



Poznań, 23 czerwca 2015 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ PANA AHMEDA ZEITOUN ZATYTUŁOWANEJ:

„BIOCHEMICAL COMPOSITION OF GM FLAX AND IT'S RELATION TO PLANT PRODUCTIVITY”

(ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY KOMPOZYCJĄ BIOCHEMICZNĄ LNU MODYFIKOWANEGO GENETYCZNIE A JEGO PRODUKTYWNOŚCIĄ)

Poznanie funkcji poszczególnych genów może być bardzo ciekawe, zwłaszcza jeśli dotyczy białek, które biorą udział w funkcjonowaniu skomplikowanych układów złożonych z wielu różnych makrocząstek powiązanych wielorakimi oddziaływaniami. Dobrym przykładem są tutaj ściany komórkowe roślin czy grzybów, które zbudowane są głównie z produktów aktywności biologicznej białek enzymatycznych, ale również przy współudziale sporej liczby białek strukturalnych. Te niezwykle złożone konstrukcje cechują znakomite właściwości mechaniczne, dzięki którym nie tylko wspierają procesy życiowe roślin, ale również chronią aktywnie i pasywnie rośliny przed zmiennymi warunkami środowiska, w tym przed infekcjami. W tak zarysowany nurt badań wpisuje się przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana mgr. Ahmeda Zeitoun. Została ona wykonana w Zakładzie Biochemii Genetycznej Uniwersytetu Wrocławskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Szopy-Skórkowskiego, i jest ściśle związana z głównym nurtem badań Zespołu dotyczących modyfikacji genetycznych lnu – bardzo cennej rośliny użytkowej.

OPIS FORMALNY ROZPRAWY

Recenzowana praca została napisana w języku angielskim w układzie typowym dla prac doktorskich z zakresu biologii doświadczalnej. We Wstępie przekazano Czytelnikowi zestaw najistotniejszych informacji dotyczących 1) lnu i możliwości jego wykorzystania gospodarczego; 2) najważniejszych składników ścian komórkowych; a także 3) modyfikacji składu ścian komórkowych lnu przy użyciu metod inżynierii genetycznej. Wstęp prowadzi do krótkiego rozdziału zarysującego główne cele rozprawy. W kolejnym rozdziale opisane zostały wykorzystane materiały i stosowane metody. Uzyskane wyniki oraz ich dyskusja zostały zawarte w kolejnych dwóch rozdziałach. Wyodrębnioną częścią są wynikające z pracy wnioski. Rozprawa jest poprzedzona streszczeniami w języku angielskim i polskim oraz wykazami: używanych skrótów, zamieszczonych rycin oraz tabel, a całość zamyka obszernie zestawienie cytowanej literatury.

OCENA MERYTORYCZNA ROZPRAWY

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest, zgodnie z moim rozumieniem, próbą odpowiedzi na pytanie, czy modyfikacje genetyczne roślin lnu, które prowadzą do zmian składu ścian komórkowych, mają związek z reakcjami tychże roślin na infekcję patogenną przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, wywołujące fuzaryjne wędnięcie lnu. Nie do końca mogę się zgodzić, że celem Autora było określenie związku tych zmian z produktywnością roślin transgenicznych, tak jak to sugeruje tytuł rozprawy. Podwyższona lub zmniejszona podatność roślin na infekcje ma jedynie pośredni wpływ na produktywność, czyli na plon roślin uprawianych

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

w warunkach polowych, mierzony bądź to jako liczba, czy masa wytworzonych przez rośliny nasion, bądź też jako uzyskana biomasa roślin, którą można wykorzystać do dalszego przetworzenia.

