

dr hab. Małgorzata Kozieradzka-Kiszkurno, prof. UG
Wydział Biologii Uniwersytetu Gdańskiego
e-mail: malgorzata.kozieradzka-kiszkurno@ug.edu.pl

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Barbary Janas
pt. „Histochemiczne aspekty formowania gametofitu żeńskiego u seksualnie i apomiktycznie
rozmnażających się gatunków z rodzaju *Hieracium*, *Pilosella* i *Taraxacum* (Asteraceae)”

wykonanej w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu
Jagiellońskiego w Krakowie, pod kierunkiem Pani dr hab. Krystyny Musiał, prof. UJ

Niniejsza recenzja rozprawy doktorskiej przygotowana została na prośbę z dn. 1 czerwca 2023 roku,
którą wystosowała Pani prof. dr hab. Maria Rapała-Kozik, Przewodnicząca Rady Dyscypliny Nauki
Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Janas dotyczy ważnej naukowo
tematyki, z dziedziny embriologii roślin, dotyczącej kluczowych procesów reprodukcyjnych
zachodzących w zalążkach roślin rozmnażających się seksualnie i apomiktycznie, które to procesy
wciąż nie są w pełni poznane.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska liczy 130 stron i jest autoreferatem zawierającym
streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów stosowanych w pracy, wprowadzenie,
hipotezy badawcze i cele pracy, materiały i metody, wyniki pracy (cykl trzech jednotematycznych i
opublikowanych artykułów naukowych; Artykuły 1-3), omówienie uzyskanych wyników, dyskusję,
posumowanie i wnioski badań. Autoreferat zawiera również spis cytowanej literatury, informacje o
źródle finansowania badań oraz oświadczenia Doktorantki i współautorów o charakterze i zakresie
pracy w poszczególnych publikacjach. Doktorantka dodatkowo umieściła informacje o swoim
dorobku naukowym.

Oceniana rozprawa doktorska składa się z trzech oryginalnych publikacji – niżej przedstawionych,
które zostały opublikowane w języku angielskim w czasopiśmie z listy *Journal Citation Reports*
(JCR), ich łączny wskaźnik IF z roku opublikowania wynosi 7,289 a liczba punktów MEiN wynosi
240.

1. **Janas AB**, Szelağ Z, Musiał K (2021) In search of female sterility causes in the tetraploid and pentaploid cytotype of *Pilosella brzovecensis* (Asteraceae). *Journal of Plant Research* 134:803–810. <https://doi.org/10.1007/s10265-021-01290-8> (IF= 3, 000; pkt. MEiN= 100)
2. **Janas AB**, Marciniuk J, Szelağ Z, Musiał K (2022) New facts about callose events in the young ovules of some sexual and apomictic species of the Asteraceae family. *Protoplasma* 259:1553–1565. <https://doi.org/10.1007/s00709-022-01755-0> (IF= 3,186; pkt. MEiN = 70)
3. **Janas AB**, Marciniuk J, Musiał K (2023) Immunolocalization of pectins and arabinogalactan proteins in young ovules of selected amphimictic and apomictic species of the Asteraceae family. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 65(1). <https://doi.org/10.24425/abcsb.2023.145594> (IF = 1,103; pkt. MEiN= 70)

Publikacje są współautorskie (od 3 do 4 autorów). Doktorantka we wszystkich artykułach jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. Z przedłożonych oświadczeń współautorów wynika, że Pani mgr Agnieszka Janas pełniła wiodącą rolę w powstaniu tych publikacji. Jej indywidualny udział w powstaniu poszczególnych publikacji został oszacowany odpowiednio na 75, 70 i 70% i nie budzi wątpliwości, że był wiodący. Doktorantka brała udział w przygotowaniu materiału roślinnego do badań, wykonaniu analiz histologicznych i immunocytochemicznych, zgromadzeniu, interpretacji i opracowaniu wyników, wykonaniu tablic z materiałem ilustracyjnym, przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu, udziale w tworzeniu wersji końcowej oraz korespondencji z redakcją czasopisma. Doktorantka w oświadczeniach tych nie podała informacji, że w dwóch publikacjach wraz z Promotorką była także współautorką koncepcji pracy, taką informację znalazłam w publikacjach 3 i 4.

