

prof. dr hab. Katarzyna Niemirowicz-Szczytt  
Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, SGGW  
ul. Nowoursynowska 166; 02-787 Warszawa

## **Ocena osiągnięć naukowych, organizacyjnych i dydaktycznych dr Ewy Dubas w ramach prowadzonego postępowania habilitacyjnego**

### **I. Dane ogólne**

Dr Ewa Dubas jest absolwentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego. Studia ukończyła w 2001 roku otrzymując dyplom na kierunku biologia na podstawie pracy magisterskiej pt. „Zróżnicowanie kariologiczne w rodzaju *Luzula*”. Pracę magisterską wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. E. Kuty.

Pracę doktorską pt. „Wykorzystanie kultury izolowanych mikrospor rzepaku (*Brassica rapa* subsp. *oleifra* DC) jako modelu w badaniach nad wczesnymi etapami rozwoju zarodkowego” obroniła w 2007 roku na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego. Promotorem pracy w dyscyplinie nauki biologiczne w zakresie biologii była prof. dr hab. Maria Wędzony (IFR).

Aktualnie jest zatrudniona w Instytucie Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego PAN w Krakowie na etacie adiunkta od 2007r. Wcześniej była zatrudniona w tym samym Instytucie jako biolog w latach 2001-2007 a jednocześnie była doktorantką w Środowiskowym Studium Doktoranckim przy Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Jako doktorantka odbyła roczny staż (w dwóch etapach) w Uniwersytecie Wageningen oraz w Plant Research International (Holandia), który dotyczył roli cytoszkieletu mikrotubularnego w embriogenicnej kulturze mikrospor rzepaku. Po doktoracie odbyła 12 staży zagranicznych o łącznej długości 20 tygodni w The Institute of Plant Genetics and Biotechnology na Słowacji, Plant System Biology Department (VIB) na Uniwersytecie w Gandawie (Belgia) i w CSIC w Hiszpanii. Staże te były związane z realizacją 8 projektów badawczych.

W okresie zatrudnienia w IFR PAN uczestniczyła w zorganizowaniu laboratorium immunocytochemii i hybrydyzacji *in situ* a następnie koordynowała prace nad założeniem pracowni mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej.

### **II. Główne osiągnięcia naukowo-badawcze** pt. „Cytologiczne, molekularne i hormonalne podłoże androgenezy u roślin”

Na osiągnięcie naukowo-badawcze składa się pięć publikacji, z których cztery dotyczą cytoszkieletu i syntezy DNA, stężenia ABA i płynności błon w mikrosporach, charakterystyki polarności przy zastosowaniu obrazowania 2- i 3D w początkowym stadium embriogenezy

oraz wpływu szoku termicznego na dystrybucję auksyn w mikrosporach i zarodkach powstałych z mikrospor w procesie androgenezy rzepaku, zaś jedna dotyczy zmian w ekspresji genów w embriogenezie mikrospor heksapolidального pszenżyta.

Publikacje pochodzą z okresu 2011-2014 i są wynikiem prac zespołowych. W czterech publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem a w jednej drugim. Swój wkład w publikacjach (potwierdzony podpisami współautorów) dr E. Dubas określiła na 50-75%. We wszystkich pracach opracowała koncepcję badań lub planowała badania, przeprowadziła doświadczenia z zakresu kultur *in vitro*, przygotowała i analizowała preparaty do mikroskopu świetlnego, fluorescencyjnego, konfokalnego, skaningowego, przygotowała i analizowała próbki do analizy płynności błon, przygotowała konstrukcje genowe, opracowała wyniki i tekst do druku.

Wszystkie prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego to oryginalne, recenzowane prace twórcze, opublikowane w czasopiśmie anglojęzycznym, wysoko punktowanym przez MNiSW (20-35pkt), z IF 2-4, typowym dla prac, w których materiałem badawczym są rośliny (łącznie ponad 14). Łączna liczba punktów za prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego wynosi 145 (MNiSW).