Do realizacji tak zarysowanego celu Doktorant wybrał uzyskane już wcześniej, bez Jego udziału, rośliny transgeniczne lnu dwojakiego rodzaju. Pierwszą grupę stanowiły rośliny, w których wyciszono gen kodujący dehydrogenazę alkoholu cynamyłowego. Ponieważ enzym ten przeprowadza ostatni etap biosyntezy monolignoli – prekursorów lignin, uznano, że w takich roślinach powinno być mniej lignin. Drugą grupę stanowiły rośliny, w których nadekspresji ulega gen kodujący poligalakturonazę. W tym przypadku założono, że dzięki takiej zmianie ilości enzymu w ścianach komórkowych spadnie zawartość pektyn. Dodatkowo, z wcześniejszych doświadczeń wiadomo było, że mimo użycia promotora 35S, poziom zmian ekspresji obu genów był zmienny w zależności od tkanki i stadium rozwoju roślin. Wobec powyższego, Doktorant przeprowadził analizy trzech stadiów rozwojowych lnu, a mianowicie: 1) nasion, 2) roślin 4-tygodniowych, oraz 3) roślin 11-tygodniowych. Badania biochemiczne roślin zostały uzupełnione analizami molekularnymi poziomu ekspresji kilku wybranych genów kodujących białka PR (and. pathogenesis-related) oraz kodujących białka związane z metabolizmem składników ścian komórkowych. Podsumowując, Autor dokonał bardzo potrzebnej, ale żmudnej analizy ilościowej zmian w składzie ścian komórkowych, wywołanych zmianą ekspresji dwóch genów, i zachodzących w różnych stadiach rozwoju roślin. Analizując uzyskane wyniki Doktorant doszedł do wniosku, że na pewno wprowadzone zmiany genetyczne wpływają na jakość uzyskiwanych włókien lnianych. Trudno jednak przedstawić równie jasne i precyzyjne wnioski co do roli tak samych modyfikacji genetycznych, jak i efektów przez nie wywoływanych w reakcjach roślin na infekcje *Fusarium*.

Przedstawioną do recenzji pracę oceniam dobrze. Doświadczenia są zaplanowane poprawnie i tak też wykonane. W miarę jasno są wyodrębnione poszczególne zagadnienia, czy wykonane doświadczenia. Jak zwykle jednak, w pracy pojawiają się momenty, które chciałoby się przedyskutować na żywo, lub takie, które można uważać za pewne potknięcia. Chciałbym wskazać tylko niektóre z nich i porozmawiać o nich w trakcie obrony rozprawy doktorskiej.

DYSKUSJA PRZEDSTAWIANYCH ZAGADNIEŃ LITERATUROWYCH

- Jednym z założeń leżących u podstawy pracy jest uznanie, że wprowadzenie grzybowej poligalakturonazy do ścian komórkowych lnu prowadzi do redukcji zawartości pektyn. Poligalakturonaza jest enzymem degradującym, ale prawie wyłącznie jeden rodzaj pektyn – homogalakturonan, i to jeszcze po jego demetylacji. Prosiłbym Doktoranta o próbę opisanie mechanizmu, który doprowadzałby do redukcji zawartości pektyn w ścianach komórkowych takich roślin.
- Mam wrażenie, że Doktorant nie do końca odróżnia lub nie dostrzega różnicy pomiędzy ligninami a lignanami, gdyż obu określeń używa w zasadzie naprzemiennie. Co więcej, w pracy pojawia się określenie „mammalian lignans” (str. 33), jak również błędna sugestia, że lignany mogą działać jako fitoaleksyny (str. 127). Zgodnie z moją wiedzą, lignany znane są wyłącznie z roślin. Prosiłbym więc o przedstawienie informacji o lignanach i ich znaczeniu farmakologicznym.

DYSKUSJA MERYTORYCZNA UZYSKANYCH WYNIKÓW I ICH INTERPRETACJI

- Dyskusję uzyskanych wyników Autor podsumowuje Wnioskami. Niestety, jedynie niektóre z nich zasługują na tę nazwę. Stwierdzenie, że celuloza i ligniny stanowią barierę mechaniczną przed infekcją jest uproszczonym, i nie do końca prawdziwym opisem faktu znanego od bardzo dawna. Dwa wnioski dotyczące wpływu modyfikacji genetycznej na odporność roślin na infekcję grzybową są zbyt daleko idące i nie podparte wystarczającą liczbą doświadczeń. Podobnie, w rozprawie brak udokumentowania

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

ostatniego wniosku o wpływie modyfikacji genetycznych na właściwości włókna lnianego. To było przedmiotem wcześniejszych badań. Prosiłbym o komentarz Doktoranta.