Układ rozprawy doktorskiej, jakkolwiek jest to cykl publikacji poprzedzony ich omówieniem (autoreferatem) jest poprawny i typowy dla prac doktorskich z biologii eksperymentalnej. Ze względu na fakt, że opublikowane prace zostały już poddane szczegółowej ocenie przez recenzentów będących specjalistami w danej dziedzinie, zatem niniejsza recenzja skupia się na ocenie autoreferatu, który jest autorskim podsumowaniem uzyskanych wyników poddanych dyskusji w świetle dostępnej literatury światowej.

Nadrzędnym zadaniem Doktorantki była weryfikacja postawionej w dysertacji hipotezy badawczej zgodnie, z którą czasowo-przestrzenny wzór rozmieszczenia określonego komponentu

ściany komórkowej w komórkach inicjujących rozwój gametofitu żeńskiego jest markerem realizowanego sposobu rozmnażania oraz drugiej hipotezy badawczej zgodnie, z którą gatunki seksualne i apomiktyczne różnią się wzorem rozmieszczenia kalozy, pektyn i białek AGP w ścianach komórek żeńskiego szlaku płciowego oraz komórek inicjujących aposporowy i diplosporowy rozwój gametofitu żeńskiego.

Ocena merytoryczna

Streszczenia (w języku polskim i angielskim) zawierają krótkie wprowadzenie w problematykę badawczą, cel pracy i uzyskane wyniki i wystarczająco dokładnie odzwierciedlają treść pracy doktorskiej i załączonych publikacji.

Obszerne, piętnastostronicowe **Wprowadzenie** rozprawy to wstęp do tematyki podjętych badań prezentowanych w kolejnych rozdziałach pracy. Doktorantka w sposób wyczerpujący, z uwzględnieniem adekwatnej literatury fachowej, wprowadza czytelnika w zagadnienia teoretyczne, które związane są z tematem rozprawy, rozpoczynając od omówienia procesów reprodukcyjnych: seksualnych i apomiktycznych zachodzących w zalążkach roślin okrytozalążkowych, a następnie koncentruje się na znaczeniu apomiksji w hodowli roślin. W dalszej części tego rozdziału Autorka opisuje modelowe rodzaje do badań nad apomiksją w obrębie Asteraceae: *Hieracium*, *Pilosella* i *Taraxacum* oraz przedstawia współczesne kierunki badań nad tym procesem. Rozdział ten zamyka krótka charakterystyka składników ściany komórkowej w kontekście komunikacji międzykomórkowej. W mojej opinii w podrozdziale tym za duży nacisk położono na omówienie innych komponentów niż te, którym poświęcona jest niniejsza praca. Z analizy tej części pracy wynika, że Doktorantka wykazała się dużą wiedzą w dziedzinie, której dotyczy dysertacja, a tak skomponowany wstęp jest ciekawym i dobrze się czytającym wprowadzeniem do następnego krótkiego rozdziału obejmującego jasno nakreślone cele pracy.

Hipoteza badawcza i cel pracy to rozdział, w którym Autorka dysertacji postawiła ww. dwie hipotezy badawcze i sformułowała cel pracy badawczej, którym było poznanie rozmieszczenia kalozy, pektyn i białek AGP w ścianach komórek inicjujących generatywną, aposporową i diplosporową drogę rozmnażania w zalążkach wybranych seksualnych i apomiktycznych gatunków

Hieracium, *Pilosella* i *Taraxacum* z rodziny Asteraceae. Doktorantka wyznaczyła również trzy szczegółowe cele badań, których zrealizowanie pozwoliło na weryfikacje hipotez i sporządzenie publikacji.

