



INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN  
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY  
Radzików, 05-870 Błonie  
NIP 529-000-70-29  
ODDZIAŁ w POZNANIU  
60-479 Poznań, ul Strzeszyńska 36

tel. (48) (61) 84 64 205

fax (48) (61) 823 38 71

(48) (61) 823 35 31 email: [postbox@nico.ihar.poznan.pl](mailto:postbox@nico.ihar.poznan.pl)

[www.ihar.edu.pl](http://www.ihar.edu.pl)

Poznań, 17.11.2014

Teresa Cegielska-Taras, prof. dr hab.  
Pracownia Kultur Tkankowych  
Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych  
IHAR-PIB Oddział w Poznaniu

## **Ocena osiągnięcia naukowego, pozostałego dorobku naukowego, a także dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i mobilności dr Ewy Dubas w związku z ubieganiem się o stopień doktora habilitowanego**

### **Uwagi wstępne**

Dr Ewa Dubas ukończyła studia na kierunku Biologii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie w 2001 roku. W 2007 uzyskała stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii, przewód doktorski przeprowadzony został przez Uniwersytet Jagielloński Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, a praca doktorska uzyskała wyróżnienie.

Od 2001, będąc słuchaczem Studium III stopnia w Środowiskowym Studium Doktoranckim przy Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego, rozpoczęła pracę, w pierw na część etatu, a potem na cały etat, jako biolog w Instytucie Fizjologii Roślin PAN w Krakowie. Obecnie jest adiunktem w Zakładzie Biologii Komórki tegoż Instytutu.

Dr Ewa Dubas przedkłada, celem przeprowadzenia przez Wydział Rolniczo-Ekonomiczny Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie postępowania habilitacyjnego, jako osiągnięcie cykl publikacji opatrzonych tytułem: „Cytologiczne, molekularne i hormonalne podłoże procesu androgenyzy u roślin”, poświadczoną kopię dyplomu o posiadaniu stopnia doktora, autoreferat w j. polskim i angielskim i wykaz opublikowanych prac naukowych wraz z informacją o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej, dorobku organizacyjnego oraz popularyzacji nauki. Po zapoznaniu się z powyższą dokumentacją stwierdzam, że z formalnego punktu widzenia wniosek spełnia wymogi stawiane wnioskowi o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie: agronomia.

### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Osiągnięcie naukowe pt. „Cytologiczne, molekularne i hormonalne podłoże procesu androgenyzy u roślin”, stanowi monotematyczny cykl pięciu prac dotyczących różnych aspektów procesu androgenyzy *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor roślin użytkowych. Cztery prace poświęcone są badaniu procesu embriogenezy mikrospor rzepaku (*Brassica napus* L.), a jedna praca dotyczy kultury izolowanych mikrospor u pszenżyta (*Triticosecale* Wittm.). Publikacje ukazały się w

następujących czasopismach: dwie w Plant Cell Reports, dwie w Protoplasma, oraz jedna w Plant Cell, Tissue and Organ Culture. W pierwszej, drugiej, trzeciej i piątej, z wymienionych prac, dr Ewa Dubas jest pierwszym oraz korespondującym autorem, a w czwartej drugim z sześciu autorów. Wszystkie prace ukazały się, w latach 2011-2014, w czasopismach z Listy Filadelfijskiej, a współczynnik oddziaływania tych czasopism wynosi od 2,51 do 3,63. Prace są wieloautorskie i do wszystkich zostały dołączone oświadczenia współautorów o ich wkładzie w opublikowane wyniki. Z oświadczeń tych wynika, że w przypadku gdy Kandydatka jest pierwszym i korespondującym autorem to wkład Jej w te prace jest decydujący, zarówno koncepcyjnie jak i wykonawczo. Natomiast w przypadku czwartej z prac oświadczenia również wskazują na udział dr Ewy Dubas na wszystkich etapach powstawania publikacji.