OCENA STRONY EDYTORSKIEJ ROZPRAWY

Praca jest przygotowana w miarę starannie. Nieco drażni użyty pojedynczy odstęp między wierszami, który nie ułatwia dokładnego zapoznania się z rozprawą. Od strony edytorskiej widoczne jest opanowanie umiejętności pisania prac i ich ilustrowania. Co więcej, praca jest napisana w miarę poprawnie używanym językiem, co przy tak trudnych do omówienia zagadnieniach jest sporym osiągnięciem. Niemniej Autor nie ustrzegł się pewnych błędów, z których najważniejsze, **ale nie wymagające dyskusji**, pozwałam sobie zawrzeć poniżej.

TERMINOLOGIA

- Chciałbym zwrócić uwagę, że w tekście pracy mieszają się określenia używane w zupełnie różnych dyscyplinach naukowych, które próbują opisać tę samą rzeczywistość. Nie sprzyja to ani czytaniu, ani zrozumieniu przedstawionego tekstu. Jako przykład niech posłuży nomenklatura dotycząca składników cukrowych ścian komórkowych. Celuloza, hemicelulozy i pektyny to grupy polisacharydów o podobnych właściwościach fizykochemicznych, wyróżnione kilkadziesiąt lub więcej lat temu na podstawie zestawu rozpuszczalników i sekwencji ich użycia do wymywania poszczególnych makrocząstek ze ścian komórkowych. Chemicznie, poza celulozą, są to jednak bardzo duże zbiory zróżnicowanych polisacharydów. Tymczasem w pracy opisywane są bardziej od strony technologicznej, np. tak jak używa się tych nazw w przemyśle spożywczym, jako indywidualne cząsteczki, czemu sprzyja dodatkowo konsekwentne użycie liczby pojedynczej. Podobnie traktuje się tu ligniny, które są grupą jeszcze bardziej heterogenną.
- Za błąd należy uznać stosowanie identycznych skrótów na określenie różnych rzeczy, a tak stało się w tej pracy. Przykładami są: „MS” oznaczające równocześnie typ pożywki i enzym, czy „PDA” oznaczające również typ pożywki oraz typ detektora.

JĘZYK ROZPRAWY

- Jako, że rozprawa została przygotowana w języku angielskim, zarówno dla piszącego, jak i dla oceniającego jest to praca pisana w języku obcym. Muszę od razu podkreślić, że dla mnie, jako redaktora kilku czasopism angielskojęzycznych i tłumacza książek, język rozprawy jest językiem w miarę poprawnym, nie wolnym jednak od błędów. Co mnie osobiście nieco zaskakuje, za najgorsze językowo uważam streszczenie w języku polskim.

EDYCJA TEKSTU

- Mam bardzo duże zastrzeżenia do jakości ilustracji użytych w przeglądzie literatury. W ogromnej większości są one kompletnie nieczytelne, nieostre, a często również brak objaśnień.
- Drugim zarzutem w zakresie edycji tekstu jest nieprawidłowe wykorzystanie prac źródłowych. Nie mam na myśli użytego formatu, lecz dość dowolnego traktowania tekstów źródłowych. Przykładem niech będzie praca Ray et al. (2013), która w całości dotyczy polisacharydów lnu, a w rozprawie (str. 33) użyta jest jako podłoże informacji o związkach fenolowych lnu. Z kolei dyskutując kinazy WAK (str. 133) Autor stwierdza, że ich nadekspresja poprawia tolerancję roślin na stresi biotyczne i abiotyczne i podbudowuje to cytowaniem pracy, która zajmuje się lokalizacją kinaz WAK w roślinach poddanych działaniu aluminium.



PODSUMOWANIE

Konkludując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca, mimo przedstawionych zastrzeżeń, spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i 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.), tj. stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydata w określonej dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Wobec powyższego wnoszę do Rady Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pana Ahmeda Zeitoun do dalszych etapów przewodu doktorskiego prowadzących do nadania stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biotechnologia.

P. Wojtaszek