W kolejnym rozdziale, **Materiały i metody**, Doktorantka scharakteryzowała wykorzystywany przez siebie materiał badawczy (siedem gatunków z rodzajów: *Hieracium*, *Pilosella* i *Taraxacum*), który został zebrany z określonych stanowisk. Autorka skompilowała bardzo przejrzyste dane dotyczące pochodzenia, stopnia ploidalności i sposobu rozmnażania badanych gatunków w postaci tabeli. Następnie Doktorantka opisała zastosowane w pracy metody badawcze użyte do analiz opisanych w artykułach, które są przedmiotem pracy doktorskiej. Dane te również zestawiała w tabeli. Metody są odpowiednie i wystarczające do realizacji celów pracy, odpowiednio opisane, analiza wyników jest odpowiednia.

Wyniki pracy to najobszerniejsza część rozprawy doktorskiej i liczy czterdzieści siedem stron. W rozdziale tym znajdują się kopie cyklu tematycznie powiązanych artykułów, które stanowią główną część pracy. Ze względu na fakt, że opublikowane prace zostały już poddane szczegółowej ocenie przez recenzentów będących specjalistami w danej dziedzinie, którzy uznali, że prace zasługują na udostępnienie. Recenzent może tylko dodać, że zdecydowanie zgadza się z taką decyzją. Badania stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej, które zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, stanowią istotny wkład w całościowe poznanie i opisanie procesów embriologicznych.

W pierwszej publikacji na podkreślenie zasługuje identyfikacja embriologicznego podłoża żeńskiej sterility w zalążkach dwóch cytotypów *Pilosella brzovecensis* (tetraploid i pentaploid). W ścianie komórkowej inicjału aposporowego obu cytotypów wykazano występowanie kalozy. Wynikiem zmian składu chemicznego ścian komórkowych inicjałów aposporowych jest przedwczesna terminacja aposporowej linii rozwoju i w efekcie sterylność zalążków. Jest to jednocześnie pierwsze tego typu opracowanie dotyczące badanego taksonu.

Druga publikacja przyczyniła się do otrzymania nowych danych odnośnie kalozy w młodych zalążkach wybranych seksualnych i diplosporowych gatunków Asteraceae. Wykazano, że kaloza jest markerem megasporocytów, które podejmują nie tylko płciowy, ale też diplosporowy

rozwój. Ważnym odkryciem była również zaobserwowana u diploidów *H. transylvanicum* i *P. pavichii* tendencja do rozmnażania apomiktycznego, które zwykle dotyczy form poliploidalnych.

Ostatnia, trzecia publikacja wchodząca w skład rozprawy doktorskiej przedstawia nowe fakty na temat wzoru rozmieszczenia nisko- i wysokoestryfikowanych pektyn i białek AGP w zalążkach podczas wczesnych procesów reprodukcyjnych u wybranych płciowych i apomiktycznych gatunków *Hieracium*, *Pilosella* i *Taraxacum* Asteraceae. Wyniki wskazują, że dynamicznie zmieniający się poziom metyloestryfikacji pektyn oraz charakterystyczna lokalizacja AGPs podczas rozwoju zalążków nie są specyficzne gatunkowo. Uzyskane rezultaty mogą także potwierdzać istnienie ogólnej tendencji rozwojowej w przestrzenno-czasowym rozmieszczeniu pektyn i AGPs w trakcie dojrzewania zalążków roślin okrytozalążkowych.

Wartość merytoryczną wyników prezentowanych w pracy oraz ich opis oceniam bardzo wysoko. Autorka pracy wykazała się wiedzą z zakresu embriologii, ale także umiejętnościami właściwej interpretacji swoich wyników zawartych w cyklu publikacji i porównuje je w przemyślany sposób z danymi uzyskanymi przez innych badaczy. Szkoda, że rozdział ten nie został w sensowny sposób podzielony na problemowo zdefiniowane podrozdziały.

