie wyższe wartości cech użytkowości rozrodczej można było zauważyć u loch o genotypie *AA*. Podobne dane ukazuje **Goliášová i Wolf (2004)**, uznając allel *A* za korzystniejszy w przypadku cech rozrodczych loch.

Analizując powyższe wyniki badań różnych naukowców można stwierdzić, że gen receptora estrogenu jest związany z cechami użytkowości rozrodczej świń. Nie można jednak jednoznacznie wskazać allelu, który z całą pewnością powodowałby większe wartości cech rozrodczych. Różnice występują przede wszystkim w rasach zwierząt oraz osobnikach różnych płci.

Zakres badań ukazany w publikacji **G2** obejmował analizę zależności pomiędzy wpływem mutacji w genie *FUT1* a wartościami niektórych cech rozrodczych loch rasy: wielkiej białej polskiej, polskiej białej zwisłouchej oraz pochodzących z krzyżowania rasy wielkiej białej polskiej i polskiej białej zwisłouchej. W celu ustalenia genotypów badanego fragmentu genu wykorzystano metodę PCR-RFLP. Jednym z parametrów poddanych analizie była częstość występowania alleli: *A* i *G*. Po oszacowaniu frekwencji alleli stwierdzono, iż we wszystkich stadach z wyższą frekwencją występuje allel *G*. Podobne częstości występowania alleli *A* i *G* uzyskali w swoich badaniach **Horak i wsp. (2004)** u loch rasy Prestice Black - Pied (0,22 i 0,78).

Odmianą częstość występowania alleli *A* i *G* stwierdzili **Klukowska i wsp. (1999)** w stadzie knurów rasy złotnicka pstra (0,63 i 0,37) oraz mieszańców złotnicka pstra i wielka biała polska (0,58 i 0,42).

Następnie etapem badań w pracy **G2**, była analiza częstości występowania poszczególnych genotypów fragmentu genu *FUT1*. Wykazano, że w przypadku loch rasy wbp oraz mieszańców ras wbp x pbz najczęściej występowały osobniki o genotypie *AG*.

Analizując wyniki badań dla świń rasy pbz stwierdzono, że najwięcej jest osobników o genotypie *GG*. Podobne wyniki uzyskali w swoich badaniach **Klukowska i wsp. (1999)**, którzy badali frekwencje występowania genotypów *FUT1* w stadzie knurów. Również wyższą frekwencje występowania genotypu *GG* (0,63) wykazali w swoich badaniach **Horak i wsp. (2004)** w stadzie loch rasy lokalnej Prestice Black – Pied.

Analiza statystyczna poszczególnych wartości cech w odniesieniu do badanych wariantów genetycznych genu *FUT1* wykazała, że osobniki o genotypie *GG* charakteryzowały się największą ogólną liczbą prosiąt urodzonych, liczbą prosiąt żywo urodzonych oraz liczbą prosiąt odsadzonych u wszystkich analizowanych ras loch.

W przypadku analizy I miotu loch rasy polska biała zwisłoucha oraz II miotu loch krzyżówkowych wykazano, że różnice pomiędzy wartościami cech użytkowości rozrodczej loch z różnymi genotypami genu *FUT1* wynosiły prawie jedno prosię na miot i zostały potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,05$).

Z analizy dostępnej literatury wynika, że niewiele jest doniesień dotyczących zależności pomiędzy polimorfizmem *FUT1/Hin6I*, a cechami użytkowości rozrodczej świń. Badania takie przeprowadzili **Horak i wsp. (2004)** w stadzie loch lokalnej rasy Prestice Black – Pied, a liczba osobników ujętych w badaniu wynosiła 104. Również **Klukowska i wsp. (1999)** analizowali polimorfizm genu *FUT1* u knurów należących do różnych ras, jednak w swoich wynikach zawarli jedynie dane dotyczące frekwencji poszczególnych alleli i genotypów.

Przedstawione wyniki badań własnych sugerują możliwość wykorzystania istniejącego polimorfizmu genu *FUT1/Hin6I* w doskonaleniu niektórych cech użytkowości rozrodczej loch.

Bardzo interesującym z punktu widzenia wpływu retinolu na cechy rozrodcze jest gen białka wiążącego retinol 4, który był obiektem badań w pracy **G3**. Materiał do przeprowadzonych badań stanowiła krew obwodowa pochodząca od 444 loch należących do mieszańców ras wbp x pbz. W wyniku amplifikacji fragmentu genu RBP4 uzyskano produkt reakcji PCR o długości 550 par zasad, który następnie poddawano trawieniu enzymem restrykcyjnym *MspI*, w celu zidentyfikowania poszczególnych genotypów. W wyniku przeprowadzonych badań ustalono, że w badanym stadzie loch allel *A* występował z wyższą frekwencją niż allel *B*. Wyniki te są zgodne ze wcześniejszymi doniesieniami innych badaczy (**Drogemüller i wsp. 2001; Rothschild i wsp. 2000; Wang i wsp. 2006; Linville i wsp. 2001**).

Po przeprowadzeniu analizy statystycznej analizowano wartości badanych cech rozrodczych w odniesieniu do poszczególnych wariantów genetycznych *RBP4* i stwierdzono, że osobniki o genotypie *BB* charakteryzowały się największą ogólną liczbą prosiąt urodzonych, liczbą prosiąt żywo urodzonych oraz liczbą prosiąt odsadzonych we wszystkich analizowanych miotach. Niższe zaś wartości poszczególnych cech zaobserwowano u loch o genotypie *AA* oraz u osobników heterozygotycznych *AB*.

W przypadku dwóch pierwszych cech uzyskano statystycznie istotne ($P \leq 0.05$) różnice w pierwszym i drugim miocie, zaś dla liczby prosiąt odsadzonych statystyczne różnice ($P \leq 0.01$) wystąpiły tylko w pierwszym miocie. Przewaga osobników o genotypie *BB* była również zauważalna w kolejnych miotach, jednak nie zaobserwowano tu istotności różnic. Podobne wyniki do prezentowanych w publikacji **G3** uzyskali **Korwin-Kossakowska i wsp. (2005)**, gdzie osobniki o genotypie 22 (oznaczenie odpowiadające wariantowi *BB* w publikacji **G3**) rodziły średnio o 0,84 prosięcia więcej niż te noszące genotyp 11 (odpowiednik genotypu *AA*) oraz o 0,78 prosięcia więcej w porównaniu do loch o genotypie 12 (odpowiednik *AB*).

