

Recenzja rozprawy doktorskiej
Pani magister Karoliny Ossowskiej zatytułowanej
„Określenie struktury chemicznej O-antygenów fitopatogennych bakterii rodzajów
***Dickeya i Pectobacterium*”**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została wykonana w Pracowni Biochemii Strukturalnej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Promotorem rozprawy Pani mgr Karoliny Ossowskiej jest dr hab. Zbigniew Kaczyński, prof. UG, zaś jako promotor pomocniczy została powołana Pani dr Małgorzata Czerwicka-Pach. Badania podjęte przez Doktorantkę wpisują się w zagadnienia objęte wieloletnią współpracą zespołu prof. Zbigniewa Kaczyńskiego z pracownikami Zakładu Ochrony i Biotechnologii Roślin Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed kierowanego przez Panią prof. dr hab. Ewę Łojkowską.

Recenzowana praca doktorska liczy łącznie 148 stron i zawiera 90 rycin, 18 tabel oraz szereg wzorów półstrukturalnych włączonych bezpośrednio w tekst. Gwoli ścisłości część wzorów przedstawiona jest w formie rycin. Rozprawa ma układ typowy dla większości prac o charakterze eksperymentalnym. Praca jest napisana w języku polskim i zaopatrzona w streszczenia w języku polskim oraz angielskim. Rozprawa została przygotowana bardzo starannie pod względem edytorskim. Tytuł pracy „Określenie struktury chemicznej O-antygenów fitopatogennych bakterii rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium*” jednoznacznie precyzuje zagadnienia opisywane przez Doktorantkę. Taki tytuł jednak sugeruje, że badane antygeny będą posiadały/mają identyczną budowę chemiczną. Jak się okazuje, wśród dwunastu przebadanych preparatów jedynie niektóre są identyczne pod względem struktury powtarzających się podjednostek. Według mojej opinii tytuł powinien ulec delikatnej modyfikacji, tak aby uwzględniał wielość zidentyfikowanych struktur polisacharydowych.

Rozprawę rozpoczyna jednostronicowy **Wstęp** będący bardzo ogólnym wprowadzeniem do zagadnienia będącego tematem przedłożonej rozprawy. W przedostatnim akapicie Wstępu Doktorantka podaje w formie zwięzłej i jasnej cel swoich badań. Właściwe wprowadzenie w zagadnienia rozprawy zawiera rozdział zatytułowany **Przegląd literatury**, składający się z wielu hierarchicznie ułożonych podrozdziałów. W pierwszej części **Przeglądu literatury** Doktorantka



przedstawiła historię zmian w taksonomii bakterii zaklasyfikowanych obecnie do rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium* oraz ich charakterystykę mikrobiologiczną i chorobotwórczość. Tę część kończy „Charakterystyka wybranych do badań szczepów”. Druga część **Przeglądu literatury** poświęcona jest opisowi budowy ściany komórkowej bakterii. Ze zrozumiałych względów, Doktorantka położyła największy nacisk na opis struktur lipopolisacharydów, ze szczególnym uwzględnieniem danych dotyczących budowy tych glikolipidów pozyskanych z bakterii należących do rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium*. W **Przeglądzie literatury** doktorantka zamieściła kilka akapitów poświęconych peptydoglikanowi. Podane informacje mają raczej charakter podręcznikowy i, co więcej, nie zawsze są ścisłe, a pojawiający się zaraz za nimi opis zasad barwienia metodą Grama zupełnie wybiega poza tematykę pracy doktorskiej. Wydaje się, że korzystniej dla całości pracy byłoby ograniczenie się do dwóch trzech zdań odnośnie mureiny i całkowite pominięcie zagadnień związanych z barwieniem metodą Grama. Równocześnie Rys. 3 (odręczny schemat przekroju przez powierzchniowe warstwy bakterii Gram-ujemnych), w którym mureina przypomina helisę DNA absolutnie nie spełnia wymagań edytorskich obecnie publikowanych artykułów.

Podsumowując tę część rozprawy, mogę stwierdzić, że Doktorantka bardzo dobrze wywiązała się z zadania zapoznania czytelnika z fitopatogenami z rodzaju *Dickeya* i *Pectobacterium* oraz przedstawienia dotychczasowego stanu wiedzy odnośnie lipopolisacharydów syntetyzowanych przez te mikroorganizmy. Prezentowane treści są podane w sposób zwięzły, jasny i logiczny. Nieliczne uchybienia odnotowane powyżej nie mają istotnego wpływu na moją pozytywną ocenę **Przeglądu literatury**.