Zwieńczeniem pracy jest rozdział **Podsumowanie i wnioski**. Ta część rozprawy została poprawnie sformułowana, potwierdzając osiągnięcie założonych celów szczegółowych i wiarygodną weryfikację hipotez badawczych. Rozdział ten został wzbogacony o ryciny, które idealnie przedstawiają podsumowanie wyników.

Rozdział **Literatura** to spis obejmujący 147 pozycji bibliograficznych, prawie wyłącznie anglojęzycznych. Są to zarówno prace nowe, jak i klasyczne opublikowane w renomowanych czasopismach. Dobór piśmiennictwa świadczy o tym, że Autorka bardzo dobrze orientuje się w zakresie interesującej ją problematyki badawczej.

W rozdziale **Finansowanie badań** umieszczono informacje o źródłach finansowania badań rozprawy doktorskiej.

W rozdziale **Załączniki** zostały umieszczone stosowne oświadczenia Doktorantki i współautorów publikacji o wkładzie jaki wnieśli w powstanie ww. publikacji.

Pani mgr Agnieszka Janas posiada znaczny dorobek naukowy. Oprócz trzech publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej jest współautorką 8 artykułów naukowych i 16 doniesień konferencyjnych. Była także trzykrotnie kierownikiem projektów młodych naukowców.

Nie mam zastrzeżeń do jakości wyników przedstawionych w rozprawie doktorskiej oraz sposobu ich interpretacji i udokumentowania. Pod względem edytorskim praca jest na bardzo wysokim poziomie – nie znalazłam błędów redakcyjnych, co świadczy o staranności Autorki w przygotowywaniu dysertacji.

Podczas publicznej obrony rozprawy chciałyby uzyskać odpowiedź Doktorantki na pytanie:

- dlaczego do badań immunocytochemicznych wybrano te konkretne przeciwciała: LM 19, LM 20 i JIM 13?

Podsumowując, rozprawę doktorską Pani mgr Agnieszki Janas oceniam bardzo dobrze. Praca jest naukowo ciekawa, uzyskane wyniki są wysokiej jakości i znacząco poszerzają wiedzę w zakresie badań embriologicznych roślin okrytozalążkowych. Trzy oryginalne prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, są rzetelnie przygotowane, zawierają jasno sprecyzowany cel, który został uzupełniony bardzo starannym opisem przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników oraz wnikliwą i dojrzałą dyskusją. Doktorantka wykazała się doskonałym przygotowaniem merytorycznym z zakresu tematyki prowadzonych badań oraz umiejętnościami w posługiwaniu się licznymi metodami na poziomie mikroskopii świetlnej. W związku z tym chciałabym serdecznie pogratulować Doktorantce oraz Pani Promotor Jej rozprawy. Uzyskane wyniki mogą stanowić rzetelną podstawę do dalszych badań genetycznych i molekularnych. Na podstawie analizy ocenianej dysertacji można sądzić, że Doktorantka zdobyła niezbędne doświadczenie oraz umiejętności, które są przydatne w przyszłej pracy badawczej. Na podkreślenie zasługuje także fakt, że Doktorantka w całym swoim dorobku naukowym posiada dwanaście publikacji.

Wniosek końcowy

W moim przekonaniu, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. „Histochemiczne aspekty formowania gametofitu żeńskiego u seksualnie i apomiktycznie rozmnażających się

gatunków z rodzaju *Hieracium*, *Pilosella* i *Taraxacum* (Asteraceae)” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wszystkie warunki – określone 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. zmianami) stawiane rozprawom doktorskim w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne. Na tej podstawie wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Janas do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, w uznaniu wartościowych, oryginalnych wyników, które zostały opublikowane w specjalistycznych międzynarodowych czasopismach naukowych, rekomenduję wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą.

Gdańsk, 4 sierpnia 2023 r.

Małgorzata Kozieradka-Kisieluska.....