Zbliżone wyniki uzyskał również **Wang i wsp. (2006)** w badaniach prowadzonych na osobnikach rasy French Landrace. Autorzy ci wykazali, że osobniki o genotypie *BB* posiadały korzystniejsze wartości badanych cech rozrodczych, a największe różnice dotyczyły danych pochodzących z trzeciego miotu. Osobniki noszące genotyp *BB* dawały średnio o 1,6 prosięcia więcej, niż te o genotypie *AB* oraz o 0,79 prosięcia więcej w porównaniu do loch z genotypem *AA*. Również **Terman i wsp. (2007)** analizując materiał genetyczny loch rasy wielka biała polska także wykazał korzystny oraz statystycznie istotny wpływ genotypu *BB* na liczbę prosiąt odsadzonych w pierwszym i drugim miocie.

Całkowicie odmienne rezultaty uzyskali **Rothschild i in. (2000)**, którzy analizując materiał genetyczny pochodzący od 1300 loch z sześciu różnych linii komercyjnych ras stwierdzili, że to allel 1, a nie 2 wpływa korzystnie na ogólną liczbę prosiąt urodzonych. Podobnie **Omelka i wsp. (2008)** wykazali korzystny wpływ genotypu *AA*, na ogólną liczbę prosiąt urodzonych u świń słowackiej rasy White Meaty (WM).

Podsumowując należy stwierdzić, że różni autorzy przeprowadzając analizę oddziaływania polimorfizmu genu *RBP4* na cechy rozrodcze loch wskazywali odmienne genotypy homozygotyczne, jako korzystne. Zjawisko to można prawdopodobnie wytłumaczyć badaniami **Goncalves`a i wsp. (2008)**, którzy podczas analizy stwierdzili interakcję pomiędzy polimorfizmem genu receptora estrogenowego (*ESR-PvuII*) oraz genu białka wiążącego retinol 4 (*RBP4/MspI*). Wykazali oni, że oba genotypy homozygotyczne polimorfizmu genu *RBP4/MspI* mogą korzystnie wpływać na wielkość miotu, jeśli równocześnie osobniki noszą określone genotypy genu receptora estrogenowego *ESR/PvuII*. Analizy te sugerują, że selekcja zwierząt o wysokiej płodności w oparciu o interakcję pomiędzy allelami genów *ESR* i *RBP4* może być bardziej wydajna, niż przy pomocy każdego z nich osobno.

W publikacji **G4** ukazano gen receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (*IGF-1R*) jako nowy marker dla cech użytkowości rozrodczej loch. Eksperyment przeprowadzono na 943 zwierzętach należących do różnych ras: wielka biała polska (312), polska biała zwistoucha (223) oraz 408 mieszańców obu ras wielka biała polska i polska biała zwistoucha.

W przeprowadzonych badaniach dotyczących fragmentu genu *IGF-1R* uzyskano produkt o długości 379 par zasad. Analiza długości fragmentów restrykcyjnych wykazała istnienie dwóch alleli genu *IGF-1R* (*A* i *B*) kontrolujących występowanie trzech genotypów (*AA*, *AB* oraz *BB*). Jak wynika z otrzymanych danych wyższą frekwencją charakteryzował się allel *A* w porównaniu z allelem *B* u świń wszystkich analizowanych ras zwierząt. Wyniki te potwierdzili **Kopečný i wsp. (2002)** prowadząc badania w stadzie świń rasy large white, gdzie uzyskali podobną frekwencję allelu *A* (0,71). Ci sami badacze wykazali większą częstość występowania allelu *A* w stadzie świń rasy czech meat pig (0,77), landrace (0,91) oraz u loch rasy duroc (1,00). Natomiast niższą frekwencję allelu *A* wykazali analizując osobniki rasy hampshire (0,58) oraz meishan (0,21). Biorąc pod uwagę wartości poszczególnych cech rozrodczych wykazano, że najwyższą wartość ogólnej liczby prosiąt urodzonych, liczby prosiąt żywo urodzonych oraz liczby prosiąt odsadzonych stwierdzono u loch o genotypie *BB*, w porównaniu ze świniami *AB* oraz *AA*.

Zależność ta utrzymywała się we wszystkich miotach wszystkich badanych ras zwierząt, co może wskazywać na możliwość włączenia badanego fragmentu genu jako potencjalnego markera selekcyjnego dla tych cech. Z analizy pierwszego miotu wynika, że lochy z genotypem homozygotycznym *IGF-1R BB* rodziły więcej o 0,89 (wbp), 0,72 (pbz) oraz o 1,1 (wbp x pbz) prosięcia, niż świnię o genotypie *AA*, a w przypadku loch należących do ras wbp oraz mieszańców różnice te zostały potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,01$).

Analizując liczbę prosiąt żywo urodzonych oraz liczbę prosiąt odsadzonych w pierwszym miocie stwierdzono, że lochy rasy wbp oraz mieszańce wbp x pbz o genotypie *BB* charakteryzowały się statystycznie istotnie ($P \leq 0,01$) wyższymi wartościami badanych cech w porównaniu z lochami o genotypie *AA* oraz osobnikami heterozygotycznymi *AB*.

Tendencja wyższej wartości cech rozrodczych występowała również u osobników rasy pbz, jednak różnice te nie zostały potwierdzone statystycznie.

Uzyskane wyniki badań wykazały, że lochy mieszańcowe o genotypie *BB* posiadały statystycznie istotnie ($P \leq 0,01$) wyższe wartości cech rozrodczych również w drugim miocie, aniżeli osobniki o genotypie *AB* czy o genotypie *AA*.

Z dostępnych danych literaturowych wynika, że brak jest doniesień dotyczących analizy asocjacji pomiędzy polimorfizmem genu *IGF-1R*, a cechami użytkowości rozrodczej świń. Podobne badania podjęli **Kopečný i wsp. (2002)**, jednakże badacze ci odnieśli swoje wyniki jedynie do określenia frekwencji poszczególnych alleli i genotypów analizowanego miejsca polimorficznego genu *IGF-1R*.

