



Prof. dr hab. Włodzimierz Doroszkiewicz
Zakład Mikrobiologii
Instytut Genetyki i Mikrobiologii
Wydział Nauk Biologicznych U. Wr.

Wrocław 15 maja 2014 roku

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Baranka pt.: „Aktywność owadobójcza białek Vip 3A *Bacillus thuringiensis* w stosunku do szkodników z rzędu *Lepidoptera* żerujących na roślinach, przygotowana na zlecenie Rady Wydziału Biologii UAM w Poznaniu.

Promotorem ocenianej pracy doktorskiej jest prof. dr hab. Adam Kaznowski z Zakładu Mikrobiologii, Instytutu Biologii Eksperymentalnej, Wydziału Biologii UAM w Poznaniu.

Recenzowana rozprawa dotyczy niezwykle ważnych i aktualnych zagadnień z zakresu biologii środowiska. Intensyfikacja produkcji rolnej jest ściśle powiązana z coraz powszechniejszym, często niekontrolowanym stosowaniem chemicznych środków ochrony roślin. Takie działania stanowią realne zagrożenie dla zdrowia ludzi i mogą prowadzić do nieodwracalnych zmian w składzie populacji organizmów żywych w środowisku. Jedynym sposobem poprawy tej sytuacji jest zmiana sposobu i metod ochrony roślin. Musi nastąpić drastyczne ograniczenie stosowania toksycznych związków chemicznych i szersze niż dotychczas wykorzystywanie biologicznych metod ograniczania liczebności szkodników roślin. Jest to jedyne racjonalne rozwiązanie, które pozwoli uniknąć grożącej nam w przyszłości katastrofy ekologicznej.

Wykorzystanie bakterii *Bacillus thuringiensis* jako narzędzia kontroli liczebności populacji szkodliwych owadów wydaje się być bardzo obiecujące. Cel ten można osiągnąć przez wprowadzenie do środowiska komórek wegetatywnych *Bacillus thuringiensis*, ich form przetrwalnych i toksycznych białek albo stosowanie w uprawach odmian roślin transgenicznych noszących funkcjonalne geny kodujące toksyny.

Prezentowana rozprawa doktorska składa się z ośmiu logicznie powiązanych części, typowych dla takich opracowań.

Wstęp, poprzedzony krótkim streszczeniem, umożliwia zapoznanie się z aktualnym stanem wiedzy dotyczącym bakterii *Bacillus thuringiensis*, mechanizmów działania ich owadobójczych metabolitów i praktycznego wykorzystania w ochronie roślin. Charakterystyka wybranych owadów z rzędu Lepidoptera uzasadnia ich wybór jako organizmów testowych w badaniach skuteczności bioisekcytydów.

Cel pracy jest jasno określony i dotyczy badania aktywności owadobójczej toksyn Vip, mieszaniny toksyn Vip i Cry wobec trzech gatunków owadów: *Cydia pomonella*, *Dendrolimus pini*, i *Spodoptera exigua*.

W dwóch kolejnych rozdziałach :” Materiał” i „Metody” są zawarte szczegółowe opisy stosowanych procedur badawczych, umożliwiające dokładną ocenę uzyskanych przez Autora wyników eksperymentów, zarówno pod względem ich wiarygodności i interpretacji.

Rezultaty badań, zamieszczone w następnej części rozprawy doktorskiej, dotyczące analizy występowania genów Vip u bakterii *B. thuringiensis*, ich ekspresji i aktywności owadobójczej wobec larw wybranych gatunków owadów i porównawczo zestawione w rozdziale :” Dyskusja” z dostępnymi wynikami z najnowszych publikacji światowych pozwoliły na sformułowanie sześciu końcowych wniosków.

Ocena merytoryczna .

Przedmiotem ocenianej pracy jest charakterystyka środowiskowych izolatów *Bacillus thuringiensis* głównie pod względem ich aktywności insektobójczej i występowania genów *vip3Aa*. Wśród szczepów o najwyższej insektobójczości zidentyfikowano dwa polimorficzne geny *vip3Aa*. Porównanie sekwencji nukleotydowych wykazało, że część z nich posiadała mutację zmiany sensu skutkującymi zmianami sekwencji aminokwasowej w kodowanych białkach. Po sklonowaniu genu *vip3Aa1* i genu *vipAa35* izolowano białka, oczyszczono je i w serii eksperymentów określano ich toksyczne działanie wobec larw *Cydia pomonella*, *Dendrolimus pini*, i *Spodoptera exigua*.

Produkty ekspresji genów *vip3Aa* poddawano także enzymatycznej modyfikacji aby dokładnie określić warunki konieczne dla podwyższenia biologicznej toksyczności preparatów. Ta seria doświadczeń pozwoliła na wykazanie wzrostu aktywności protoksyny po jej aktywacji trypsyną. Stwierdzono także, że oczyszczanie białek metodą chromatografii powinowactwa obniżało ich insektobójczość.

Prezentowane wyniki i jak również pokazanie synergistycznego działania białek Vip3Aa35 i toksyn Cry 1A,B,C i D stanowią o ważności prowadzonych badań i ich potencjalnych możliwościach aplikacyjnych.

O wartości rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Baranka decyduje także pokazanie złożoności prowadzenia badań nad mechanizmami insektobójczości toksycznych białek *Bacillus thuringiensis* i konieczności uwzględniania wpływu wielu czynników takich jak: drogi i sposób podawania, stopień i sposób oczyszczenia preparatów, ich modyfikacji enzymatycznej, stosowania mieszanin białek i określenia jak długo zachowują aktywność biologiczną w środowisku.

Praca jest napisana poprawnym językiem choć autor nie ustrzegł się stosowania żargonu laboratoryjnego np. str. 64: Oczyszczone otwarte ramki odczytu genów..... wprowadzono do odpowiednich wektorów..... ale są to częste błędy i łatwe do usunięcia przy przygotowywaniu pracy do publikacji.

Uważam, że praca jest bardzo dobra i w pełni zasługuje na wyróżnienie stosowną nagrodą.

Oceniając przesłaną do recenzji pracę doktorską mgr Jakuba Baranka pt. : „Aktywność owadobójcza białek Vip 3A *Bacillus thuringiensis* w stosunku do szkodników z rzędu *Lepidoptera* żerujących na roślinach”, stwierdzam , że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. NR 65, poz. 595, z późn. zm). i stawiam wniosek o dopuszczenie mgr. Jakuba Baranka do dalszych etapów przewodu doktorskiego,

Z poważaniem

Prof. dr hab. Włodzimierz Doroszkiewicz.

prof. dr hab. Włodzimierz Doroszkiewicz