



WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH

ZAKŁAD GENETYKI I FIZJOLOGII KOMÓRKI

ul. Kanonia 6/8
50-328 Wrocław

tel. +48 71 375 41 26 | +48 71 375 41 28
fax +48 71 343 41 18

www.uni.wroc.pl

Wrocław, 16 października 2024 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Stępień pt. „Zaburzenia inicjacji replikacji genomowego DNA jako czynnik regulujący długość życia drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w modelu chronologicznego i replikacyjnego starzenia”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Karoliny Stępień została wykonana pod kierunkiem promotora dr hab. Mateusza Mołonia, prof. UR w Instytucie Biologii w Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego. Praca jest związana z głównym nurtem badań realizowanym przez zespół kierowany przez dr hab. Mateusza Mołonia obejmującym badania skupiające się nad szeroko rozumianym zagadnieniem biogerontologii, wykorzystując w swych badaniach organizmy modelowe takie jak drożdże piekarnicze (*S. cerevisiae*), muszkę owocową (*D. melanogaster*) czy linie komórkowe.

W obliczu postępującego tempa starzenia się populacji na całym świecie, badanie długowieczności i starzenia się skupia coraz większą uwagę jako istotny priorytet społeczny. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), do 2050 r. liczba osób w wieku 60 lat i starszych może się podwoić, osiągając około 2 miliardy. Obserwowana zmiana demograficzna wymaga zrozumienia czynników, które przyczyniają się do długiego i zdrowego życia, nie tylko dla indywidualnego dobrostanu, ale także dla stabilności społeczno-ekonomicznej krajów. Stąd starzenie jako naturalny proces, który dotyczy wszystkich organizmów żywych, charakteryzujący się nagromadzeniem wewnątrzkomórkowych uszkodzeń, upośledzeniem funkcji tkanek i narządów oraz różnym tempem, jest przedmiotem badań wielu ośrodków. Próby poszukiwania, określenia genów długowieczności, czynników opóźniających proces starzenia są podstawą licznych hipotez i teorii tłumaczących przebieg oraz przyczyny tego procesu. Za jedne z kluczowych czynników starzenia wskazywane są uszkodzenia DNA powodujące jego zaburzenie integralności i/lub stabilności, wywołane przez różne czynniki egzo- i endogenne. Praca mgr Karoliny Stępień dotyczy badań nad wpływem zaburzeń na poziomie replikacji DNA na proces starzenia. Szczegółowo, mgr Karolina Stępień skupiła się nad etapem inicjacji replikacji analizując jak redukcja liczby kopii ponad 40 genów, których produkty zaangażowane są w proces regulacji i/lub inicjacji replikacji DNA, wpływa na starzenie się z wykorzystaniem jako eukariotyczny organizm modelowy komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Uważam, że wybór tego organizmu był bardzo trafny, ponieważ umożliwia badanie starzenia komórek aktywnych mitotycznie (model starzenia replikacyjnego, RLS) jak i w fazie post-mitotycznej (model starzenia chronologicznego, CLS). Replikacyjna długość życia u drożdży określa liczbę komórek potomnych,



które zdolna jest wytworzyć komórka macierzysta podczas jej życia i stała się modelem dla dzielących się komórek wyższych eukariontów, w tym ssaków. Natomiast badanie komórek drożdży w fazie stacjonarnej zdolnych do utrzymania żywotności może być dobrym modelem do badania czynników, które mogą wpływać na starzenie się postmitotycznych komórek organizmów wyższych. Dodatkowo znane i opisane są liczne czynniki, które wpływają na starzenie się drożdży. U drożdży *S. cerevisiae* poznano także szczegółowo proces inicjacji replikacji DNA, a opisane dane w znacznym stopniu są zgodne z tymi obserwowanymi w komórkach ludzkich.

Replikacja DNA to proces złożony, w którym dochodzi do powielenia informacji genetycznej przed podziałem komórki, przy udziale wielu kompleksów białkowych, tworzących replisom, działających w określonym miejscu i czasie. Proces ten jest wysoce konserwatywny u organizmów eukariotycznych. Dokładna i wierna replikacja DNA jest kluczowa dla rozwoju i zdrowia. Wszelkie zaburzenia tego procesu mogą prowadzić do niestabilności genetycznej np. z powodu nagromadzenia się mutacji punktowych lub wystąpienia rearanżacji chromosomów. U człowieka konsekwencją takich zaburzeń mogą być zwiększone ryzyko nowotworzenia lub choroby spowodowane zaburzeniami na etapie inicjacji replikacji, jak np. zespół Meiera-Gorlina, rodzinna głuchota spowodowana niedoborem MCM2 czy niedobór komórek NK, które powodują objawy kostne, oddechowe, moczowo-płciowe lub defekty immunologiczne.