Wyniki zaprezentowane w publikacji **G4** sugerują możliwości wykorzystania genu *IGF-1R* w doskonaleniu niektórych cech użytkowości rozrodczej loch, co jest przyczynkiem do kontynuowania badań molekularnych dotyczących w/w polimorfizmu.

4.2.5. Podsumowanie uzyskanych wyników badań

Przestawiony powyżej cykl monotematycznych publikacji stanowiący podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego dotyczy zagadnienia związanego z poszukiwaniem polimorfizmów we fragmentach genów, których produkty białkowe związane są z użytkowością rozrodczą zarówno knurów, jak i loch. Badania zmierzające do poznania i zrozumienia genetycznej kontroli cech ilościowych, uwzględniające istotny wpływ hormonów białkowych i ich receptorów na przebieg procesów rozrodczych, wyróżniły bowiem analizowane geny jako czynniki mający znaczny wpływ na reprodukcję.

Opublikowane wyniki badań miały na celu ukazanie związku pomiędzy polimorfizmem genu *ESR*, *FUT1*, *RBP4* oraz *IGF-1R*, a użytkowością rozrodczą badanych zwierząt. W wyniku przeprowadzonych analiz można stwierdzić, że wszystkie wybrane do oceny mutacje punktowe typu SNP mają istotne znaczenie dla hodowli z punktu widzenia reprodukcji. W każdym z badanych polimorfizmów wykazano bowiem ścisły związek z tymi jakże ważnymi cechami hodowlanymi. Przedstawione wyniki zostały niejednokrotnie potwierdzone, przez innych naukowców, co tylko potwierdza fakt wykorzystania badanych mutacji w prowadzeniu selekcji wspomaganą markerami - MAS (ang. *marker - assisted selection*).

Uzyskane wyniki badań dla wytypowanych fragmentów genów mogą stanowić w połączeniu z tradycyjnymi metodami hodowlanymi doskonałe narzędzie w genetycznym doskonaleniu liczebności miotów w poszczególnych liniach i rasach świń.

4.2.6. Cytowana literatura

1. **Abbott A.M., Buene R., Pedrine M.T., Murray J.M., Smith R.J.** (1992). Insulin-like growth factor I receptor gene structure. *Journal of Biological Chemistry*, 267, 759-763.
2. **Adams K.L., Bazer F.W., Roberts R.M.** (1981). Progesterone-induced secretion of a retinol-binding protein in the pig uterus. *Journal of Reproduction & Fertility*, 62, 39-47.
3. **Baker J., Liu J.P., Robertson E.J., Efstratiadis A.** (1993). Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell*, 75, 73-82.
4. **Bradley J., Isler M.S.** (2003). An investigation of the associations between several candidate genes and reproductive traits in swine. *Animal Sciences Graduate Program*.
5. **Clawitter J., Trout W.E., Burke M.G., Araghin S., Roberts R.M.** (1990). A novel family of progesterone-induced, retinol-binding proteins from uterine secretions of the pig. *The Journal of biological chemistry*, 256 (6), 3248-3255.
6. **Donlon T.A., Malcolm S.** (1990). Report of the committee on the genetic constitution of chromosome 15. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 55(1-4), 189-193.
7. **Drodemüller C., Hamann H., Distl O.** (2001). Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *Journal of Animal Science* 79, 2565-2570.
8. **Drogemuller C., Thieven U, Harlizius B.** (1997). An *Aval* and a *MspAI* polymorphism at the porcine oestrogen receptor (ESR) gene. *Animal Genetics*, 28(1), 59.
9. **Drógemuller C., Hamann H, Distl O.** (2001). Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *Journal of Animal Science*, 79, 2565-2570.
10. **Drogemuller C., Hamann H., Distl O.** (2001). Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *Journal of Animal Science*, 79(10), 2565-2570.
11. **Dvořák J., Svoboda M., Vrtková I.** (1998). Detekce a frekvence dvou polymorfizmu v lokusu estrogenového receptoru (ESR) u prasat. *Acta Universitatis Agriculturae Et silviculturae Mendeliana Brunensis*, XLVI. S, 21-25.
12. **Enmark E., Gustafsson J.A.** (1999). Oestrogen receptors - an overview. *Journal of Internal Medicine*, 246, 133-138.
13. **Enmark E., Gustafsson J.A.** (1996). Orphan nuclear receptors - the first eight years. *Molecular Endocrinology*, 10, 1293-1307.
14. **Gasiński M.** (1999). Zasady postępowania z nasieniem knura. *Trzoda Chlewna*, 4, 24-26.
15. **Geisert R.D., Zavy M.T., Moffat R.J., Blair R.M., Yellin T.** (1990). Embryonic steroids and the establishment of pregnancy in pigs. *Journal of Reproduction and Fertility*, 27, 957-965.
16. **Gibson J.P., Jiang Z.H., Robinson J.A., Archibald A.L., Haley C.S.** (2002). No detectable association of the ESR PvuII mutation with sow productivity in a Meishan x Large White F2 population. *Animal Genetics*, 33(6), 448-450.
17. **Gibson J.P., Jiang Z.H., Robinson J.A., Archibald A.L., Haley C.S.** (2002). No detectable association of the ESR PvuII mutation with sow productivity in a Meishan x Large White F2 population. *Animal Genetics*, 33(6), 448-50.
18. **Giudice L.C.** (1992). Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocrine Reviews*, 13(4), 641-669.
19. **Goliášová E., Wolf J.** (2004). Impact of the ESR gene on litter size and litter weight in Czech Large White pigs. *Animal Genetics*, 35(4), 293-297.
20. **Goncalves I.D.V., Gonclaves P.B.D., da Silva J.C., Portela V.V., Borges L.F.K., Oliveira J.F.C., Lovatto P.A.** (2008). Interaction between estrogen receptor and retinol-binding protein-4 polymorphisms as a tool for the selection of prolific pigs. *Genetics and Molecular Biology*, 31, 2, 481-486.
21. **Harney J.P., Miranda M.A., Smith L.C., Bazer F.W.** (1990). Retinol-binding protein: a major secretory product of the pig conceptus. *Biology of Reproduction*, 42, 523-532.

