



Poznań, 13 października 2014 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ MGR WIOLETY WOJTASIK ZATYTUŁOWANEJ:

„OCENA ZNACZENIA POLIMERÓW ŚCIANY KOMÓRKOWEJ W ODPOWIEDZI LNU NA FUZARIOZĘ”

Obserwator zewnętrzny, przyglądając się rozwojowi współczesnych nauk biologicznych może czuć się zdumiony tym, z jaką gwałtownością zmieniają się poglądy na funkcjonowanie Życia. Jeszcze niedawno w podręcznikach komórkę określano jako „worek z enzymami”, czy też „pęcherzyk zawierający skoncentrowaną mieszaninę substancji”. Rozwój biologii komórki i rozkwit nowych metodologii i technik badawczych spowodowały, że na komórki i całe organizmy, oraz na zachodzące w nich zjawiska patrzymy zupełnie inaczej. Zwracamy uwagę już nie tylko na zorganizowanie strukturalne komórki, lecz również na jej organizację metastabilną; przyglądamy się reakcjom zachodzącym w warunkach stłoczenia makrocząsteczek, czy wreszcie dostrzegamy, że ściany komórkowe to nie sztywne, martwe skrzyneczki otaczające żywy protoplast, ale dynamicznie zmieniające się struktury niezbędne do prawidłowego funkcjonowania komórek i organizmów w mniej lub bardziej sprzyjającym środowisku zewnętrznym. Z aplikacyjnego zaś punktu widzenia, ściany komórkowe to największy na świecie magazyn materiałów i energii, które człowiek może i musi nauczyć się efektywnie wykorzystywać. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani Wiolety Wojtasik jest próbą wpisania się w oba wątki badań ścian komórkowych.

#### OPIS FORMALNY ROZPRAWY

Recenzowana praca została wykonana w Zakładzie Biochemii Genetycznej Uniwersytetu Wrocławskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Szopy. Jest napisana w układzie typowym dla prac doktorskich. Jest to dzieło niezwykle obszerne – praca napisana tekstem z pojedynczym odstępem mieści się na 206 stronach maszynopisu. Wstęp wprowadza Czytelnika w zagadnienia przedstawione w rozprawie. Pokrótce omówiono 1) len jako model badawczy oraz jako roślinę przemysłową, 2) odporność roślin na czynniki stresowe, oraz przedstawiono 3) podstawowe informacje o strukturze i funkcjach ścian komórkowych. Cele pracy stanowią rozdział 2, po którym następuje opis wykorzystanych materiałów oraz stosowanych metod. Kolejne dwa rozdziały to omówienie uzyskanych wyników oraz ich dyskusja na tle literatury światowej. Podsumowanie stanowi wyodrębniony rozdział, a kolejnym jest obszerne zestawienie cytowanej literatury. Właściwą pracę poprzedzają: wykaz skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz wykaz rysunków, wykresów i tabel. Rozprawę uzupełnia załącznik 1, w którym zamieszczono sekwencje nukleotydowe zidentyfikowanych fragmentów genów lnu. Dodatkowym elementem pracy jest krótkie, nie ujęte w spisie treści, CV Autorki mieszczące się na dwóch stronach.

#### OCENA MERYTORYCZNA ROZPRAWY

Badania struktury i funkcji ścian komórkowych należą bez wątpienia do jednych z najtrudniejszych w biologii roślin, czy komórek roślinnych. Wciąż też przynoszą nowe, niekiedy zaskakujące rezultaty. Wynika