Cel pracy to krótki rozdział, w którym Doktorantka przekonuje czytelnika rozprawy o zasadności podjętych (i zrealizowanych) badań. W rozdziale tym Doktorantka podaje kolejne etapy oraz sposoby realizacji założonych przez Nią celów. Głównym zamierzeniem Doktorantki było eksperymentalne określenie struktur chemicznych powtarzających się jednostek cukrowych w antygenach O-swoistych wyizolowanych z siedmiu szczepów reprezentujących rodzaj *Dickeya* oraz z pięciu szczepów zaklasyfikowanych do gatunku *Pectobacterium parmentieri*. **Cel naukowy pracy** został sformułowany precyzyjnie i jednoznacznie. Zastanawia mnie jedynie, dlaczego Doktorantka używając określenia cytując: *podstawniki niecukrowe* bierze to ostatnie słowo w cudzysłów. Czyni to nie tylko w tym rozdziale ale prawie w całym doktoracie. Według mojej opinii słowo *niecukrowe* w całej pełni odzwierciedla charakter takich podstawników jak: reszty acetylowe, 3-hydroksymasłowe, pirogronianowe, aminokwasowe czy ortofosforanowe znajdujące w polimerach czy oligomerach sacharydowych.

W kolejnym rozdziale pracy, zatytułowanym **Część eksperymentalna**, Pani mgr Karolina Ossowska szczegółowo opisuje wykorzystane w pracy materiały oraz zastosowane metody

badawcze. Doktorantka zamiast ogólnego opisu toku badań nad pozyskaniem, oczyszczeniem i kolejno następującymi po sobie analizami prowadzącymi do określenia struktur O-antygenów, przedstawia całostronicowy schemat obrazujący główne etapy w procesie badawczym. Doktorantka, stosując w opisie formy bezosobowe (prowadzono, namnożono, zamrożono, itd.) wyraźnie zaznaczyła, że nie brała udziału w namnażaniu mas bakteryjnych. Z podziękowań, zamieszczonych na stronie drugiej, można dowiedzieć się, że hodowle bakterii były prowadzone przez pracowników Zakładu Ochrony i Biotechnologii Roślin Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed. W kolejnych podrozdziałach **Części eksperymentalnej** Doktorantka podkreśla swój bezpośredni udział w prowadzonych badaniach, używając w opisie doświadczeń pierwszej osoby liczby pojedynczej. Zamieszczone opisy przeprowadzonych analiz są na tyle dokładne, że bez większych problemów można je powtórzyć w innym laboratorium. Jednocześnie, w powyższy sposób Doktorantka dowodzi, że wszystkie procedury dobrze zna i wie do czego prowadzi ich zastosowanie. Zaprezentowany tutaj szczegółowy opis przeprowadzonych eksperymentów to klasyczne i bardzo cenne podejście do pisania prac doktorskich, które dla kolejnych adeptów chemii czy biochemii stają się źródłem bezpośrednich informacji o tym, jak prowadzić tego rodzaju doświadczenia, już bez konieczności sięgania do prac źródłowych.

Najważniejsze informacje będące podstawą oceny pracy doktorskiej są zawarte w rozdziale opatrzonym tytułem **Wyniki i wnioski**. Rozdział ten jest bogato ilustrowany chromatogramami, widmami mas i widmami NMR oraz tabelarycznymi zestawieniami wyników. Ta obszerna, licząca 76 stron część doktoratu została podzielona na sekcje. W każdej z nich opisywane są badania nad innym typem antygenów O-swoistych. W pierwszej z nich, Doktorantka dowodzi, że siedem wybranych do analiz szczepów z rodzaju *Dickeya* syntetyzuje liniowy homopolimer utworzony z β -D-6-deoksy-altroz połączonych wiązaniami 1 \rightarrow 2 glikozydowymi. Ten polimer włączają bakterie *Dickeya* jako O-antygen do tworzonego lipopolisacharydu.