Z formalnego punktu widzenia osiągnięcie naukowo-badawcze pt. „Cytologiczne, molekularne i hormonalne podłoże androgenezy u roślin” nie budzi zastrzeżeń. Udział Habilitantki w publikacjach jest znaczny. Z merytorycznego punktu widzenia wyniki mają znaczenie dla wyjaśnienia zmian zachodzących w procesie androgenezy przy użyciu nowoczesnych narzędzi badawczych takich jak metody transformacji oraz analiza w mikroskopie fluorescencyjnym, konfokalnym, skaningowym, analiza ELISA, HPLC a także analiza molekularna (PCR, klonowanie) na dwóch modelach roślinnych (rzepak i pszenżyto).

Habilitantka omówiła cel naukowy, wyniki i ich wykorzystanie w osiągnięciu naukowym na 10 stronach maszynopisu oraz omówiła pozostałą tematykę badawczą na dalszych 10 stronach.

Celem głównym badań osiągnięcia naukowego było poznanie mechanizmów indukcji androgenezy w kulturach pylników i izolowanych mikrospor. Cele szczegółowe to charakterystyka morfologicznego i funkcjonalnego zróżnicowania zarodków androgenicznych w zawieszynie mikrospor rzepaku oraz charakterystyka hormonalna regulacji procesu androgenezy u tego gatunku a także charakterystyka molekularnego podłoża indukcji androgenezy u pszenżyta.

Charakterystyka morfologicznego i funkcjonalnego zróżnicowania zarodków androgenicznych w zawieszynie mikrospor rzepaku została opracowana w publikacji nr 1 i nr

3. Badania dotyczyły cyklu komórkowego i konfiguracji cytoszkieletu. Określenie faz cyklu w podziałach mikrospor było możliwe po podaniu bromodeoksyurydyny (BrdU) do kultury poddanej działaniu temperatury (32°C). Prawidłowość mitozy analizowano za pomocą immunocytochemicznej metody znakowania cytoszkieletu tubulinowego. W drugiej pracy, która w zestawieniu prac jest na trzeciej pozycji, badano zawieszinę poddana przedłużonemu (5 dni) działaniu temperatury (32°C). W tej pracy po raz pierwszy wykazano, że na powierzchni zarodków pozbawionych suspensora występuje struktura podobna do ECM (matriks zewnątrzkomórkowy), potrzebna wraz z mikrotubulami w ukierunkowanym wzroście komórek. Habilitantka wskazuje, że opracowanie protokołu immunodetekcji w mikrosporach i zarodkach androgenicznych bez naruszania ciągłości tkanki ma znaczenie praktyczne.

Charakterystyka hormonalnej regulacji procesu androgenyzy jest przedstawiona w pracy nr 2 i 5. W pracy nr 2 przedstawiono wyniki badań nad poziomem ABA oraz płynnością błon komórkowych u rzepaku jarego o zróżnicowanym potencjale androgenicznym. ABA wpływa na przepuszczalność membran komórkowych i subkomórkowych. Transport przez błony komórkowe warunkowany jest stopniem ich płynności co z kolei może wpływać na poziom akumulacji ABA. Badano mikrospory poddane temperaturze 32°C przez 1 dzień (typ rozwoju androgeniczny podobny do zarodków zygotycznych, z suspensorem) i przez jeden dzień w temp. 18°C (typ prowadzący do wytworzenia dojrzałych ziaren pyłku). Poziom ABA mierzono techniką ELISA w pąkach kwiatowych i w mikrosporach. Wykazano istotny wzrost poziomu ABA w mikrosporach traktowanych temperaturą 32°C.