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek  
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań  
tel. +48 61 829 5972, fax. +48 61 829 5949  
przemow@amu.edu.pl

to głównie z dwóch powodów. Po pierwsze, prawie każda próba doświadczalnego zbadania ścian rozpoczyna się od ich destrukcji, a to sprawia, że do dziś większość szczegółów ich budowy jest w dużym stopniu hipotetyczna. Po drugie, składanie i dojrzewanie ścian do postaci sieci złożonej z wielu sieci, utrzymywanej ogromną liczbą wiązań niekowalencyjnych, jest procesem, którego nie da się rozpoznać jedynie przy użyciu analiz biochemicznych czy nawet -omicznych. Nieodzownym krokiem jest w każdym przypadku zmierzenie się z niezwykle trudną chemią i biochemią polisacharydów, lignin i białek. Ogromnym impulsem rozwojowym w badaniach ścian okazała się mnogość potencjalnych zastosowań komercyjnych ścian komórkowych, w tym np. wykorzystanie resztek lignocelulozowych do produkcji biopaliw. Nadzędnym celem recenzowanej rozprawy doktorskiej było przyjrzenie się polimerom ścian komórkowych lnu. Szczegółowej analizie poddano: 1) zmiany składu ścian komórkowych ujawniające się w trakcie infekcji roślin lnu przez szczepy *Fusarium oxysporum* i *Fusarium culmorum*; 2) zmiany w składzie ścian komórkowych wywołane nadekspresją genu kodującego  $\beta$ -1,3-glukanazę w liniach transgenicznych lnu; oraz 3) zmiany polimerów ścian komórkowych wpływające na jakość surowców uzyskiwanych ze wspomnianych powyżej linii transgenicznego lnu. Aby te cele osiągnąć, Doktorantka wyznaczyła sobie kilka zadań szczegółowych. Do ich realizacji wykorzystwała szeroką gamę dostępnych narzędzi biologii molekularnej, biochemii i fitochemii. Nie mam wątpliwości, że Pani Wioleta Wojtasik porusza się sprawnie po terytorium biologii doświadczalnej.

Przystępując do pierwszej części badań Doktorantka podjęła się klonowania niektórych genów lnu, wybranych na podstawie danych literaturowych i wcześniejszych badań Zespołu. Uzyskała częściowe sekwencje kodujące genów lnu kodujących białka zaangażowane w metabolizm polisacharydów ścian komórkowych, oraz metabolizm poliamin. Sekwencje genów kodujących białka metabolizmu związków fenolowych, w tym lignin, zostały Jej udostępnione przez innych członków Zespołu. Warto podkreślić, że w momencie wykonywania tych badań sekwencja genomu lnu nie była jeszcze znana. Otrzymane sekwencje zostały następnie wykorzystane we wszystkich badaniach, w których analizowano zmiany ekspresji genów wywołane bądź to infekcją patogenną, bądź też nadekspresją genu  $\beta$ -1,3-glukanazy.

Główną część pracy stanowią badania porównawcze zmian ścian komórkowych, analizowane na dwóch poziomach: 1) molekularnym, poprzez badanie zmian ekspresji genów, oraz 2) metabolicznym, poprzez badanie zmian zawartości poszczególnych grup związków w ścianach komórkowych. Doktorantka wykorzystwała wcześniej opracowany wariant procedury frakcjonowania ścian komórkowych, który umożliwia wydzielenie różnych polimerów ścian ze względu na ich rozpuszczalność w różnych roztworach. Uzyskane mieszaniny analizowała całościowo, oznaczając zawartość np. cukrów lub kwasów uronowych, a także szczegółowo, określając zawartość poszczególnych monosacharydów. W podobny sposób analizowano zmiany w składzie i zawartości lignin oraz poliamin. Trzeba przyznać, że choć jest to praca mało efektywna, to jest to etap badań absolutnie niezbędny do tego, by móc wyprowadzać jakiegokolwiek znaczące wnioski. Co więcej, jest to praca bardzo trudna, a biorąc pod uwagę zakres przeprowadzonych analiz należy wyrazić podziw dla ogromu włożonej przez Doktorantkę pracy. Tak określony zestaw analiz wykonano dla wszystkich założonych sytuacji doświadczalnych, a więc dla roślin zainfekowanych 1) *F. oxysporum*, 2) *F. culmorum*, 3) roślin transgenicznych niosących gen  $\beta$ -1,3-glukanazy, oraz 4) włókien i paździerzy otrzymanych z tychże roślin transgenicznych. Na ich podstawie dokonano analizy porównawczej, która umożliwiła wyciągnięcie wniosków wskazujących na określone zmiany wzorców ekspresji genów



związanych z metabolizmem ścian komórkowych, jak również ukazujących potencjalne korzyści, również komercyjne, wynikające z wprowadzenia zdefiniowanej modyfikacji genetycznej do roślin lnu.