Wybrane do badań szczepy bakterii z gatunku *Pectobacterium parmentieri* są zdolne do syntezy trzech odmiennych polisacharydów O-swoistych. Dwa szczepy (IFB5408 oraz IFB5427) syntetyzują O-antygeny, których struktura jest opisana przez czterocukrową rozgałęzioną powtarzającą się podjednostkę. W jej skład wchodzi: β -D-GalNAc, α -D-Gal i β -D-Gal oraz β -D-ManNAc jako odgałęzienie boczne. Szczep *P. parmentieri* IFB5441 ma w swoim genomie zakodowane enzymy biorące udział w syntezie antygeny O zbudowanego z różnie połączonych ze sobą galaktoz. Regularnie co trzecia z nich jest ozdobiona przyłączonym w pozycji C-3 kwasem pseudoaminowym, który z kolei jest acylowany grupami octanowymi (pozycje C-4 i C-5) oraz resztą kwasu S-3-hydroksymasłowego (pozycja C-7). Doktorantka wykazała, że lipopolisacharydy

kolejnych dwóch szczepów *P. parmentieri* (IFB5308 i IFB5432) mają O-PSy zbudowane z liniowych pentasacharydowych podjednostek, w skład których wchodzi dwie reszty galaktozy, dwie reszty glukozy oraz kwas pseudoaminowy O- i N- acetylowany w pozycjach 4, 5 i 7.

Za najważniejsze osiągnięcia Doktorantki opisane w tej części pracy należy uznać: (i) identyfikację struktury chemicznej OPS identycznej dla wielu szczepów Dickeya i jednocześnie reprezentujących różne gatunki tego rodzaju, (ii) określenie struktury chemicznej czterocukrowej podjednostki cukrowej w OPS identycznej dla dwóch różnych przedstawicieli gatunku *Pectobacter parmentieri*, (iii) przedstawienie dwóch struktur powtarzających się podjednostek, które zawierają w swoich składach pochodne kwasu pseudoaminowego. Opis ostatnio wymienionych podjednostek to szczególne wyzwanie dla młodego pracownika nauki, gdyż identyfikacja kwasu pseudoaminowego opiera się wyłącznie na podstawie widm NMR badanego preparatu polisacharydowego.

Opisując kolejno badania nad antygenami O-swoistymi o prostej budowie (homopolimery 6-dezoksy-atlrozy) poprzez O-antygeny zawierające typowe cukry i aminocukry, a kończąc na opisie preparatów O-antygenowych zawierających pochodne kwasu pseudoaminowego Doktorantka podporządkowała strukturę wewnętrzną rozdziału **Wyniki i wnioski** ważkości swoich osiągnięć naukowych. Jednak mimo, że przedstawione wyniki są znaczące, to ich opis jest dość monotony. Badania wszystkich preparatów są przedstawione w identyczny sposób. Każdy opis zawiera informacje dotyczące hodowli bakterii, izolacji LPSu, izolacji części polisacharydowej tego LPSu i jej frakcjonowaniu metodą chromatografii sączenia molekularnego. Jedne po drugich są omawiane analizy chemiczne prowadzące do określenia składu cukrowego i konfiguracji absolutnej poszczególnych monocukrów oraz typu połączeń pomiędzy cukrami. Przy opisach kolejnych preparatów polisacharydowych najwięcej miejsca Doktorantka poświęciła na przedstawienie wyników otrzymanych przy użyciu magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). Nic w tym dziwnego. NMR jest obecnie podstawowym narzędziem używanym do badań strukturalnych polisacharydów. Jednocześnie należy nadmienić, że Doktorantka miała do dyspozycji spektrometr Bruker Avance III 700 MHz tj. aparat bardzo wysokiej klasy. Z przedstawionych analiz widm NMR należy wnioskować, że Doktorantka nabyła umiejętności analizy widm NMR i świetnie wykorzystuje tę umiejętność w praktyce.

Analizując dorobek naukowy Doktorantki zauważyłem, że Pani mgr Karolina Ossowska jest współautorem siedmiu oryginalnych artykułów naukowych. Wszystkie zostały opublikowane w *Carbohydrate Research* i wszystkie dotyczą analiz strukturalnych antygenów O-swoistych pozyskanych z różnych mikroorganizmów. Szczególnie interesujące są dwie publikacje, które swoją tematyką wiążą się ściśle z tematyką ocenianej pracy doktorskiej. W pierwszym artykule