Początkowym celem badań dr Ewy Dubas było poznanie mechanizmów indukcji androgenyzy *in vitro* i rozwoju zarodka androgenicznego, a kolejne publikacje dotyczyły hormonalnej regulacji procesu embriogenezy mikrospor oraz rozpoznania na poziomie molekularnym indukcji androgenyzy *in vitro*. Autorka rozpoczęła swoje badania od poznania podstaw efektywnej metody indukcji mikrospor do podziałów inicjowanej temperaturą poprzez śledzenie cyklu komórkowego mikrospor rzepaku. W dalszym toku postępowań badała stymulację rozwoju zarodka androgenicznego wykorzystując immunocytochemiczną metodę znakowania cytoszkieletu tubulinowego. Wykazała, że rearanżacje cytoszkieletu mikrotubularnego umożliwiają komórkom prawidłowe funkcjonowanie w warunkach normalnych jak i zmiennym środowisku. Następnie przeprowadziła badania nad analizą cyklu komórkowego mikrospor rzepaku poddanych dłuższemu stresem wysokiej temperatury (5 dni, 32<sup>o</sup> C). Okazało się, że pierwszy podział mikrospor traktowanych wysoką temperaturą był symetryczny. Natomiast w dalszych etapach podziałów powstawała struktura złożona z wielu synchronicznych i asynchronicznych podziałów komórek różniących się pod względem cytologicznym. Cytoszkielet mikrotubularny kontrolował prawidłowy przebieg mitozy. Po raz pierwszy opisano strukturę podobną do matrix zewnątrzkomórkowego (ECM ang. extracellular matrix) tworzącą się na powierzchni androgenicznych zarodków bez wieszadła. Kandydatka przypuszcza, że obecność włóknistej struktury zapewnia wymianę informacji między poszczególnymi komórkami zarodka, co jest związane z prawidłowym funkcjonowaniem cytoszkieletu oraz odgrywa dużą rolę w ukierunkowanym wzroście komórek. Ta część wyników badań jest nowatorska przede wszystkim poprzez stosowanie trójwymiarowej analizy cyklu komórkowego. Bardzo ważne było także określenie mikrotubul w podziałach mikrospor potwierdzając podobieństwo ich do zygocznego rozwoju zarodka z suspensorem. Osiągnięcia te możliwe były dzięki opracowaniu metody immunodetekcji „whole mount” w mikrosporach i zarodkach mikrosporowych w całej tkance bez jej naruszania. Wyniki tych badań mogą być pomocne w ustalaniu protokołu haploidytacji roślin. W toku dalszych badań Kandydatka zwróciła uwagę na hormonalną regulację embriogenezy mikrospor. Analizowała udział kwasu abscysynowego (ABA) w procesie androgenyzy *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor rzepaku jarego o zróżnicowanym potencjale podatności do stymulacji embriogenezy mikrospor. Wyniki badań zgodne były z danymi literaturowymi i wskazywały, że ABA pełni kluczową rolę w sygnalizacji komórkowej przede wszystkim w odpowiedzi na stresy abiotyczne, przepuszczalność membran komórkowych i subkomórkowych oraz bierze udział w procesie androgenyzy. Dr Ewa Dubas po raz pierwszy określiła związek pomiędzy endogennym stężeniem ABA mierzonym techniką ELISA w pąkach kwiatowych i mikrosporach roślin dawców – mikrospor, stopniem „płynności” błon komórkowych (poprzez pomiar współczynnika anizotropii znacznika fluorescencji) i efektywnością stymulacji androgenyzy w kulturach izolowanych mikrospor. Wskazuje to na indukcyjny wpływ ABA na androgenezę *in vitro* u rzepaku. Ciekawym zabiegiem było zbadanie zawartości ABA w mikrosporach oraz przeliczenie zawartości tej substancji na jedną mikrospore. W konsekwencji analiza statystyczna wykazała istotną podwyższoną zawartość kwasu abscysynowego w mikrosporach traktowanych wysoką temperaturą. Zmiana stężenia ABA była spowodowana zmianą