22. **Harney J.P., Smith L.C., Simmen R.C.M., Fliss A.E., Bazer F.W.** (1994). Retinol-binding protein: immunolocalization of protein and abundance of messenger ribonucleic acid in conceptus and maternal tissues during pregnancy in pigs. *Biology of reproduction*, 50, 1126-1135.
23. **Harumi T., Maruyama K., Kagami H., Sano A., Matsubara Y., Tagami T., Naito M.** (2001). Cloning of porcine IGF1 receptor cDNA and detection of sequence polymorphisms using RT-PCR. *Animal Genetics*, 32(6), 386-389.
24. **Horak P., Urban T., Dvorak J.** (2005). The FUT1 and ESR genes – their variability and associations with reproduction in Prestice Black – Pied sows. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 122, 210-213.
25. **Johansson S., Dencker L., Dantzer V.** (2001). Immunohistochemical localization of retinoid binding proteins at the materno-fetal interface of the porcine epitheliochorial placenta. *Biology of reproduction*, 64, 60-68.
26. **Klukowska J., Urbaniak B., Świtoński M.** (1999). High frequency of M307^A mutation at FUT1 locus, causing resistance to oedema disease an autochthonus Polish pig breed, the Zlotnicka Spotted. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 116, 519-524.
27. **Kmieć M., Dvořák J., Vrtková I.** (2002). Study on a relation between estrogen receptor (ESR) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed. *Czech Journal of Animal Science*, 47, 189-193.
28. **Knowler J.T., Beaumont J.M.** (1985). The mechanisms of action of oestrogens. *Essays in Biochemistry*, 20, 1-39.
29. **Kopečný M., Stratil A., Bartenschlager H., Peelman L.I., Van Poucke M., Geldermann H.** (2002). Linkage and radiation hybrid mapping of the IGF1R and TPM2 genes to chromosome 1. *Animal Genetics*, 33, 377-405.
30. **Kopečný M., Stratil A., Bartenschlager H., Peelman L.I., Van Poucke M., Geldermann H.** (2002). Linkage and radiation hybrid mapping of the *IGF1R* and *TPM2* genes to chromosome 1. *Animal Genetics*, 33, 377-405.
31. **Korwin-Kossakowska A., Kapelański W., Bocian M., Sender G.** (2005). Preliminary study of the *RBP4*, *EGF* and *PTGS2* genes polymorphism in pigs and its association with reproduction traits of sows. *Animal Science Papers and Reports*, 23, 2, 95-105.
32. **Korwin-Kossakowska A., Sender G., Kamyczek M., Kurył J.** (2006). Badanie polimorfizmu wybranych genów i poszukiwanie ich powiązań z cechami reprodukcyjnymi loch. *Medycyna Weterynaryjna*, 62 (4), 468-470.
33. **Lackey B.R., Gray S.L., Henricks D.M.** (2002). Measurement of leptin and insulin-like growth factor-I in seminal plasma from different species. *Physiological Research*, 51(3), 309-311.
34. **Lahbib-Mansais Y., Yerle M., Gellin J.** (1995). Localization of IGF1R and EDN genes to pig chromosomes 1 and 7 by in situ hybridization. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 71(3), 225-227.
35. **Larsen R.D., Ernst L.K., Nair R.P., Lowe J.B.** (1990). Molecular cloning, sequence and expression of human GDP – L – fucose: β – D – galactoside α – L – fucosyltransferase cDNA that can form the H blood group antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 6674 – 6678.
36. **Legault C., Gruand J., Lebost J.** (1996). Frequency and effect on prolificacy of the ESR gene in two French Large White lines. *Journal of Recherche Porcine France*, 28, 9-14.
37. **LeRoith D., Werner H., Beitner-Johnson D., Roberts Jr C.T.** (1995). Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocrine Reviews*, 16, 143-163.
38. **Linville R.C., Pomp D., Johnson R.K., Rothschild M.F.** (2001). Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *Journal of Animal Science*, 79, 60-67.
39. **Linville R.C., Pomp D., Johnson R.K., Rothschild M.F.** (2001). Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *Journal of Animal Science*, 79, 60-67.
40. **Łyczyński A.** (1984). Przydatność knurów do sztucznego unasieniania na podstawie oceny aktywności płciowej i cech jakości nasienia. *Roczniki Naukowe Akademii Rolniczej Poznań, Rozprawy Naukowe*, 139.