zatytułowanym „The uniform structure of O-polysaccharides isolated from *Dickeya solani* strains of different origin” [Carbohydr Res 445 (2017) 40-43] przedstawione są wyniki badań O-antygenów izolowanych z pięciu szczepów rodzaju *Dickeya*. W doktoracie opis poszerzono dodając wyniki analizy kolejnych dwóch preparatów uzyskanych odpowiednio z *D. zea* (szczep IFB0031) i z *D. dianthicola* (szczep IFB0016). W publikacji, która ukazała się rok wcześniej [Carbohydr Res 426 (2016) 46-49] znajdujemy opis polisacharydów O-swoistych z *Pectobacterium wasabiae* IFB5408 i IFB5427. Jest on tożsamy z opisem zamieszczonym w doktoracie, a odnoszącym się do preparatów *Pectobacterium parmentieri* IFB5408 i IFB5427. Domyślam się, że Doktorantka opisuje te same preparaty polisacharydowe i że klasyfikacja bakterii *P. wasabiae* IFB5408 i IFB5427 uległa zmianie/modyfikacji (na co wskazują dane z Tabeli 5 na str. 25) już po opublikowaniu artykułu. Nie znalazłem w dostępnej mi literaturze wzmianki dotyczącej reklasyfikacji tych bakterii. Może Pani mgr Karolina Ossowska dysponuje takimi danymi. Nie sądzę aby zmiana przynależności gatunkowej szczepów IFB5408 i IFB5427 nastąpiła automatycznie, gdyż zgodnie z propozycją Khayi i współpracowników [IJSEM (2016) 66 5379–5383], aby zaklasyfikować je do gatunku *P. parmentieri* należałoby sprawdzić czy metabolizują one: (+)-rafinozę, D(+)- α -laktozę, D-(+)-galaktozę i (+)-melibiozę i czy nie rosną na metylowym α -D-glikopyranozydzie, (+)-maltozie i kwasie malonowym jako jedynych źródłach węgla.

Podsumowanie w pracy doktorskiej Pani mgr Karoliny Ossowskiej to skondensowana forma rozdziału **Wyniki i dyskusja** lub też rozszerzone **Streszczenie**. Jeśli chodzi zaś o **Dyskusję** wyników to oczekiwałbym w niej znacznie więcej odniesień i to nie tylko do literatury opisującej podobne polimery występujące w naturze, czy też do artykułów opisujących organizmy/mikroorganizmy syntetyzujące podobne związki, ale także odniesień do artykułów omawiających znaczenie tych polimerów dla bakterii syntetyzujących je oraz opisujących ich rolę w interakcjach pomiędzy bakteriami, a otaczającym je środowiskiem, w szczególności zaś rolę jaką pełnią w układzie bakterie patogenne - kolonizowane przez nie rośliny. Jednocześnie zdaję sobie sprawę, że tak szerokie potraktowanie tematu daleko wybiega poza ramy, zakreślone tytułem, ocenianej pracy doktorskiej.

Rozprawę kończy, zawierający 199 pozycji, spis **Literatury**. Zawiera on pozycje literaturowe wydane w latach od roku 1882 (poz. [1] Burrill, 1882; pozycja o znaczeniu historycznym), aż po lata 2020 i 2021 (kilka pozycji z roku 2020 – [46,62,66,98,118 i jedna z 2021- [95] oraz kilka odnośników do stron internetowych (np. poz. [95])). Doktorantka nie stroni od cytowania artykułów o wartości historycznej czy podręczników (np. poz. [149] Kunicki-Goldfinger W., Życie bakterii, PWN, 1998, i poz. [150] Biologia molekularna bakterii pod redakcją. Baj J. i

Markiewicz Z., PWN 2015). Zastanawiający jest sposób cytowania literatury jaki wybrała Pani mgr Karolina Ossowska. Pozycje bibliograficzne nie są cytowane w kolejności pojawiania się w tekście, a spis literatury nie jest uporządkowany alfabetycznie. Wnoszę więc, że kolejne pozycje literaturowe były dodawane w trakcie kolejnych poprawek manuskryptu oraz/lub w miarę uzupełniania bazy literaturowej. Stosowane na stronach 8 i 9 rozprawy co najmniej trzy sposoby cytowania to prawdopodobnie nieusunięte sposoby cytowań z wcześniejszych wersji doktoratu. Brak przejrzystego systemu cytowania nieco utrudnia czytanie rozprawy. Jednocześnie trzeba w tym miejscu nadmienić, że w całym spisie literatury nie znalazłem błędnie zacytowanej pozycji.

Czytając i analizując przedłożoną rozprawę doktorską Pani magister Karoliny Ossowskiej nasunęły mi się drobne wnioski i komentarze, które przedstawiam poniżej i nad którymi chciałbym podyskutować z Doktorantką w czasie publicznej obrony.