Przedstawiona do recenzji praca nie jest łatwa w odbiorze. Warto jednak podkreślić, że jej lektura przynosi wiele informacji i pobudza do myślenia. Mnie osobiście, jako osobie od wielu lat związanej z badaniami ścian komórkowych, najbardziej zaciekały zastosowane techniki frakcjonowania ścian, nieco odmienne od tych, które dotąd stosowałem. W pracy pojawiają się jednak i takie momenty, które powinny zostać przedyskutowane czy to dla doprecyzowania, czy też dla wyjaśnienia wątpliwości. Pozwalam sobie wskazać niektóre z nich z prośbą o rozmowę o nich w trakcie obrony rozprawy doktorskiej.

#### DYSKUSJA PRZEDSTAWIANYCH ZAGADNIENÍ LITERATUROWYCH

- Impuls do pierwszego pytania pojawił się po przeczytaniu jednego zdania z akapitu opisującego odporność swoistą roślin związaną z wyciszaniem genów. Owo zdanie to: „Mechanizm wyciszenia genów jest wysoce specyficzny i zapewnia wysoką odporność opierając się na sekwencjach kwasów nukleinowych, a nie na działaniu białek.” Po pierwsze, prosiłbym o nieco bardziej szczegółowe opisanie tego typu odporności. Po drugie, chciałbym prosić o wyjaśnienie, na jakiej podstawie Autorka wywodzi takie stwierdzenie, biorąc pod uwagę, że wyciszanie genów w zasadzie w całości opiera się na aktywności określonej grupy białek.
- Nomenklatura i klasyfikacja białek PR została opracowana kilkadziesiąt lat temu, w zasadzie w całości w odniesieniu do tytoniu. Później odnotowano uniwersalność zjawiska wzmożonej aktywności określonych białek, a jeszcze później podwyższonej ekspresji genów u roślin właściwie wszystkich badanych gatunków. Doktorantka opisuje najnowszą klasyfikację białek PR, ale w dobie różnego rodzaju -omik trudno przejść obojętnie wobec szczątkowości tego opisu. Przykładem niech będzie zdanie „Peroxidazy z rodziny białek PR-9 odpowiadają za wzmocnienie ściany komórkowej...”. Genom *Arabidopsis* zawiera prawie 70 genów kodujących peroksydazy, i na pewno nie wszystkie z nich spełniają funkcje białek PR, jak również nie wszystkie odpowiadają za wzmocnienie ścian komórkowych. Podobnie, stwierdzenie, że  $\beta$ -1,3-glukanaza i chitynaza są najważniejszymi enzymami uczestniczącymi w infekcji patogennej (str. 36) jest z obecnej perspektywy drastycznym uproszczeniem. U *Arabidopsis* mamy 25 genów kodujących chitynazy, a białka o tej aktywności zlokalizowane są w różnych przedziałach komórki. Czy znane są Autorce próby pogodzenia informacji -omicznych z klasycznymi badaniami białek PR?
- W akapicie na str. 49 nagromadziło się kilka błędów w opisie białek uczestniczących w biosyntezie celulozy, innych niż białka kompleksu syntazy celulozy. Dotyczy to opisu białek KORRIGAN, CYT1 i PEANUT. Będę wdzięczny za bardziej szczegółowy i prawidłowy opis tych białek.
- Zaciekało mnie to, że w jednym akapicie jednej grupie polisacharydów, a mianowicie glukanom mieszanym  $\beta$ -1,3-1,4 przypisano całkowicie przeciwstawne właściwości: z jednej strony antyżywniowe, a z drugiej sprzyjające obniżaniu poziomu cholesterolu i ludzi z hipercholesterolemią. Czy można prosić o wyjaśnienie?
- Podobnie czytając tekst rozprawy można odnieść wrażenie, że w różnych miejscach przeglądu literatury pektynom przypisano przeciwstawne funkcje. Prosiłbym o precyzyjniejsze odniesienie się do tego problemu jako podstawę biorąc zdanie „Zawartość kwasów uronowych w pektynach koreluje się

