



Poznań, 21.05.2016

## **Ocena rozprawy doktorskiej mgra Przemysława Wieczorka**

**Tytuł rozprawy: Determinanty patogeniczności wirusa nekrozy pomidora  
(*Tomato torrado virus*, ToTV)**

**Promotor: dr hab. Aleksandra Obrępańska-Stęplowska**

Rozprawa doktorska Pana magistra Przemysława Wieczorka poświęcona została wstępnym badaniom molekularnym wirusa nekrozy pomidora (*Tomato torrado virus*, ToTV). ToTV należy do grupy IV (+)ssRNA wirusów. Podobnie jak wiele innych małych, sferycznych i pozbawionych osłonki wirusów posiadających jednoniciowy genom zbudowany z kodującego RNA zaliczony został do rzędu *Picornavirales* obejmującego mikroby infekujące zarówno rośliny, zwierzęta jak i ludzi. Genom ToTV podzielony jest na dwa segmenty: RNA1 o długości 7829 nt oraz RNA2 o długości 5404 nt. W obrębie RNA1 występuje pojedyncza ramka odczytu (ORF) kodująca poliproteinę o masie około 240 kDa, a w RNA2 dwie ramki. Pierwsza, bardzo krótka, usytuowana jest blisko końca 5' i koduje 20 kDa białko o nieznannej funkcji. Druga położona centralnie, obejmuje większość RNA2 i koduje poliproteinę o masie około 134 kDa. ToTV jest groźnym patogenem roślin psiankowatych, infekującym między innymi pomidory oraz tytoń. Wirus przenoszony jest przez żerujące na roślinach owady, głównie różne gatunki mączlików.

ToTV zaliczany jest do szczególnie agresywnych patogenów niszczących uprawy pomidora, stąd też w ostatnich latach stał się obiektem zainteresowania wirusologów roślinnych w tym i Autora niniejszej rozprawy doktorskiej. Wychodząc z założenia, iż symptomy towarzyszące infekcji ToTV (nekrozy u pomidora oraz mozaiki i chlorozy u

tytoniu) indukowane są przez jedno lub kilka białek wirusowych. Doktorant postanowił zidentyfikować czynniki odpowiedzialne za powstawanie opisanych powyżej objawów chorobowych. Ponadto uznał, że celem jego badań będzie: (i) identyfikacja tzw. genów referencyjnych, ulegających stabilnej ekspresji nie tylko w zdrowych roślinach, ale i w roślinach zainfekowanych ToTV oraz (ii) opracowanie metody diagnostycznej umożliwiającej różnicowanie infekcji ToTV oraz PepMV, gdyż oba wirusy wywołują u pomidora podobne symptomy chorobowe.

### **Ocena formalna rozprawy**

Zasadniczą część rozprawy stanowi pięć artykułów naukowych. W każdym z nich mgr Przemysław Wieczorek jest pierwszym autorem. Cztery artykuły opublikowane zostały na łamach uznanych, międzynarodowych czasopism specjalistycznych dedykowanych szeroko rozumianej wirusologii (dwa w *Archives of Virology*, jeden w *Virus Research* oraz jeden w *Journal of Virological Methods*). Wszystkie te czasopisma znajdują się na tzw. liście filadelfijskiej. Piąta praca opublikowana została w *Journal of Plant Protection Research*. Sumaryczna liczba punktów MNiSW obliczona dla publikacji wchodzących w skład rozprawy wynosi 95, a sumaryczny IF około 9,0.

Dodatkowo rozprawa zaopatrzona została w krótki, 22 stronicowy komentarz mający strukturę klasycznej pracy doktorskiej, co oznacza, iż Autor wyróżnił w nim następujące rozdziały: Wprowadzenie, Hipotezy Badawcze, Cel Pracy, Metodyka, Wyniki Badań, Wnioski oraz Literatura.

Do pracy zostały także załączone oświadczenia trzech osób będących współautorami artykułów wchodzących w skład niniejszej rozprawy. W oświadczeniach tych, każdy ze współautorów jasno i precyzyjnie opisał swój wkład w powstanie poszczególnych prac. Na ostatnich stronach rozprawy zamieszczono streszczenia w języku polskim i angielskim.

Praca przygotowana została starannie. Jej najsłabszym elementem jest poprzedzający publikację komentarz, w którym znalazłem trochę błędów stylistycznych, edytorskich lub niezbyt zręcznych określeń, np:

- *wirus ten należy do jednego z najbardziej agresywnych patogenów pomidora* (strona 4) - raczej - jest jednym z najbardziej agresywnych....
- *koncentrowały się na: ...ustaleniu udziału determinant patogeniczności ToTV podczas procesu potranskrypcyjnego wyciszania ekspresji genów* (strona 5) – pozostaje pytanie: w czym mają brać udział determinanty?