- Według mnie nieodzownym elementem analizy strukturalnej LPS/OPS jest elektroforeza w żelu poliakrylamidowym natywnego lipopolisacharydu (tj. LPSu pozyskanego bezpośrednio z komórek bakteryjnych przez ich enzymatyczną degradację). Rozdział ten daje bezpośredni wgląd w heterogenność LPS, za którą w głównej mierze odpowiada rozkład długości (stopień polimeryzacji) cząsteczek antygeny O-swoistego. Rozdziału elektroforetycznego nie da się zastąpić analizą metodą SEC gdyż metoda ta ma zbyt małą rozdzielczość w porównaniu do PAGE. Tak więc według mojej opinii w **Części eksperymentalnej** brakuje opisu metody PAGE a w części **Wyniki i wnioski** brakuje opisu rezultatów badań lipopolisacharydów tą metodą.
- Zastanawia mnie, dlaczego w preparatyce octanów alditoli oraz permetylowanych octanów alditoli nie zastosowano borodeuterku sodu. Wyznakowane deuterem pochodne monocukrów zdecydowanie ułatwiają ich analizę metodą spektrometrii mas (mam tu na myśli analizy wykonywane techniką GC-MS).
- Dlaczego do usuwania kwasów nukleinowych z preparatów surowego LPS Doktorantka używała 99,8% etanolu zamiast dużo tańszego odczynnika zawierającego 95% etanolu. Przecież równie dobrze można było dodać odpowiednią objętość zmrożonego 95% etanolu aby jego stężenie końcowe w otrzymanym roztworze wynosiło 40% (rozdział 3.2.2. str. 43)
- Czy nie należałoby wykalibrować kolumny wypełnionej Bio Gel'em P-100 przed rozpoczęciem izolacji frakcji zawierających antygeny O-swoiste. Minimum to wyznaczenie objętości wykluczania (V_0) i objętości przenikania (V_p). Wtedy zniknąłby problem co znajduje się w ostatnich frakcjach wycieku z kolumny. Według ulotki firmowej Bio Gel P-100 służy do rozdzielania związków w zakresie mas od 100 000 do 5 000 Da. Tak więc prawdopodobnie we

frakcjach opuszczających kolumnę w okolicach 1000 minuty należy spodziewać się nie tylko związków o małej masie cząsteczkowej lecz także całkiem pokaźnych oligosacharydów. Należy pamiętać, że oligocukier rdzeniowy (zaprezentowany na Rysunku 6.) ma M_{cz} tylko ok. 1300 Da. W konkretnych opisach analiz metodą SEC (**Wyniki i dyskusja**) znalazłem różne, czasem mało uprawnione, określenia (np. Tabela 10, frakcja 3 to „związki o małej masie cząsteczkowej”).

- W trakcie swoich badań Pani mgr Karolina Ossowska wielokrotnie używała metody GLC oraz GLC-MS. Warunki analiz tymi metodami zostały opisane na stronach 48 i 52. Z opisu wynika, że analizy wykonywano stosując kolumny kapilarne (Restek; Rtx-5). Obecnie jest to tak standardowa i tak powszechna metoda, że Doktorantka zapomniała uzupełnić jej opis przez podanie jak był dzielony strumień gazu nośnego w dozowniku (tzw. split).
- Jak już wspomniałem, część wyników została opublikowana na łamach czasopisma Carbohydrate Research. Można w tych artykułach znaleźć dosyć szczegółowe informacje dotyczące wykonania pomiarów metodą magnetycznego rezonansu jądrowego. Dotyczą one parametrów analiz takich jak: czas mieszania, czy stała sprzężenia dalekiego zasięgu. Niestety, tych szczegółów brakuje w pracy doktorskiej. Doktorantka podaje temperatury w jakich prowadzono poszczególne analizy (str. 53), ale nie wyjaśnia dlaczego jedne preparaty analizowane były w temperaturze 25°C inne zaś w temperaturze 48°C. Zastanawiające jest także, że do analiz opisanych w artykule z 2017 roku [Carbohydr Res 445 (2017) 40-43] stosowano spektrometr Bruker Avance III 500 MHz zaś w doktoracie opisany jest spektrometr Bruker „Avenace” III 700 MHz.
- Rysunek 10 na stronie 56: Piki na tym rysunku/chromatogramie zostały opisane w taki sposób, że można by wnioskować iż dwa sygnały zakreślone klamrą i oznaczone numerem 3 odnoszą się do jednego w pełni acetylowanego heksitolu (podpis). Identyczne wrażenie można odnieść czytając opis odnoszący się do obszaru zaznaczonego klamrą z numerem 4.
- Rysunek 26 na stronie 69 przedstawia fragment chromatogramu z analizy octanów alditoli otrzymanych z cukrów uwolnionych z OPS *P. parmentieri* IFB5408. Na podstawie tego chromatogramu Doktorantka stwierdza, że „na chromatogramie można zauważyć 3 dominujące sygnały. Stosunek molowy poszczególnych pochodnych wynosił ~2:1:1”. Z pierwszą częścią tego stwierdzenia można się zgodzić. Co więcej, na podstawie analizy czasów retencji można zidentyfikować z jakich cukrów/aminocukrów te heksitole powstały. Jednak już pierwsze spojrzenie na chromatogram pozwala wnosić, że proporcje między kolejnymi pikami nie są zgodne z tymi podanymi przez Doktorantkę. Na podstawie przedstawionego chromatogramu