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek  
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań  
tel. +48 61 829 5972, fax. +48 61 829 5949  
przemow@amu.edu.pl

pozytywnie z modułem Younga, podkreślając ich strukturalną rolę we właściwościach rozciągania ścian komórkowych lnu.” (str. 74)

- W pracy są słabo zaznaczone granice między enzymami rośliny-gospodarza i infekującego patogenu, wobec czego ich znaczenie dla normalnego wzrostu i rozwoju rośliny oraz w trakcie infekcji jest nieco pomieszane. Dotyczy to zwłaszcza enzymów metabolizmu ścian komórkowych, takich jak metyloesterazy pektynowe. Przyznam, że z dużym zaskoczeniem czytałem informacje na str. 63, gdyż klóciły się one z moim pojmowaniem roli pektyn w infekcji patogennej, czy ogólniej w biologii roślin. Zgodnie z moją wiedzą, to właśnie deestryfikacja pektyn, umożliwiająca wiązanie wapnia, sprzyja wzmocnieniu struktury ścian, a nie, jak napisano w pracy, ułatwia degradację ścian przez inne enzymy pektynolityczne. Ten wątek pojawia się również w kolejnych rozdziałach pracy, zwłaszcza w kontekście traktowania metyloesteraz pektynowych jako enzymów degradacji pektyn (np. str. 95). Ich działanie zmienia stopień metylacji reszt kwasów uronowych, ale nie zmienia długości łańcuchów pektynowych i nie rozbija wiązań glikozydowych. Zmiana stopnia metylacji jest normalnym procesem zachodzącym w trakcie wzrostu i rozwoju roślin, więc tym bardziej trudno mówić tu o degradacji cukrów. Czy można prosić o wyjaśnienie?
- W przeglądzie znalazło się niezwykle intrygujące stwierdzenie o potencjalnej funkcji pektyn jako alternatywy dla antybiotykoterapii (str. 77). Niestety, podana referencja nie znalazła się w spisie literatury. Będę wdzięczny za 1-2 zdania komentarza.
- Na tej samej stronie pojawiają się również opisy potencjalnych funkcji poliamin, wśród których Autorka wymienia m.in. uczestnictwo w rearanżacji chromatyny poprzez acetylację histonów, oraz stabilizację błon komórkowych poprzez „modulowanie aktywności receptorów, głównie czynników wzrostu”. Prosiłbym o wyjaśnienie tych koncepcji.

#### DYSKUSJA MERYTORYCZNA STOSOWANYCH METOD

- Nie są dla mnie jasne opisy technik hodowli roślin i grzybów patogennych. W obu przypadkach zabrakło określenia pH podłoża hodowlanych (MS i PDA). W przypadku hodowli grzybów wiadomo tylko, że grzyby szczepiono na pożywkę PDA, na której rosły kilka dni przed infekcją. W jakich warunkach oświetlenia prowadzono hodowlę? Czy każdorazowo otrzymywano świeże szczepy, czy też hodowano je we własnym laboratorium? Czy na pożywkę szczepiono spory, czy grzybnię?
- Ile powtórzeń biologicznych miały doświadczenia badające przebieg infekcji patogennej? W jakich miesiącach je prowadzono?
- W przypadku analizy składu ścian komórkowych niezwykle duże znaczenie ma wybór technik wydzielenia, oczyszczenia i frakcjonowania ścian komórkowych. Czy Doktorantka przeprowadziła porównanie różnych metod? Jeśli tak, to jaka była rozbieżność uzyskiwanych wyników?