41. **Łyczyński A., Pawlak H.** (1975). Uniasienianie trzody chlewnej. Akademia Rolnicza Poznań, Zakład upowszechniania postępu w rolnictwie, 3 (22).
42. **Matoušek V., Kernerová N., Kolaříková O., Křížová H., Urban T., Vrtková I.** (2003). Effect of RYR1 and ESR genotypes on the fertility of sows of Large White breed in elite herds. Czech Journal of Animal Science, 48, 129-133.
43. **Meijerink E.R., Vogel P., Masabanda J., Wigger G., Stricker C., Neuenschwander S., Bertschinger H.U., Stranzinger G.** (1997). Two $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and Escherichia coli F18 receptor (ECF18R) loci. Mammalian Genome, 8, 736 – 741.
44. **Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W.** (2004). Biochemia Harpera. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa,
45. **Omelka R., Martiniakova M., Peskovicova D., Bauerova M.** (2008). Associations between RBP/Msp4 polymorphism and reproductive traits in pigs: an application of animal model. Journal of Agrobiology, 25, 77-80.
46. **Pawlak H., Szwaczkowski T.M., Mindykowska D.** (1990). Powtarzalność wybranych cech nasienia knurów. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 384, 131-134.
47. **Pusateri A.E., Rothschild M.F., Warner C.M., Ford S.P.** (1990). Changes in morphology, cell number, cell size, and cellular estrogen content of individual littermate pig conceptuses on days 9 to 13 of gestation. Journal of Animal Sciences, 68, 3727-3735.
48. **Quadro L., Hamberger L., Gottesman M.E., Wang F., Colantuoni V.** (2005). Pathways of vitamin A delivery to the embryo: insights from a new tunable model of embryonic vitamin A deficiency. Endocrinology, 146, 4479-4490.
49. **Rothschild M., Jacobson C., Vaske D., Tuggle C., Wang L., Short T., Eckhart G., Sasaki S., McLaren D.G.** (1994). A major gene for litter size in pigs. Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 21, 225-228.
50. **Rothschild M., Jacobson C., Vaske D., Tuggle C., Wang L., Short T., Eckhardt G., Sasaki S., Vincent A., McLaren D., Southwood O., Steen H., Mileham A., Piastow G.** (1996). The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. National Academy of Sciences, 93, 201-205.
51. **Rothschild M., Vaske D., Tuggle C., Messer L., McLaren D., Short T., Eckhart G., Mileham A., Piastow G.** (1995). Estrogen receptor locus is a major gene for litter size in the pig. Book of abstracts of the 46th annual meeting of European Association for Animal Production, 1, 53.
52. **Rothschild M.F., Masser L.A., Day A., Wales R., Short T., Southwood O., Plastow G.** (2000). Investigation of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs. Mammalian Genome, 11, 1, 75-77.
53. **Short T.H., Rothschild M.F., Southwood O.I., McLaren D.G., De Vries A., Van Der Steen H., Eckardt G.R., Tuggle C.K., Helm J., Vaske D.A., Mileham A.J., Plastow G.S.** (1997). Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. Journal of Animal Science, 75, 3138-3142.
54. **Sidhu S.S., Kimber S.J.** (1999). Hormonal control of H-Type (1,2) Fucosyltransferase Messenger Ribonucleic Acid in the Mouse Uterus. Biology of Reproduction, 60, 147-157.
55. **Simmen F.A., Simmen R.C.M.** (1990). Regulation of uterine and conceptus secretory activity in the pig. Journal of Reproduction and Fertility, 40, 279-292, 11-116.
56. **Spiteri-Grech J., Nieschlag E.** (1992). The role of growth hormone and insulin-like growth factor I in the regulation of male reproductive function. Hormones Research, 38 (1), 22-27.
57. **Terman A., Kmiec M., Polasik D., Pradziadowicz K.** (2006). Retinol binding protein 4 gene and reproductive traits in pigs. Archiv fur Tierzucht, Dummerstorf, Special Issue, 50, 181-185.
58. **Van Rens B.T.T.M., De Groot P.N., van der Lende T.** (2002). The effect of estrogen receptor genotype on litter size and placental traits at term in F2 crossbred gilts. Theriogenology, 57(6), 1635-1649.
59. **Vrtková I., Dvořák J.** (2001). Genetic variability in the ESR locus in pigs of the Landrace and Large White breeds kept in the Czech republic. Czech Journal Animal Science, 46, 185-187.

60. **Wang X., Wang A.G, Fu J., Lin H.** (2006). Effects of ESR1, FSHB and RBP4 genes on litter size in Large White and Landrace Herd. *Archiv fur Tierzucht, Dummerstorf*, 49, 1, 64-70.
61. **Werner H., Adamo M., Roberts C.T. Jr, LeRoith D.** (1994). Molecular and cellular aspects of insulin-like growth factor action. *Vitamins and Hormones*, 48, 1-58.
62. **Wilk St.** (1986). Propozycje kryteriów oceny przydatności rozplodowej knurów, *Przegląd Hodowlany*, 16-17.
63. **Wu ZF, Liu DW, Wang QL, Zeng HY, Chen YS, Zhang H.** (2006). Study on the association between estrogen receptor gene (ESR) and reproduction traits in Landrace pigs. *Yi Chuan Xue Bao*, 33(8), 711-716.
64. **Ye C H., Yang G F., Wu Z F.** (2003). Study on the application of porcine estrogen receptor gene and the genetic effect of it on the litter size traits in pigs. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 29(1), 47-49.
65. **Ying C., Hsu W.-L., Hong W.-F., Cheng W.T.K., Yang Y.-C.** (2000). Estrogen receptor is expressed in pig embryos during preimplantation development. *Molecular Reproduction and Development*, 55, 83-88.
66. **Youngs C.R., Christenson L.K., Ford S.P.** (1994). Investigations into the control of litter size in swine: III. A reciprocal embryo transfer study of early conceptus development. *Journal of Animal Science*, 72, 725-731.

5. Pozostałe formy aktywności naukowo-badawczej

Od początku związania się z Katedrą Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt prowadzone przeze mnie badania koncentrują się na możliwości wykorzystania polimorfizmu DNA fragmentów genów, których produkty białkowe uczestniczą w wyrażaniu istotnych cech użytkowych, do wczesnego szacowania wartości użytkowej i hodowlanej zwierząt gospodarskich. W obrębie przedstawionej działalności naukowo-badawczej można wyróżnić następujące kierunki badań:

- 5.1. wpływ czynników genetycznych na poziom cech użytkowości rozrodczej knurów i loch;
- 5.2. detekcja polimorfizmu wybranych fragmentów genów, a jakość mięsa i tuszy świń;
- 5.3. poszukiwanie markerów genetycznych związanych cechami użytkowości mlecznej krów.

Poniżej przedstawiono charakterystykę przeprowadzonych badań naukowych w ramach wyodrębnionych wyżej głównych kierunków.

Ad. 5.1. Wpływ czynników genetycznych na poziom cech użytkowości rozrodczej knurów i loch

Już jako student intensywnie uczestniczyłem w problematyce badawczej prowadzonej w Katedrze Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt, która dotyczyła głównie poszukiwania polimorfizmów DNA w genach ważnych z punktu widzenia reprodukcji. Tematyka związana z cechami rozrodczymi świń była i jest głównym nurtem moich zainteresowań i obejmuje 54 prace naukowe.