W pracy nr 5 po raz pierwszy przedstawiono wpływ temperatury 32°C ( w układzie jeden dzień i pięć dni traktowania, z genami *DR5* i *Dr5rev* i biosensorami GUS i GFP) na stężenie i rozmieszczenie IAA w transgenicznym zarodkach androgenicznych rzepaku we wczesnych etapach rozwoju. Poziom auksyny mierzono HPLC. Wykazano, że dłuższe traktowanie podwyższoną temperaturą wpływa na podwyższenie stężenia endogennych auksyn i zaburzenie ich polarności. W pracach tych określono zawartość ABA i IAA w pojedynczych komórkach, uzyskano wizualizację rozmieszczenia auksyn w poszczególnych etapach embriogenezy *in vitro*. Opracowanie protokołu transformacji mikrospor rzepaku jak i pomiarów ABA i IAA w pojedynczych komórkach jest najważniejszym osiągnięciem praktycznym w tych pracach.

Celem badań przedstawionych w pracy nr 4 było poznanie molekularnego podłoża androgenyzy w mikrosporach pszenżyta. Badania przeprowadzono na innym modelu niż

poprzednie. Dotyczyła indukcji androgenezy obniżoną temperaturą (kłosy, 4°C przez 3 tygodnie). Po traktowaniu kłosów chłodem izolowano z nich mikrospory i poddawano je kulturze w zawieszynie. Do badań wybrano 4 linie DH (z populacji linii DH). Dwie z linii DH były podatne na indukcję embriogenezy a dwie odporne. Materiał do analiz ekspresji genów pobierano z kłosów świeżych oraz po 4 i 8 dniach kultury. Analizę ekspresji genów przeprowadzono techniką RT-PCR. Zidentyfikowano 13 genów, które zaliczono do różnych klas. W dalszych żmudnych i trudnych badaniach należy sprawdzić czy te geny rzeczywiście regulują proces embriogenezy. W pracy po raz pierwszy podano dane na temat genetycznej regulacji rozwoju zarodka androgenicznego pszenżyta po indukcji stresem chłodu.

Badania przedstawione w cyklu publikacji należących do głównego osiągnięcia naukowo-badawczego są kontynuowane. Habilitantka uzyskała finansowanie projektu NCN pt. „Rola endogennych auksyn: kwasu indolilo-3-octowego (IAA) oraz kwasu indolilo-3-masłowego (IBA) w utrzymaniu homeostazy auksynowej i podwyższaniu efektywności androgenezy u rzepaku (*Brassica napus*)”.

### **III. Inne osiągnięcia naukowo-badawcze i istotna aktywność naukowa habilitanta**

Habilitantka rozpoczęła badania od zróżnicowania kariologicznego w rodzaju *Luzula*. Badała gatunki tego rodzaju w ramach swojej pracy magisterskiej pod kierunkiem prof. dr hab. E. Kuta. Po opracowaniu wyników zostały one włączone do dwóch publikacji. Jedna z tych publikacji ma charakter przeglądowy i dotyczy chromosomów holokinetycznych roślin a druga dotyczy badań nad chromosomami i DNA jądrowym w rodzaju *Luzula*. Badania wykonano w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin UJ w Krakowie. Badania te przyczyniły się do poznania różnych metod cytologicznych i dały podstawy do dalszego rozwoju warsztatu naukowego.

Po skończeniu studiów E. Dubas rozpoczęła badania związane z przyszłą pracą doktorską pod kierunkiem prof. dr hab. M. Wędzony. Współpracowała również z dr hab. I. Żur i wieloma innymi osobami w kraju i za granicą. Zagadnienia badawcze, którymi się zajmowała dzieli na dwa obszary: a) androgenezę w technologii podwojonych haploidów u wybranych gatunków roślin użytkowych; b) fizjologiczne, cytologiczne i genetyczne podłoże odpowiedzi na stres biotyczny.

W pierwszym obszarze badań powołuje się na 12 publikacji oryginalnych, współautorskich (wszystkie z IF) i jeden rozdział w książce naukowej (wszystkie publikacje w jęz. ang.)