#### DYSKUSJA MERYTORYCZNA UZYSKANYCH WYNIKÓW I ICH INTERPRETACJI

- Klonowania genów lnu używanych później do analiz dokonano jeszcze przed opublikowaniem sekwencji genomu lnu. Spora część tych genów to przedstawiciele rodzin genowych, niekiedy bardzo dużych. Czy znając genom lnu można już w tej chwili powiedzieć coś więcej o rodzinach genowych np. peroksydaz, chitynaz, czy  $\beta$ -1,3-glukanaz?

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek  
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań  
tel. +48 61 829 5972, fax. +48 61 829 5949  
przemow@amu.edu.pl

- Analiza zawartości celulozy po infekcji prowadzona była po 48 godz. (str. 100). Wyniki podane w przeliczeniu na świeżą masę wskazują na wzrost zawartości celulozy. Czy zawartość celulozy przeliczano również na suchą masę? Infekcja patogenna może spowodować słabsze pobieranie wody, a to już wystarczy, by przeliczenie na świeżą masę wykazało wzrost zawartości analizowanego polisacharydu.
- W pracy oznaczano kilka parametrów opisujących właściwości mechaniczne włókna pochodzącego z roślin linii transgenicznej B14. Opisane zostały hasłowo 4 parametry. Dwa z nich określone są precyzyjnie – moduł Younga oraz energia potrzebna do zerwania włókna, natomiast dwa pozostałe – wytrzymałość i wyciągnięcie powinny zostać dokładniej omówione. Uprzejmie proszę o uzupełnienie.
- Mam wątpliwości, na ile otrzymane wyniki rzeczywiście umożliwiają „...określenie znaczenia roli polimerów polisacharydowych, lignin i przyłączonych do ścian poliamin na różnych etapach infekcji patogennymi szczepami *Fusarium*.” (str. 167). To, co na pewno zostało uzyskane, to zestaw obrazów, swoistych „snapshots” w kilku punktach czasowych, dotyczących ekspresji wybranych genów oraz zawartości wybranych grup związków. Analizowano jednak całe siewki, a nie wyłącznie zainfekowane tkanki. Nie mamy de facto informacji o zmianach aktywności białek obróbki i dojrzewania ścian, nie mamy również danych o aktywnościach enzymów grzybowych. Nie jestem więc pewien, czy niektóre interpretacje uzyskanych wyników nie wykraczają za daleko poza uzyskane podstawy doświadczalne. Podam tylko jeden z przykładów: „Obniżone poziomy mRNA genów poligalakturonazy i liazы pektynowej I (...) wynika z obecności egzogennych genów grzybowych (PG i PaL), stanowiąc swego rodzaju obronę przed nadmierną degradacją pektyn. Natomiast spadek poziomu ekspresji większości genów syntezy pektyn (...) może być wynikiem przekierowania transkrypcji na inne geny...” (str.169).
- Na jakiej podstawie Doktorantka twierdzi (str. 171), że poliaminy „...kontrolują pH ściany i proces lignifikacji”?
- Na stronie 178 znajdujemy następujące sformułowanie: „Obniżony poziom kalozы (...) sugeruje większą ilość uwolnionych reszt glukozy, które przypuszczalnie mogą zostać wykorzystane jako substraty do syntezy polimerów polisacharydowych ściany komórkowej (głównie pektyn i hemicelulozy)”. Przyznam, że takie zdanie kłóci się z większością ustaleń dotyczących biosyntezy polisacharydów, jak również nie uwzględnia kompartmentacji komórek roślinnych. Prosiłbym o komentarz.

## OCENA STRONY EDYTORSKIEJ ROZPRAWY

Praca jest przygotowana niezwykle starannie. Pochwalić trzeba przede wszystkim stronę wizualną – warstwa ilustracyjna pracy cechuje się dużą starannością i dbałością o szczegóły. Tym bardziej żałować należy, że strona edytorska tekstu pracy nie dorównuje swym poziomem przedstawionym wynikom, które budują wysoką jakość merytoryczną rozprawy. W warstwie tekstowej rozprawy znalazło się zbyt dużo błędów różnego typu. Biorąc pod uwagę niezwykłą objętość pracy właśnie ten aspekt rozprawy sprawia, że często nie jest ona zbyt przystępna. Najważniejsze usterki pracy, **ale niewymagające dyskusji**, pozwałam sobie zawrzeć poniżej. Szczegółowy spis uwag edytorskich został przekazany Doktorantce w odrębnym dokumencie. Pojawiających się literówek, drobnych błędów interpunkcyjnych i „chochlików” drukarskich nie wymieniam.