Polimorfizm genów może wpływać bezpośrednio na jego ekspresję poprzez zmiany w składaniu transkryptów mRNA, jak również może służyć jako marker genetyczny sprzężony z genem o dużym efekcie działania, wpływającym na kształtowanie się cechy ilościowej. Geny, które podlegają mojemu zainteresowaniu wybierane są na podstawie funkcji fizjologicznych produktów białkowych, które kodują. Wśród analizowanych genów pod kątem cech użytkowych można wyróżnić: gen receptora prolaktyny (*PRLR*), gen leptyny (*LEP*), gen receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (*IGF-1R*), gen receptora estrogeny (*ESR*), gen białka wiążącego retinol 4 (*RBP4*), gen α 1 fukozylotransferazy (*FUT1*), gen 21 - hydroksylazy steroidowej (*CYP21*), gen peroksydazy glutationowej 5 (*GPX5*), gen hormonu wzrostu (*GH*), gen receptora ryanodiny (*RYR1*) oraz gen hormonu folikulotropowego (*FSHB*). Gen *PRLR* był pierwszym i głównym obiektem moich zainteresowań. W swoich badaniach udowodniłem, że polimorfizm w tym genie ma istotne znaczenie w doskonaleniu cech użytkowości rozrodczej zarówno knurów (**a4, A14, e4**), jak i loch (**a1, a5, A13, b1, B3, d1, d7, D11, e1, e5, e7, E26**). Badania te stanowiły część analiz realizowanych w ramach grantu promotorskiego, **2 P06D 034 26** pt. „Charakterystyka genetyczna stada loch na podstawie polimorfizmu wybranych genów kandydujących do statusu „genów głównych” użytkowości rozrodczej.

W projekcie tym obok genu *PRLR* analizie podlegał również polimorfizm genu *IGF-1R* (**D13, E20, F10**) oraz genu *LEP* (**A13, A22**), jednak w przypadku tego ostatniego nie udowodniono jego wpływu na użytkowość rozrodczą badanych zwierząt. Kontynuacją prowadzonych badań była próba wykazania związku polimorfizmu genu *ESR* z cechami użytkowości rozrodczej knurów (**a7, a10, d3, e3, e8, f2, f4**) oraz loch (**d5, D12, e12**), gdzie wykazano istotne zależności pomiędzy wariantami tego genu a rozrodczością zwierząt. Przeprowadzono również badania, które wykazały istotne zależności pomiędzy polimorfizmem genu *RBP4* (**A17, d8, E16**), *RYR1* (**a2, a6, a9, e2, e11, f3**), genu *FUT1* (**E21**), genu *GPX5* (**A18, E17, E25, F14**), genu *CYP21* (**A15, d4, e13, f6, f8**), genu *GH* (**A16, d6**), genu *FSHB* (**E27**) oraz genu *FABGL* (**A19, D14, E18**), a cechami użytkowości rozplodowej świń.

Analizując wykazane asocjacje pomiędzy polimorfizmami badanych fragmentów genów, a cechami związanymi z użytkowością rozrodczą można stwierdzić, że zostały one prawidłowo wybrane do analiz i wskazują na możliwości ich wykorzystania w pracy hodowlanej.

Ad. 5.2. Detekcja polimorfizmu wybranych fragmentów genów, a jakość mięsa i tuszy świń

W ramach kolejnego kierunku badań jako pierwszy analizowany czynnik genetyczny, który w istotny sposób wpływa na jakość tuszy i mięsa był polimorfizm genu receptora ryanodiny (*RYR1*), zwany inaczej genem wrażliwości na stres. Wynikiem tych analiz były publikacje (**a3, a8, A12, A23, A24, A28, A30, e6, E15, f1, f5**). Po przeprowadzeniu powyższych analiz, wykazano, że osobniki o genotypie wrażliwości na stres *TT* charakteryzują się wyższą mięsnością, a ponadto niższą zawartością tłuszczu śródmięśniowego w porównaniu z pozostałymi osobnikami. Zwierzęta o genotypie heterozygotycznym *CT* posiadały wartości zbliżone do osobników *CC* pod względem cech jakości tuszy i mięsa, co uzasadnia fakt konieczności prowadzenia prac selekcyjnych mających na celu wyeliminowanie allelu *T* ze stad rodzicielskich celem poprawy jakości mięsa.

Kolejnym zagadnieniem z cechami jakości tuszy była analiza prowadzona na tucznikach hybrydowych, które po ustaleniu genotypów okazały się wolne od wariantu genetycznego *TT* genu *RYR1*. Badania dotyczyły próby wykazania związku polimorfizmu genu *GH* (**A20, E19**) oraz genu *LEP* (**A23, A24**) z cechami jakości tuszy i mięsa świń. W przypadku genu *GH* nie wykazano istotnego związku z w/w cechami, zaś analizując polimorfizm genu *LEP* okazało się, że wszystkie osobniki są monomorficzne, jednak charakteryzują się wysoką mięsnością i jakością mięsa. Kolejne badania były związane z projektem badawczym w którym byłam głównym wykonawcą N311 039 32/2610 pt. "Kształtowanie się cech jakości tuszy i mięsa tuczników w zależności od polimorfizmu restrykcyjnego genów osi somatotropowej", gdzie wykazaliśmy istotny wpływ badanych polimorfizmów genu *GH* na poziom cech użytkowości tucznej i rzeźnej (**A26, A27**).

W kolejnych badaniach wykazałem istotne asocjacje pomiędzy polimorfizmem genu *CAST* (**A30**), oraz genu *PPARGC1A* (**F16**) z cechami jakości tuszy i mięsa świń.

W dalszej części moje badania realizowałem w ramach projektu badawczego **N311 060 32/3422** pt. "Polimorfizm wybranych genów kandydujących do statusu „genów głównych” dla cech jakości tuszy świń", gdzie byłem głównym wykonawcą. W badaniach tych podjęliśmy próbę wykrycia polimorfizmów w protoonkogenach: *c-ski*, *c-FOS* i *c-myc*, genach enzymów proteolitycznych: kalpainsy (*CAPN*) i katepsyny B (*CTSB*), oraz ich inhibitorów: kalpastatyny (*CAST*), cystatyny B (*CSTB*), jak również w genach zlokalizowanych w chromosomie 4 świni: *DGAT1*, *AMPD1* i *AGL*, a następnie ustalenia zależności między poszczególnymi wariantami badanych genów a cechami użytkowości tucznej i rzeźnej świń.