Za najważniejsze osiągnięcia naukowe uważa : a) identyfikację genotypów (linii, odmian, form) czterech gatunków roślin (pszenica, pszenżyto, rzepak i miskant) o zróżnicowanym potencjale androgenicznym, b) charakterystykę warunków przełamujących oporność na indukcje androgenezę oraz poprawiających efektywność regeneracji roślin zielonych u gatunków jednoliściennych, c) charakterystykę auksyn i cytokinin w indukcji androgenezę, d) charakterystykę procesów fizjologicznych w indukcji androgenezę w stresie oksydacyjnym, e) charakterystykę roli cytoszkieletu w różnicowaniu ziaren pyłku i w embriogenezie oraz charakterystyka innych zmian cytologicznych, f) identyfikację i lokalizację QTL związanych z efektywnością androgenezę i zawartością ABA w mikrosporach pszenżyta.

Za najważniejsze osiągnięcia praktyczne dr E. Dubas uważa w tym obszarze opracowanie technologii produkcji podwojonych haploidów pszenżyta oraz identyfikację markerów molekularnych umożliwiających selekcję roślin o większym/mniejszym potencjale androgenicznym.

W drugim obszarze badań Habilitantka powołuje się na 5 publikacji naukowych, współautorskich, oryginalnych (wszystkie z IF) i jeden komunikat naukowy oraz jeden rozdział w monografii (wszystkie publikacje w języku angielskim).

Za najważniejsze osiągnięcia naukowe Habilitantka uważa: a) identyfikację odmian, linii i form pszenżyta, jęczmienia, życicy trwałej i *Festulolium* o zróżnicowanym poziomie odporności na wybrane patogeny (*Biopolaris sorokiniana*, *Microdochium nivale*); b) charakterystykę warunków fizycznych, które wpływają na podniesienie odporności na wymienione patogeny, c) charakterystykę podłoża genetycznego, fizjologicznego, metabolicznego odpowiedzi na infekcję wymienionymi patogenami oraz d) identyfikację i lokalizację QTL związanych z odpornością pszenżyta na infekcję *M. nivale*.

Za najważniejsze osiągnięcia praktyczne uważa identyfikację markerów molekularnych, które mogą być wykorzystane w hodowli odpornościowej.

Całkowity dorobek Habilitantki wynosi **643** punkty wg MNiSW (lista z 2013r.), w tym 566 po uzyskaniu doktoratu, w tym dla głównego osiągnięcia naukowo badawczego 145. Sumaryczny IF wynosi **48,0** w tym publikacji po uzyskaniu stopnia doktora 43,5 , w tym dla głównego osiągnięcia naukowego 14,8. Indeks Hirscha wg bazy WoS wynosi **7** a całkowity indeks cytowań wg WoS **134 lub 136** (z autocytowaniami) i 101 (bez autocytowań).

Habilitantka publikowała swoje prace głównie w języku angielskim w renomowanych czasopiśmie międzynarodowych i krajowych (Genome, Advances in Cell Biology, Plant Cell Reports, Journal of Experimental Botany, Plant Cell Tissue and Organ Culture, Acta

Biologica Cracoviensia Series Botanica, Acta Physiologiae Plantarum, Physiological and Molecular Plant Pathology, Protoplasma, Plant Growth Regulation, Plant Physiology and Biochemistry i inne).

Oprócz licznych publikacji dr E. Dubas wykazuje 79 streszczeń w materiałach z konferencji w latach 2003-2014 ( w tym 45 streszczeń z konferencji międzynarodowych). Świadczy to o dużej aktywności w prezentowaniu swoich wyników na forum krajowym i zagranicznym. Również udział współautorów wskazuje na aktywną współpracę międzynarodową.

Powierzono jej recenzje jednej książki w języku angielskim i recenzje w czasopismach naukowych (6 różnych czasopism).

Habilitantka była wykonawcą w 6 projektach zagranicznych, głównie typu COST lata (2002-2013) oraz była i jest wykonawcą w 10 projektach krajowych (lata 2003-2018). Były to różne projekty MNiSW, MRiRW a także sieci. Była również wykonawcą w 3 wspólnych projektach i koordynatorem w 2 wspólnych projektach badawczych w ramach współpracy bilateralnej PAN (kraje Hiszpania, Belgia i Słowacja).

Projekty, którymi kierowała i w których była wykonawcą wskazują na ścisły związek z badaniami, które wykonywała i wynikami, które opublikowała. Wskazują również na jej szersze zainteresowania badawcze.