pH indukowaną temperaturą 32°C. Usztywnienie błon komórkowych i podwyższenie pH powodowała akumulację ABA, a tym samym sygnalizację regulującą embriogenezę. W dalszych pracach dr Ewa Dubas wraz z zespołem ze Słowacji, podjęła się badań nad rolą naturalnej auksyny kwasu indolilo-3-octowego (IAA) w przebiegu embriogenezy u bardzo podatnej do androgeny linii rzepaku jarego. Po raz pierwszy wykazano wpływ wysokiej temperatury (32°C) na stężenie i rozmieszczenie auksyny w transgenicznym zarodkach mikrosporowych we wczesnych fazach ich rozwoju. Autorzy wykazali, że różnice w długości traktowania wysoką temperaturą – 1 dzień oraz 5 dni – wpływały na odmienny przebieg embriogenezy pod względem cytologicznej budowy tych zarodków. Chociaż z moich długoletnich obserwacji wynika, że nie zawsze w kulturach mikrospor traktowanych umiarkowanym stresem temperatury, występuje zjawisko, powstawania zarodków ze strukturą podobną do suspensoria, jak to zostało zaobserwowane przez Zespół dr E. Dubas. Możliwe, że ta skłonność do indukcji tworzenia suspensoria jest regulowana genetycznie i szczególnie występuje u jarych form. Natomiast bardzo interesujące są wyniki potwierdzające, że wysoka temperatura determinuje rozkład auksyn w mikrosporach oraz zarodkach androgenicznych na wczesnym etapie jego rozwoju. Po raz pierwszy oznaczono stężenie endogennych auksyn w pojedynczej komórce. Dużą wartością tych badań jest określenie funkcji auksyn oraz kwasu abscysynowego i zachowania się błon komórkowych w indukcji embriogenezy u odmian rzepaku o zróżnicowanej wrażliwości na stymulację do androgeny. Nowością jest także określenie endogennej zawartości kwasu indolilo-3-octowego oraz kwasu abscysynowego w pojedynczej mikrosporze.

Kontynuując badania nad androgenizacją *in vitro* dr E. Dubas wraz z zespołem z Hiszpanii przeprowadziła ciekawe badania dotyczące genetycznej regulacji procesu androgeny poprzez ocenę profilu ekspresji genów specyficznie związanych z indukcją procesu embriogenezy mikrospor oraz genów warunkujących reakcję na stres niskiej temperatury. W tych badaniach nie mniej ważne było określenie funkcji wybranych genów w indukcji podziałów mikrospor u linii pszenżyta o zróżnicowanej podatności na indukcję androgeny. Po raz pierwszy opublikowano informacje na temat wzorca ekspresji genów związanych z indukcją androgeny w kulturze mikrospor pszenżyta ozimego.

Prace dr Ewy Dubas są przykładem badań, które są bardzo ciekawe naukowo i mają ważny aspekt aplikacyjny, istotnie przyczyniają się do opracowania efektywnej metody uzyskiwania podwojonych haploidów ważnych roślin uprawnych jak zbóż i rzepaku. Moja ocena osiągnięcia naukowego dr Ewy Dubas jest pozytywna, a wyniki naukowe mają istotny wkład w poszerzenie wiedzy biologicznej i agronomicznej na temat podłoża indukcji i przebiegu androgeny *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor.