należałoby wnosić, że stosunek molowy poszczególnych pochodnych wynosi odpowiednio 4:1:2. Jak pogodzić te wyniki z pozostałymi danymi zaprezentowanymi w doktoracie?

- Na stronach 92 i 93 Doktorantka zamieszcza dwa chromatogramy analizy stereoizomerów otrzymanych z OPS IFB5441 (rys. 55) oraz analizy tego samego preparatu z dodatkiem wzorca (rys. 56). Na chromatogramie drugim (rys. 56) dodatkowo zostały zaznaczone piki diagnostyczne dla pochodnych D-galaktozy. Na podstawie tych danych Doktorantka wyciąga wnioski, że badany cukier to D-galaktoza. Spośród trzech sygnałów diagnostycznych potrzebnych dla identyfikacji D-galaktozy nie odnalazłem na chromatogramie z rys. 55 tego o najmniejszym czasie retencji!?
- W trakcie określania konfiguracji przestrzennej kwasu 3-hydroksybutanowego obecnego w polisacharydzie O-swoistym *P. parmentieri* IFB5441 Doktorantka wykonała szereg rozdzielów chromatograficznych i zamieściła je w rozprawie doktorskiej (rysunki 68-72). Dowodzą one, że ten związek ma konfigurację *S*. Na każdym z chromatogramów widnieje sygnał o czasie retencji ok. 12,65 min. Doktorantka nic o nim nie wspomina w tekście pracy. Czy na podstawie widm MS (analizy były wykonywane metodą GLC-MS) można określić z jaką substancją mamy do czynienia i czy ten pik chromatograficzny reprezentuje substancję będącą zanieczyszczeniem próbki?
- Pani Karolina Ossowska pisząc swoją rozprawę doktorską nie uchroniła się przed błędami stylistycznymi i językowym. Dwa z nich zacytuję: (i) „Liofilizat dializatu poekstrakcyjnej warstwy wodnej” może być przykładem hermetyczności języka naukowego (ii) zaś dla nazwania czasu zbierania wycieku z kolumny do jednej próbki Doktorantka użyła określenia „czas kolekcji” (str.45). Na szczęście takie niefortunne sformułowania są bardzo nieliczne.

Wnioski końcowe

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego jakim jest ustalenie struktur polisacharydów O-swoistych wyizolowanych z lipopolisacharydów bakterii glebowych będących patogenami roślin uprawnych. Otrzymane dane wzbogacają wiedzę o różnorodności struktur powierzchniowych bakteryjnych fitopatogenów i mogą przyczynić się do poznania szczegółowych molekularnych mechanizmów powstawania i przebiegu chorób roślin oraz do opracowania metod ochrony upraw i zebranych plonów przed skutkami infekcji. Na szczególne podkreślenie zasługuje duża liczba przebadanych preparatów polisacharydowych. Wykonana i napisana przez Panią mgr Karolinę Ossowską praca doktorska wskazuje na dużą wiedzę Doktorantki oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań

naukowych. Poczynione przeze mnie uwagi w żadnym razie nie umniejszają wartości naukowej przedłożonej rozprawy.

Podsumowując, stwierdzam, że cel pracy doktorskiej został osiągnięty. Rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Ossowskiej spełnia wymagania stawiane ustawowo i zwyczajowo pracom doktorskim. Przedkładam zatem Wysokiej Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego wniosek o przyjęcie tej rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Karoliny Ossowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz dopuszczenie Jej do publicznej obrony.

Kierownik Katedry

Prof. dr hab. Adam Choma