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek  
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań  
tel. +48 61 829 5972, fax. +48 61 829 5949  
przemow@amu.edu.pl

#### ORGANIZACJA ROZPRAWY

- Mam zastrzeżenia do przeglądu literaturowego i są one dwojakiego rodzaju. Po pierwsze, przegląd jest niezbyt dobrze zorganizowany jako całość i w związku z tym, niektóre informacje powtarzają się wielokrotnie. Po drugie, dość często w obrębie pojedynczego akapitu, a niekiedy zdania następują przeskoki pomiędzy wiedzą podstawową, a aplikacyjną. Znakomitą ilustracją zastrzeżenia drugiego typu są zdania (oba na str. 68): „Ponadto ligniny zapewniają integralność naczyń, umożliwiając transport wody z korzeni do liści oraz chronią polisacharydy ściany komórkowej utrudniając jej przetwarzanie w celu wykorzystania w przemyśle.” oraz „Trudno jest jednoznacznie określić, czy wysoka lub niska zawartość lignin jest bardziej korzystna dla roślin i dla późniejszego ich wykorzystania w postaci materiału lignocelulozowego.”.
- Wydaje się, że niezbyt udanym zabiegiem było odrębne omawianie analiz przebiegu infekcji siewek lnu przez szczepy *F. oxysporum* i *F. culmorum*. Opis każdego zestawu analiz zajmuje bardzo dużo miejsca, a w zasadzie tekst, który dotyczy analiz jest w obu przypadkach prawie identyczny. Co więcej, Autorka sama przyznaje, że w doświadczeniach wykorzystano tę samą próbę kontrolną. Ten sam zabieg odrębnego opisywania wyników zastosowano w przypadku włókien i paździerzy otrzymanych z roślin linii transgenicznej B14. Z porównawczego punktu widzenia wydaje się, że w obu przypadkach lepszym zabiegiem byłoby sporządzanie wspólnych zestawów wykresów i wspólne omówienie obserwowanych zmian. Byłoby to również z dużą korzyścią dla klarowności i objętości pracy.

#### TERMINOLOGIA

- Poważnym problemem pracy, który staje się zauważalny już na pierwszych stronach i ciągnie się do samego jej końca, jest dowolność stosowania terminologii. Najwięcej kłopotów sprawia terminologia mono-, oligo- i polisacharydów. Nomenklatura tej klasy makrocząsteczek biologicznych jest dobrze ustalona zarówno wśród chemików, jak i biologów, także w języku polskim. Wystarczy zajrzeć do dostępnych polskich podręczników, choćby do Załącznika 3 w książce *Biologia komórki roślinnej*. Tom 1: *Struktura*, i zastosować zebrane tam zasady. Do najpoważniejszych błędów w rozprawie zaliczyć należy: 1) określanie wiązania glikozydowego mianem „glikozylowego”; 2) wykorzystanie jednostki „Ac”, używanej zwykle do skrótowego zapisu grupy acetylowej, do opisanie skrótu GlcAc czy GalAc na oznaczenie kwasu glukuronowego, czy galakturonowego, które grupy acetylowej nie zawierają; 3) przypisanie nieprawidłowej końcówki do nazw polisacharydów: końcówka „-ian” używana jest do oznaczenia związków zjonizowanych (np. cytrynian, glutaminian), natomiast do polisacharydów stosuje się końcówkę „-an”, zgodnie z formułą ogólną – glikan; 4) nieprecyzyjne użycie terminologii monosacharydów, np. „furanozylowana reszta arabinozy”, czy „reszta arabinozyłu”
- Wykaz skrótów zawiera zwykle informacje o skrótach, które nie są powszechnie używane, i których znaczenie powinno być wyjaśnione. Niezrozumiałym jest więc wprowadzanie do Wykazu oznaczeń jednostek miar układu SI, czy podstawowego nazewnictwa biologicznego gatunków.
- Wykaz skrótów zawiera zamiennie terminy z przedrostkami dwu- i di oraz trój- i tri-, np. kwas trójchlorooctowy i kwas trifluorooctowy, z których to par tylko te drugie przedrostki są obecnie zalecane do użytku.
- Nomenklatura biologii molekularnej rozróżnia „masę cząsteczkową” i „ciężar cząsteczkowy”. Natomiast nie aprobuję stosowania określenia „masa molekularna” (str. 35)
- Również terminologia biologiczna stosowana jest dość dowolnie. W słowniku pojęć biologicznych nie występują „przestrzenie wewnątrzkomórkowe” (str. 35) lub „zewnątrzkomórkowe” (str. 37), czy „międzykomórkowe” (str. 38). W tym ostatnim przypadku można mówić jedynie o „przestworach