Uzyskane wyniki badań własnych sugerują możliwości wykorzystania istniejących polimorfizmów analizowanych genów w doskonaleniu cech użytkowości rzeźnej i tucznej świń, co znalazło potwierdzenie w opublikowanych pracach (**A25, B5, E22, E23, E24, F11, F12**).

Uczestniczyłem również w badaniach mających na celu analizę poziomu tłuszczu śródmięśniowego w szynce i polędwicy oraz poziomu tłuszczu okrywowego tych wyrębów w zależności od wieku badanych zwierząt, rasy, jak również poziomu ekspresji genów *H-FABP* i *LEPR*. Przeprowadzone badania wykazały istotne związki pomiędzy analizowanymi czynnikami i dowodzą złożoności procesów związanych z otluszczeniem tusz i nie do końca poznanej roli wytypowanych genów, a także narządów i tkanek w tym procesie (**A31**).

Ad. 5.3. Poszukiwanie markerów genetycznych związanych cechami użytkowości mlecznej krów

Jak wynika z przedstawionych wyżej opisów moje zainteresowania naukowe koncentrują się przede wszystkim na gatunku zwierząt jakimi są świnię, jednak w trakcie mojej pracy zawodowej uczestniczyłem również w niewielkim stopniu w badaniach mających na celu poszukiwania potencjalnych markerów genetycznych, które będą powiązane z użytkowością mleczną krów. Badania prowadziliśmy w zespole pracowników Katedry Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt, a wyniki tych analiz są przyczynkiem do dalszych badań i były główni prezentowane na konferencjach naukowych. Głównym obiektem badań były geny wchodzące w skład osi somatotropowej: gen *GHRH* (**A21, d2, D10**), gen *GH* (**e9, f7**), gen *IGF-1* (**A29**) oraz gen *LEP* (**e14, F9**) i gen *CYP19* (**e10**). Wyniki, które uzyskaliśmy w trakcie przeprowadzonych badań ukazują wpływ poszczególnych polimorfizmów na cechy związane z użytkowością mleczną krów należących do różnych ras. Przedstawione wyniki badań wymagają jednak weryfikację i należy traktować je jako asumpt do dalszych analiz, które prowadzone są przez pracowników Katedry zaangażowanych w prace badawcze związane z genetyką molekularną cech użytkowych bydła.

W trakcie mojej dotychczasowej pracy naukowej uczestniczyłem również w projekcie, gdzie zaangażowany byłem w projekt polegający na poszukiwaniu nowych mutacji punktowych w 10 eksonie genu receptora hormonu wzrostu (*GHR*) u szynszyli. W wyniku realizacji tych badań wykazaliśmy istnienie trzech nowych mutacji, które zostały zdeponowane w GenBanku pod numerem akcesyjnym AY 701337 oraz opublikowane (**A11, D9**).

6. Udział w projektach badawczych:

6.1. Projekty w ramach KBN/MNiSW:

- 2004-2005 Grant promotorski MNiSW, 2 P06D 034 26 „Charakterystyka genetyczna stada loch na podstawie polimorfizmu wybranych genów kandydujących do statusu „genów głównych” użytkowości rozrodczej.
- 2007-2010 Projekt badawczy MNiSW, N311 060 32/3422 "Polimorfizm wybranych genów kandydujących do statusu „genów głównych” dla cech jakości tuszy świń" (Główny wykonawca).
- 2007-2009 Projekt badawczy MNiSW, N311 039 32/2610 "Kształtowanie się cech jakości tuszy i mięsa tuczników w zależności od polimorfizmu restrykcyjnego genów osi somatotropowej" (Główny wykonawca).
- 2008-2012 Projekt systemowy „Zamawianie kształcenia na kierunkach technicznych, matematycznych i przyrodniczych – pilotaż” w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki - Priorytet IV „Szkolnictwo wyższe i nauka”, Działanie 4.1. „Wzmocnienie i rozwój potencjału dydaktycznego uczelni oraz zwiększenie liczby absolwentów kierunków o kluczowym znaczeniu dla gospodarki opartej na wiedzy” (Kierownik projektu).

6.2. Projekty w ramach badań własnych AR w Szczecinie/ZUT w Szczecinie:

- 2001-2003 Grant doktorski AR w Szczecinie, BW/ DB/ 03 /2001 „Detekcja mutacji w genie receptora prolaktyny (PRLR) oraz próba ustalenia zależności pomiędzy polimorfizmem w tym genie a cechami nasienia knurów użytkowanych w Stacji Hodowli i Unasienniania Zwierząt” (Kierownik projektu).
- 2005-2008 Grant w ramach badań własnych AR w Szczecinie, BW/IB/06/2005 „Polimorfizm genów osi somatotropowej u bydła czerwono-białego” (Wykonawca).
- 2007-2009 Grant habilitacyjny AR w Szczecinie - BW/HB/05/07 „Wpływ polimorfizmu wybranych genów zlokalizowanych w chromosomie 4 na poziom cech jakości tuszy świń” (Kierownik projektu).
- 2007-2010 Grant w ramach badań własnych ZUT w Szczecinie, BW/DB/03/07, „Polimorfizm genu receptora hormonu wzrostu świń” (Wykonawca).
- 2010-2012 Grant w ramach Rektorskiej Kadry Habilitantów ZUT w Szczecinie, 502-01-022-1325-98/3 „Wpływ polimorfizmu wybranych genów zlokalizowanych w chromosomie 4 na poziom cech jakości tuszy świń” (Kierownik projektu).

6.3. Projekty w ramach badań statutowych/utrzymania potencjału badawczego:

- 2002-2008 Projekt statutowy, 501-01-022—1187-02/02, „Polimorfizm wybranych genów a cechy charakteryzujące jakość mięsa wieprzowego”.
- 2002-2008 Projekt statutowy, 501-01-022—1187-03/02 „Identyfikacja mutacji odpowiedzialnych za występowanie syndromu BLAD i DUMPS w stadach bydła”.
- 2002-2008 Projekt statutowy, 501-01-022—1187-04/02 „Poszukiwania zależności między polimorfizmem w wybranych genach a cechami użytkowości rozplodowej loch i knurów”.
- 2011-2013 Projekt statutowy, 518-01-022-3115-01/18 „Analiza zależności między polimorfizmem DNA wybranych genów, a cechami użytkowymi zwierząt”.