### **Ocena pozostałego dorobku naukowego**

Poza publikacjami, które weszły w cykl osiągnięcia naukowego, dr Ewa Dubas w swoim dorobku zawiera: 23 publikacje twórcze w tym 17 publikacji, które ukazały się w czasopiśmie Journal Citation Reports (JCR) Web of Science Thomas Reutres, osiem monografii, publikacji naukowych w czasopiśmie międzynarodowych lub krajowych spoza bazy JCR. Jest także współautorem rozdziałów w trzech podręcznikach i skryptach, oraz 79 streszczeń w materiałach konferencyjnych w tym: 34 na konferencjach krajowych, 45 na konferencjach międzynarodowych. Prace dotyczą przede wszystkim badań podstawowych nad androgenizacją *in vitro* i optymalizacji stymulacji embriogenezy mikrospor roślin uprawnych oraz badań nad reakcją roślin jednoliściennych szczególnie zbóż na stres biotyczny, a najważniejsze rezultaty obejmują:

- opracowanie technologii uzyskiwania podwojonych haploidów pszenżyta
- identyfikacja markerów molekularnych mających zastosowanie w ocenie genotypów o pożądanych cechach
- identyfikacja genotypów pszenicy, pszenżyta o wysokim i niskim potencjale androgenicznym

- określenie fizycznych i chemicznych warunków środowiska zwiększających indukcję androgeny *in vitro* oraz efektywność regeneracji roślin u wybranych gatunków zbóż
- ocena zmian cytologicznych w izolowanych mikrosporach oraz rola cytoszkieletu w embriogenezie mikrospor rzepaku
- określenie roli auksyn i kwasu abscysynowego w indukcji androgeny *in vitro* mikrospor rzepaku
- identyfikacja genotypów pszenżyta, jęczmienia życicy trwałej i *Festulolium* o wysokim i niskim potencjale odporności na wybrane patogeny
- określenie reakcji roślin na infekcje grzybowe w ujęciu fizjologicznym, cytologicznym i genetycznym
- identyfikacja i lokalizacja QTL związanych z odpornością zbóż i traw na pleśń śniegową (*Microdochium nivale* Fr.)

Jeśli ująć całkowity dorobek naukowy dr Ewy Dubas w wymiarze scjentometrycznym to uważam, że są to wyniki wartościowe i prezentują się następująco: sumaryczny **IF=49,946** (w tym 5 prac wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego o **IF 14,826**), a bez pięciu prac wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego **IF=35,120**; sumaryczna liczba punktów **MNiSW** według aktualizacji listy w 2013 roku: **634**, a po odjęciu punktów za monotematyczny cykl publikacji składający się na osiągnięcie habilitacyjne: **498**; liczba cytowani publikacji według Web of Sciences Thomas Reuters (na dzień 31.07.2014) **136** z autocytowaniami, **101** bez autocytowań; Index Hirsha (H-index) według Web of Sciences Thomas Reuters **h=7**.

Za szczególne osiągnięcie uważam opublikowanie większości prac w najlepszych czasopismach naukowych, co świadczy to o ważkości pojętych badań oraz wysokiej wartości naukowej przygotowanych publikacji. Bardzo istotna jest również zespołowa praca Pani dr Ewy Dubas, w tym z naukowcami z innych krajów.

W mojej ocenie duży dorobek naukowy dr Ewy Dubas całkowicie spełnia wymogi nakładane na kandydatów ubiegających się o stopień doktora habilitowanego

### **Ocena aktywności naukowej, dorobku dydaktycznego i organizatorskiego**

Zainteresowanie badawcze dr Ewy Dubas koncentrują się wokół embriologii eksperymentalnej szczególnie analizy procesu androgeny *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor oraz pylników roślin dwuliściennych (rzepaku) i jednoliściennych zbóż (pszenżyta, żyta, owsa). Badania z tego zakresu prowadzone zostały wykorzystaniem technik immunocytochemicznych oraz mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej, realizacja których odbywała się podczas licznych, 12 zagranicznych staży naukowych (The Institute of Plant Genetics and Biotechnology w Słowacji, Plant System Biology Department (VIG) Uniwersytetu w Ghent, Belgia, CSIC w Hiszpanii), a także szeregu współprac krajowych i zagranicznych (Słowacja, Belgia, Austria, Czechy Hiszpania). Wszystkie te pobyty wyraźnie były związane z doskonaleniem doświadczeń mających na celu poznanie procesu androgeny *in vitro* jak i reakcja roślin na stres biotyczny.

