

Dr hab. Marcin Łoś, profesor nadzwyczajny UG  
Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii  
Wydział Biologii  
Uniwersytet Gdański  
Ul. Wita Stwosza 59  
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 24.09.2019

### **Recenzja**

rozprawy doktorskiej mgr Martyny Krejmer-Rąbalskiej pt. "Metody detekcji oraz charakterystyka genetyczna bakulowirusów infekujących gąsienice żerujące na drzewach o znaczeniu gospodarczym"  
przygotowanej pod kierunkiem naukowym Promotora Prof. dr hab. Bogusława Szewczyka i  
Kopromotora dr hab. Iwony Skrzecz

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska ma postać obszernej (194 strony), monografii o strukturze typowej dla prac doświadczalnych. Składa się ona ze *Spisu skrótów (w pracy nazwanym po prostu „Skróty”)*, *Streszczenia i Streszczenia w języku angielskim*, *Wprowadzenia*, które bardzo dobrze zaznajamia czytelnika z podstawami tematyki badawczej, *Celu pracy, Materiałów, Metod, Wyników, Dyskusji, Wniosków i Aneksu*.

Mgr Martyna Krejmer-Rąbalska w przedkładanej rozprawie doktorskiej podejmuje bardzo ważną i aktualną tematykę badawczą jaką jest charakteryzacja i lepsze poznanie nowych gatunków bakulowirusów. Badania te są bardzo ważne, ze względu na to, że pozwalają nam nie tylko lepiej zrozumieć biologię i ewolucję bakulowirusów, lecz również dają nadzieję na wykorzystanie tej wiedzy w praktyce w postaci ulepszonych preparatów biopestycydowych, które z kolei mogą znacząco zmniejszyć ilość wykorzystywanych w ochronie roślin preparatów chemicznych. Zalety takiego rozwiązania doktorantka dość obszernie opisała we wstępie do pracy, co pozwala czytelnikowi nie obeznanemu z tematem lepiej zrozumieć cele pracy. Dzięki przełożeniu wyników na aspekty wpływające na życie codzienne każdego z nas, praca ta może zostać odebrana jako ważna i wartościowa również przez osoby, które na co dzień nie zajmują się nauką, szczególnie, że zaangażowana jest ona

w godne propagowania działania, zmierzające ku zmniejszeniu oddziaływania rolnictwa na środowisko.

Treść wstępu jest dobrze dobrana i stanowi bardzo dobrą teoretyczną podstawę, która pomaga czytelnikowi w interpretacji wyników części doświadczalnej. We wstępie omówione są różne aspekty biologii, systematyki i struktury bakulowirusów oraz ich genomu. W dalszej części wstępu przybliżane są zagadnienia związane z charakterystyką i cyklem życiowym gospodarzy scharakteryzowanych w pracy bakulowirusów.

Cele pracy są jasno zdefiniowane jako wykorzystanie nowoczesnych technik do detekcji i charakterystyki genetycznej bakulowirusów wyizolowanych z gąsienic szkodników ważnych gospodarczo drzew oraz opracowanie metody umożliwiającej detekcję oraz różnicowanie gatunków bakulowirusów z próbek środowiskowych.

Dobór metod badawczych jest prawidłowy. Pozwoliły one osiągnąć zdefiniowane cele badawcze, i uzyskać niezwykle cenne i interesujące wyniki.

Dobór literatury i materiałów źródłowych świadczy o dobrej orientacji Doktorantki w temacie badań. W swojej pracy, mgr Martyna Krejmer-Rąbalska obficie czerpie głównie z najnowszych dokonań naukowych, ale również nie pomija starszych, często trudnych do zdobycia pozycji literaturowych. Cytowana literatura jest bardzo obszerna i zawiera 264 pozycji. W związku z cytowaniem publikacji takich jak:

Heqvist, K., **1949**. Om bokspinnarens (*Dasychira pudibunda* L.) upptradande i Halland ar 1946. *Sven. Skogsvardsforeningens Tidskr.* 4, 219–227.

Angelini, A., Amargier, A., Vandamme, P., Duthoit, J.L., **1965**. Une virose a granules chez le Lepidoptere *Agryroplote leucotreta*. *Coton Fibres Trop* 20, 277–282.

nasuwa się pytanie, czy doktorantka włada tyłoma językami obcymi, czy raczej miała dostęp do tłumaczenia wybranych pozycji literaturowych?

Recenzowana praca niestety nie jest zbyt starannie napisana. W wielu miejscach widać dosyć brawurowe podejście doktorantki do interpunkcji. Przekradły się do tekstu również dosyć liczne literówki i błędy edytorskie, wynikające prawdopodobnie z wielokrotnej edycji tego samego zdania i braku końcowej jego korekty. Przykładem takiego zdania jest „Trzeci opisany genom należy do alfabakulowirusa DapuNPV i jest to pierwszy izolat pochodzący z gąsienic szczeroteczniczy szarawki, a długość jego genomu 136761 pz i koduje 161 otwartych ramek odczytu.”, które to zdanie miało nieszczęście znaleźć się w streszczeniu pracy. Streszczenie jest bodajże najczęściej czytana częścią każdej pracy naukowej i można by było się spodziewać szczególnej troski i uwagi przy jego pisaniu. W pracy jest też sporo slangu laboratoryjnego i sformułowań, które są dosyć trudne w odbiorze, jak np. sformułowanie „Drzewo filogenetyczne metodą największego podobieństwa”. Generalnie, tekst doktoratu, przed jakimkolwiek opublikowaniem w języku polskim, czy to w postaci książki, czy artykułu oryginalnego lub przeglądowego, powinien zostać poddany bardzo dokładnej korekcie.