- **określenie najbardziej stabilnych genów referencyjnych** (strona 5) – na czym polega stabilność tych genów? Domyślam się, że Doktorantowi chodziło raczej o stabilność ich ekspresji.
- **Ekspresję białka w częściach systemicznych rośliny** (strona 9) – które części rośliny są systemiczne a które nie? W miejscu tym pragnę także zwrócić uwagę na fakt, iż ekspresji ulegają geny a nie białka oraz zapytać, jaka jest różnica pomiędzy ekspresją a nadekspresją.
- **gen aldehydu 3-fosfoglicerynowego** (strona 15)
- **oznaczenie ekspresji genów mechanizmów obronnych rośliny, których akumulacja znacząco zmienia się w obecności patogenu** (strona 16) – co to są geny mechanizmów i na czym polega akumulacja genów lub mechanizmów?

### **Ocena merytoryczna rozprawy**

Zaprezentowane w rozprawie wyniki nie budzą istotnych zastrzeżeń merytorycznych. Nie powinno to dziwić, gdyż zostały już wcześniej opublikowane w recenzowanych, międzynarodowych czasopismach naukowych cieszących się dużym uznaniem i renomą, nie tylko w środowisku wirusologów molekularnych. Każda z prac opisuje ciekawe i ważne osiągnięcia lub spostrzeżenia mające istotny wpływ na dalszy rozwój naszej wiedzy o wirusach RNA infekujących rośliny oraz oddziaływaniach wirus-gospodarz. Do najistotniejszych osiągnięć zaprezentowanych w niniejszej rozprawie z pewnością zaliczyć można:

- otrzymanie klonów cDNA pozwalających uzyskiwać infekcyjne cząsteczki RNA1 i RNA2 ToTV. Osiągnięcie to otwiera nowy etap w badaniach ToTV, gdyż umożliwia poznanie mechanizmów molekularnych leżących u podłoża procesu replikacji wirusa oraz jego oddziaływań z gospodarzem.
- identyfikację pojedynczej mutacji w białku 3A, która wpływa na zdolność ToTV do infekowania pomidora.
- identyfikację 105 aminokwasowej domeny białkowej, zdolnej samodzielnie indukować tworzenie nekroz na liściach tytoniu. Domena ta ulokowana jest na końcu N poliproteiny kodowanej przez RNA1.

Wspomniane powyżej osiągnięcia i obserwacje stanowią doskonały punkt wyjścia do dalszych niezwykle ciekawych projektów. Proszę zatem, aby podczas obrony rozprawy doktorskiej jej Autor odniósł się do tego zagadnienia i krótko zarysował plan przyszłych badań.

Pomimo że oceniana praca zasługuje moim zdaniem na bardzo wysoką ocenę, nie sposób nie dostrzec, iż posiada ona jedną dość istotną wadę. Wadą tą jest wyraźna niespójność pomiędzy trzema pierwszymi publikacjami wchodzącymi w skład rozprawy a dwoma ostatnimi. Artykuły 1-3 oraz 4-5 są ze sobą słabo powiązane tematycznie. Na dodatek te ostatnie są zdecydowanie mniej istotne pod względem poznawczym, przez co stanowią zbędny balast osłabiający wartość naukową rozprawy. Nie rozumiem, dlaczego Autor postanowił, aby w pracy zatytułowanej „*Determinanty patogeniczności wirusa nekrozy pomidora*” rozważać takie problemy jak stabilność ekspresji genów referencyjnych lub diagnostyka różnicowa ToTV i PepMV. Podjęta przez Doktoranta decyzja jest znakomitym przykładem potwierdzającym znaną prawdę, że więcej nie zawsze znaczy lepiej. Proszę Autora rozprawy, aby i do tego problemu ustosunkował się podczas publicznej obrony pracy.

#### **Wnioski końcowe**

Wymienione tutaj uchybienia nie wpływają w istotny sposób na wysoką ocenę pracy. Zarówno sposób przygotowania, jak i zawartość merytoryczna rozprawy pozwalają sądzić, że jej Autor jest sprawnym i utalentowanym badaczem posiadającym szeroką i ugruntowaną wiedzę. Uważam, że praca spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, stąd wnoszę o dopuszczenie mgra Przemysława Wieczorka do dalszych etapów przewodu.



Marek Figlerowicz

Prof. dr hab. Marek Figlerowicz  
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN  
Noskowskiego 12/14  
61-704 Poznań  
e-mail: [marekf@ibch.poznan.pl](mailto:marekf@ibch.poznan.pl)