Pani dr Ewa Dubas bardzo aktywnie potrafi zabiegać o finansowanie swoich badań: była wykonawcą w sześciu projektach badawczych międzynarodowych, w tym trzech unijnych w krajowych projektach badawczych (NCN, NCBiR, PBZ-MNiSW, MRiRW, KBN); w jednym projekcie była koordynatorem, a w 9 projektach wykonawcą. Dr Ewa Dubas brała także udział we wspólnych projektach badawczych bilateralnych PAN, w trzech projektach (z Hiszpanią i Słowacją) jako wykonawca oraz w dwu projektach (z Belgią i Słowacją) jako koordynator.

W ramach osiągnięć dydaktycznych Kandydatka wielokrotnie proszona była o prowadzenie zajęć dydaktycznych na Uniwersytecie Pedagogicznym w Krakowie oraz realizowała kursy na studiach podyplomowych z zakresu Biologii Molekularnej z Elementami Biotechnologii. Dr Ewa Dubas sprawowała też opiekę nad sześcioma pracami magisterskimi wykonywanymi na Uniwersytecie Pedagogicznym oraz dwoma pracami magisterskimi w macierzystym Instytucie. Obecnie na Uniwersytecie Rolniczym jest promotorem pomocniczym pracy doktorskiej pt:

”Wykorzystanie androgenezy, gynogenezy oraz poliploidyacji do przywracania płodności roślin miskanta olbrzymiego (*Miskanthus x giganteus* Greef et Deu)”.

Dr Ewa Dubas wygłosiła 50 referatów na krajowych i międzynarodowych konferencjach, seminariach naukowych, pełniła także funkcje recenzenta w międzynarodowych czasopismach naukowych, co również podkreśla jej rozpoznawalność naukową.

Kandydatka jest od kilku lat członkiem Komitetu Zarządu Akcji COST (2014-2017, 2011-2013) oraz ekspertem zewnętrznym w ocenie międzynarodowych projektów badawczych Fund for Scientific Research.

Dr Ewa Dubas angażuje się w rozwój naukowy Instytutu Fizjologii Roślin PAN. W 2004 r. uczestniczyła w zorganizowaniu laboratorium immunocytochemii i hybrydyzacji *in situ* w Zakładzie Biologii Komórki IFR PAN, wdrażając metody kultur *in vitro* oraz próbując wprowadzić metody immunocytochemiczne znakowania białek w komórkach roślinnych. Kandydatka koordynowała także prace nad założeniem pracowni mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej. Wyposażenie w te specjalne urządzenia badawcze Pracowni było wykorzystywane w wielu badaniach własnych IFR PAN oraz we współpracy z innymi uczelniami (Uniwersytet Jagielloński, Uniwersytet Rolniczy, Uniwersytet Pedagogiczny, Politechnika Krakowska.)

Przez trzy kolejne lata (2011, 2012, 2013) wyróżniana była przez Dyrektora IFR PAN za najwyższą liczbę publikacji w czasopismach z Listy Filadelfijskiej w grupie młodych pracowników.

Przedstawione dokonania świadczą, że Dr Ewa Dubas jest już osobą samodzielną o ugruntowanej pozycji naukowej w kraju i gronie międzynarodowym.

#### **Uwagi końcowe**

Osiągnięcie naukowe, pozostały duży dorobek naukowy, a także aktywność naukowa dr Ewy Dubas pozwalają zaliczyć ją, w mojej opinii, do grona najlepiej zapowiadających się naukowców w dyscyplinie agronomii w Polsce. Dlatego z głębokim przekonaniem przedkładam Radzie Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie wniosek o nadanie dr Ewie Dubas stopnia doktora habilitowanego.

. Zwracam się też do Rady, o ile istnieje taka możliwość, o wyróżnienie tego wniosku odpowiednią uchwałą.

Teresa Cegielska-Taras

*Teresa Cegielska-Taras*