Przystępując do oceny uzyskanych rezultatów, muszę przyznać, że prace przeczytałem z dużym zainteresowaniem. Porusza ona tematy, które wydały się mi bardzo interesujące i aktualne. Jednocześnie praca jest spójna i dobrze ustrukturyzowana, co znacznie ułatwia jej odbiór i zrozumienie zaprezentowanych w niej wyników.

Sekwencjonowanie i anotacja genomów bakulowirusów DapuNPV, LdMNPV-BNP i LdMNPV-RR01 przyniosły bardzo ciekawe wyniki w postaci nie tylko ich pełnej sekwencji, wykorzystanej później, łącznie z dotychczasowo znanymi sekwencjami, do skonstruowania nowych szybkich metod diagnostycznych pozwalających różnicować bakulowirusy, lecz również w postaci identyfikacji genów o unikalnych funkcjach, takich jak gen kodujący fotoliazę w LdMNPV-BNP czy gen *ubil* w DapuNPV. Zabrakło mi w rozprawie dyskusji na temat potencjalnego znaczenia tych genów dla cyklu infekcyjnego wirusa. Obecność fotoliazy może nie być oczywista w genomie wirusa, a dane przedstawione na Rycinie 53 wskazują na to, iż ten unikalny gen jest jednak obecny u dosyć dużej grupy bakulowirusów. Biorąc pod uwagę to, jak bardzo oszczędne są genomy wirusowe w nabywaniu nowych funkcji, można wysnuć wniosek, że fotoliaza ta może być bardzo istotna dla cyklu infekcyjnego badanego wirusa.

Bardzo ważną częścią pracy o dużym znaczeniu nie tylko w dalszych badaniach, lecz również w praktyce było opracowanie dwóch metod detekcji i charakteryzacji bakulowirusów na bazie powielania wybranych fragmentów DNA. Pierwsza metoda oparta na technice wielotemperaturowego konformacyjnego polimorfizmu jednoniciowego DNA (MSSCP) pozwala na różnicowanie, w procesie powielania DNA i elektroforezy w żelu o skokowo zmiennej temperaturze, produktów PCR o tej samej długości, lecz różniących się sekwencjami. Druga z metod wykorzystuje coraz popularniejszą i tańszą technikę PCR czasu rzeczywistego, która jest w stanie różnicować temperaturę topnienia produktów reakcji PCR, w pełni zależną od sekwencji powielanego fragmentu. Odpowiedni dobór amplifikowanych fragmentów przy zastosowaniu obu tych technik dał bardzo dobre rezultaty i pozwolił na szybkie i precyzyjne różnicowanie gatunków granulowirusów (Ryc. 62 i 65). Moim zdaniem, metoda oparta na PCR w czasie rzeczywistym ma znacznie większe szanse na szerokie wykorzystanie w laboratoriach badawczych i diagnostycznych, dzięki znacznie większej dostępności użytego sprzętu oraz stosunkowo niskim nakładom niezbędnym w tej metodzie prac manualnych. Nie bez znaczenia jest też odporność metody na zanieczyszczenie amplifikowanym DNA z poprzednich testów, co od zawsze było bolączką laboratoriów o profilach diagnostycznych wykorzystujących metody oparte na amplifikacji kwasów nukleinowych.

Jednym z braków w tej pracy, który jest szczególnie dotkliwy dla recenzenta, ale w zasadzie nie wpływa w zasadniczy sposób na jej wartość, jest brak listy publikacji doktorantki. Wynik wyszukiwania dorobku naukowego doktorantki w bazie PubMed to sześć publikacji w tym trzy w *International Journal of Molecular Sciences*, jedna w *BMC Genomics*, jedna w *Viruses* i jedna w *Journal of Invertebrate Pathology*. Jest to naprawdę porządny dorobek, który kwalifikowałby się do rozprawy w formie zbitki artykułów opatrzonej stosownym komentarzem i dyskusją.

## Wnioski końcowe

W oparciu o dokonaną analizę treści przedstawionej mi do recenzji pracy mgr rozprawy doktorskiej mgr Martyny Krejmer-Rąbalskiej pt. "Metody detekcji oraz charakterystyka genetyczna bakulowirusów infekujących gąsienice żerujące na drzewach o znaczeniu gospodarczym" na podstawie zawartych w niej wyników i w odniesieniu do aktualnej wiedzy w temacie przedstawionych badań stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora w zakresie nauk biologicznych. W związku z tym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pani mgr Martyny Krejmer-Rąbalskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie w uznaniu dla wartości i aktualności zawartych w recenzowanej pracy wyników, wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o stosowne jej wyróżnienie.

 **UNIwersytet Gdański**  
Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii  
*dr hab. Marcin Łoś*  
*profesor nadzwyczajny*