międzykomórkowych”. Podobnie, dla angielskiego określenia „oxidative burst” już dawno przyjęto termin „wybuch oksydacyjny” a nie „tlenowy”. W języku polskim nie stosuje się określenia „senescencja”, które pojawia się w pracy (str. 50).

- Oligogalakturnony opisywane są nieprawidłowo używanym terminem „oligosacharydy”. Oznacza on to, co przyjęto w chemii i biologii kilkadziesiąt lat temu, czyli krótkie łańcuchy złożone z kilku jednostek cukrowych. Natomiast oligogalakturnony to przykład „oligosacharyn”, czyli oligosacharydów o aktywności biologicznej. Termin ten został zaproponowany przez Petera Albersheima na początku lat 70. ubiegłego wieku i jest dość dobrze ugruntowany.
- Estryfikacja, czyli utworzenie wiązania estrowego, jest terminem o ściśle określonym znaczeniu chemicznym. Niezbyt zgadzają się z nim terminy (str. 57) typu „boran diestrowy”, „uronyloestryfikacja”, czy też stwierdzenie, że „metyloestery pektynowe odpowiadają za reakcję transestryfikacji”.
- Opis budowy włókien lnianych (str. 73-75) jest przykładem bardzo poważnego pomieszania terminologii stosowanej w naukach podstawowych „blaszka środkowa” czy „ściana pierwotna” z terminologią przemysłową „inkrustowanie włókna ostatecznego”. Pojawiają się również terminy nieprawidłowe typu „węzły komórkowe”, „rdzeń trójkomórkowych połączeń”

## PODSUMOWANIE

Przedstawiona do recenzji rozprawa porusza istotne i jasno określone problemy badawcze, zwłaszcza jeśli się weźmie pod uwagę potencjalne możliwości wykorzystania uzyskanych wyników. Rozwiązanie postawionego zadania osiągnięte zostało na drodze wielu dobrze zaplanowanych i wykonanych doświadczeń. W trakcie prac Doktorantka pokazała, że potrafi trafnie operować posiadaną wiedzą teoretyczną i nabytymi umiejętnościami praktycznymi. W badaniach wykorzystwała zróżnicowane techniki eksperymentalne. Z przeprowadzonych badań Doktorantka wyciągnęła w miarę prawidłowe wnioski. Część wyników pracy została już opublikowana w dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. **Konkludując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa, pomimo przedstawionych zastrzeżeń, spełnia wymogi zawarte w art. 13.1. 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.), tj. stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego z zakresu biotechnologii i wobec tego wnoszę do Rady Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie mgr Wiolety Wojtasik do dalszych etapów przewodu doktorskiego, prowadzących do nadania stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biotechnologia.**

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek  
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań  
tel. +48 61 829 5972, fax. +48 61 829 5949  
przemow@amu.edu.pl