7. Wykaz dorobku naukowego**7.1. Zestawienie publikacji naukowych z podziałem na: oryginalne prace twórcze, artykuły przeglądowe, popularno-naukowe, prace i komunikaty konferencyjne**

Rodzaj publikacji	Liczba publikacji	IF ^{a)}	Suma pkt. wg MNiSW ^{b)}	Suma pkt. wg MNiSW ^{c)}
Oryginalne prace twórcze				
- opublikowane w czasopismach z bazy JCR	19	11,867	355	455
- w tym w recenzowanych suplementach	4	2,448	0	100
- opublikowane w czasopismach spoza bazy JCR	17	0	65	165
- w tym w recenzowanych suplementach	5	0	0	100
Ogółem oryginalne prace twórcze	36	11,867	420	620
Artykuły przeglądowe	5	0	44	44
Artykuły popularno-naukowe	2	0	0	0
Prace i doniesienia konferencyjne	57	0	0	0
Ogółem publikacje naukowe	100	11,867	464	664

a) sumaryczny Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy;

b) liczba punktów wg wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 21.12.2012);

c) liczba punktów wg wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 21.12.2012) łącznie z pracami mającymi formę recenzowanych rozpraw naukowych opublikowanymi w suplementach.

7.2. Zestawienie liczbowe czasopism w których opublikowano prace naukowe

Lp.	Nazwa czasopisma	Liczba publikacji	IF ^{a)}	IF ^{b)}	Punkty wg MNiSW	Suma pkt ^{c)}	Suma pkt ^{d)}
1.	Archiv fur Tierzucht - w tym w suplementach	7 4	3,711 2,448	4,627 2,644	25 0	75 0	175 100
2	Journal of Applied Genetics	2	0	1,749	20	40	40
3	Journal of Animal Breeding and Genetics	1	0,838	1.947	40	40	40
4	Acta Veterinaria Brno	1	0,687	0,539	20	20	20
5	Journal of Animal and Veterinary Advances *	2	0,578	0	20	40	40
6	Tierarztliche Umschau *	3	0,49	0.495	15	45	45
7	Agricultural and Food Science	1	0,925	0.896	25	25	25
8	Acta Agriculturae Scandinavica Section A – Animal Science *	1	0,729	0.696	20	20	20
9	Animal Science Papers and Reports - w tym w suplementach	6 5	0.553 0	0 0	20 0	20 0	120 100
10	Russian Journal of Genetics *	1	0,427	0.485	15	15	15
11	Molecular Biology Reports	1	2.929	2.809	15	15	15
12	Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica	3	0	0	5	15	15
13	Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego - obecnie Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego	1	0	0	5	5	5
14	Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis Zootechnica - obecnie Folia Pomeranea Universitatis Technologiae Stetinensis Agricultura Alimentaria Piscaria et Zootechnica	2	0	0	5	10	10
15	Annals of Animal Science	1	0	0	15	15	15
16	Polish Journal of Food and Nutrition Science	1	0	0	8	8	8
17	Electronic Journal of Polish Agricultural Universities	1	0	0	7	7	7
18	Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Sectio EE Zootechnica	1	0	0	5	5	5
19	Przegląd Hodowlany	1	0	0	4	4	4
20	Medycyna Weterynaryjna	4	0	0	10	40	40
21	Wiadomości rolnicze	2	0	0	0	0	0
22	Prace i komunikaty konferencyjne	57	0	0	0	0	0
	Razem	100	11,867	14,243	-	464	664

* czasopisma w których opublikowano prace stanowiące cykl monotematyczny;

- a) sumaryczny Impact Factor (IF) wg. bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy;
- b) sumaryczny 5 – letni Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy;
- c) suma punktów wg wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 21.12.2012);
- d) suma punktów wg wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 21.12.2012) łącznie z pracami mającymi formę recenzowanych rozpraw naukowych opublikowanymi w suplementach.

7.3. Zestawienie publikacji naukowych z podziałem na oryginalne prace twórcze, artykuły przeglądowe, artykuły popularno-naukowe, prace i komunikaty konferencyjne opublikowane przed i po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Rodzaj publikacji	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
Oryginalne prace twórcze			
- opublikowane w czasopismach z bazy JCR	1	18	19
- w tym w recenzowanych suplementach	0	4	4
- opublikowane w czasopismach spoza bazy JCR	7	10	17
- w tym w recenzowanych suplementach	5	0	5
Ogółem oryginalne prace twórcze	8	28	36
Artykuły przeglądowe	1	4	5
Artykuły popularno-naukowe	2	0	2
Prace i doniesienia konferencyjne	32	25	57
Ogółem publikacje naukowe	43	57	100

7.4. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

Mój dorobek naukowy obejmuje łącznie 100 publikacji, z czego 43 przypada na okres przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora, a 57 po jego uzyskaniu.

Na dotychczasowy dorobek składa się:

- 36 oryginalnych prac twórczych, w tym 18 w zagranicznych czasopismach z bazy JCR, 1 w krajowych z bazy JCR oraz 17 w krajowych spoza bazy JCR,
- 5 artykuły przeglądowe,
- 2 artykuły popularno-naukowe,
- 57 doniesień i komunikatów na konferencyjnych krajowych i zagranicznych.

7.5. Wartość naukowa dorobku publikacyjnego

- suma punktów za publikacje wg wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 21.12.2012) wynosi 464 punkty,
- suma punktów za publikacje wg wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 21.12.2012) łącznie z pracami mającymi formę recenzowanych rozpraw naukowych opublikowanymi w suplementach wynosi 646 punkty,
- sumaryczny Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy - 11,867,
- sumaryczny 5 - letni Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy - 14,243,
- liczba cytowani publikacji wg bazy ICI Web of Science - 60 (bez autocytowań 53),
- średnia liczba cytowań w roku wg bazy ICI Web of Science - 5,45,
- index Hirscha wg bazy ICI Web of Science - 4.

Arkadiusz Terman