Dr Ewa Dubas była uczestniczką 18 kursów i szkoleń za granicą i 8 kursów lub szkoleń w kraju.

Inne ważne osiągnięcia powiązane z pracą badawczą to otrzymanie (w latach 2011-2014) 6600 linii DH jęczmienia ozimego i przekazanie ich do firmy DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. (karta wdrożenia produktu) a także dwukrotna nominacja na członka komitetu Zarządu Akcji COST (COST FA 0903 2011-2014 „Harnessing Plant Reproduction for Crop Improvement” i COST FA 1306 2014-2017, „The quest for tolerant varieties: Phenotyping at plant and cellular level”). Jeszcze jedna aktywność to recenzent zewnętrzny międzynarodowych projektów badawczych Fund for Scientific Research - FNRS.

#### **IV. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz współpraca międzynarodowa habilitanta**

Do dorobku dydaktycznego należy zaliczyć opiekę naukową nad pracami magisterskimi (2 po doktoracie), opiekę na wykonaniem eksperymentów do prac magisterskich (4), promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim mgr inż. P. Kopia na Uniwersytecie Rolniczym w Krakowie.

Habilitantka prowadziła wykłady i ćwiczenia przez 2 lata (2009/2010 i 2010/2011) na studium podyplomowym w zakresie biologii molekularnej Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie (współfinansowane ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego).

Prowadziła także wykłady dla Międzynarodowego Studium Doktoranckiego Nauk Przyrodniczych PAN w Krakowie w 2014 r.

Praca doktorska dr E. Dubas została wyróżniona na UJ w Krakowie. Była wyróżniona trzykrotnie nagrodą IFR PAN w Krakowie za najwyższą liczbę publikacji, dwukrotnie w grupie najmłodszych pracowników a raz w 2013 w grupie młodszych pracowników.

### **Uwagi końcowe**

Główne osiągnięcie naukowo-badawcze dr Ewy Dubas pt. „Cytologiczne, molekularne i hormonalne podłoże androgenezы u roślin” składające się z pięciu publikacji z lat 2011-2014 jest opracowaniem nowoczesnym, wartościowym i uznanym (w czasopismach recenzowanych, z wysokim IF, wysoko punktowanych przez MNiSW). Osiągnięcie to jest potwierdzone innymi publikacjami i udziałem Habilitantki w projektach badawczych krajowych i międzynarodowych. Badania prowadzone przez Habilitantkę w różnych zespołach miały charakter odkrywczy i ulegały stałemu rozwojowi. W trakcie badań poddawano rewizji wcześniejsze założenia i realizowano nowe koncepcje. Wyniki przedstawione w publikacjach przyczyniły się do lepszego poznania procesu androgenezы dwóch gatunków roślin (rzepak i pszenżyto) a także do badania podstaw procesu odporności roślin zbożowych na dwa gatunki patogeniczne grzybów (*Biopolaris sorokiniana*, *Microdochium nivale*).

Należy podkreślić nie tylko wymienione wyżej osiągnięcie ale wiele innych, których wyrazem jest wysoka punktacja uzyskana przez Habilitantkę (całkowity dorobek **643** punktów wg MNiSW, sumaryczny IF **43,5**, Indeks Hirscha wg bazy WoS **7**, całkowity indeks cytowań wg WoS **134**).

Biorąc pod uwagę wszystkie sfery działalności zawodowej: a więc znaczące osiągnięcia naukowe, aktywną współpracę naukową w kraju i zagranicą, działalność popularyzatorską, osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne Pani dr Ewy Dubas stwierdzam, że spełniają one warunki formalne określone w art. 16 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. Nr 65, poz.695 z późn. zm.) oraz w pełni uzasadniają wniosek o nadanie Jej przez Radę Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk rolniczych w zakresie agronomii.

*G. N. Niemirowicz-Szczytt*

Warszawa 2014-11-21

Prof. dr hab. Katarzyna Niemirowicz-Szczytt