Podjęta tematyka badań zatem jest istotna, aktualna i w pełni uzasadniona, gdyż dotyczy zrozumienia związku pomiędzy procesami inicjacji replikacji a starzeniem. Jest to także nowatorskie podejście, ponieważ niewiele jest danych na ten temat, a uzyskane wyniki mogą dostarczać przesłanek na proces starzenia także u innych, wielokomórkowych organizmów, w tym człowieka, ze względu na fakt, iż analizowane w pracy geny są wysoce konserwatywne.

Formalna ocena rozprawy

Formalna strona pracy nie budzi zastrzeżeń. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Karoliny Stępień składa się z cyklu 3 oryginalnych, tematycznie powiązanych, artykułów naukowych opublikowanych w 2022 i 2024 roku w renomowanych czasopismach z listy JCR (*Cells* (2022, IF 6,0), *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* (2024, IF 4,6) oraz *Biogerontology* (2024, IF 4,4) oraz polskojęzycznego opracowania. Wskazane publikacje znajdują się w wykazie MNiSW o wysokich odczynnikach oddziaływania (odpowiednio 140, 140 i 100 pkt.), należy także podkreślić, że choć artykuły są wieloautorskie (5-6), to mgr Karolina Stępień jest w nich pierwszą autorką. Na podstawie udostępnionych oświadczeń współautorów oraz Doktorantki, można wnioskować, że jej wkład w te artykuły jest znaczący, obejmuje: współtworzenie koncepcji badań, adaptację metod do oznaczeń, wykonanie znacznej części badań eksperymentalnych, częściową analizę wyników i przygotowanie części rycin, współudział w powstaniu manuskryptów oraz analizę bibliograficzną. Ponadto Doktorantka jest także współautorką 6 innych anglojęzycznych publikacji naukowych (z okresu 2020-2023 w czasopismach: *Biogerontology*, *Food&Function*, *Aging*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Cells*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *Scientific Report*) oraz kilku polskojęzycznych prac popularnonaukowych, nie zostały one ujęte w przedstawionej rozprawie, nie są bezpośrednio

związane z domeną pracy doktorskiej, natomiast tematycznie wpisują się w projekt pt.: Mechanizmy regulacji procesów wewnątrzkomórkowych determinujących proliferację, długość życia i homeostazę redoks w modelu drożdżowym realizowany w Instytucie Biologii pod kierunkiem dr hab. Renaty Zadrąg-Tęczy, prof. UR. Współdziałała Doktorantka w licznych zadaniach naukowych realizowanych w Instytucie Biologii UR, także we współpracy z badaczami z innych placówek krajowych, świadczą o niezwyklej pracowitości, zaangażowaniu i na pewno umiejętności pracy w zespole.

Praca mgr Karoliny Stępień została napisana w języku polskim, stylem naukowym, czyta się ją bardzo dobrze. Pozycje literaturowe w tekście zostały prawidłowo zacytowane, ich wybór nie budzi zastrzeżeń, są to w większości publikacje aktualne, z ostatnich kilkunastu lat. Rozprawa doktorska obejmuje rozdziały: streszczenie w języku polskim i abstrakt w języku angielskim, wprowadzenie, cel pracy, hipotezy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, literaturę, zbiór publikacji wchodzących w skład rozprawy oraz oświadczenia współautorów i Doktorantki o wkładzie w powstaniu wskazanych publikacji naukowych. Opracowanie polskojęzyczne liczy 94 strony, 38 rycin (z czego 35 stanowi dokumentację wynikową), 2 tabele i 139 cytowanych publikacji. Zabrakło mi Wykazu skrótów, w które praca obfituje, choć należy podkreślić, że wszystkie miały swoje rozwinięcia, kiedy pojawiały się po raz pierwszy w tekście dysertacji.

Edytorska ocena rozprawy

Recenzowana praca została przygotowana bardzo starannie. Praca jest przejrzysta, napisana z zastosowaniem odpowiedniej terminologii naukowej. Tekst uzupełniony został właściwymi, uważnie przygotowanymi rycinami. W zasadniczej części pracy znalazłam pojedyncze błędy edytorskie/redakcyjne. Natomiast niestety Doktorantka nie ustrzegła się błędów podczas formatowania spisu publikacji w rozdziale „Literatura” (np.: dowolność w zapisie numerów stron, rok w nawisie lub nie, symbol stron (p./pp. lub brak). Na Rycinie 15D brakuje w legendzie jednego z symboli dla określenie liczby >3, choć w oryginalnej Fig. 3D w publikacji Stępień i in., 2024, Biogerontology, jest obecny.

Ocena merytoryczna rozprawy

W pierwszym rozdziale rozprawy doktorskiej, w oparciu o dane literaturowe, Doktorantka opisała syntetycznie podstawowe informacje dotyczące charakterystyki procesu inicjacji replikacji DNA. Opisała przede wszystkim zdarzenia, które zachodzą w tym procesie w oparciu o wyniki uzyskane dla organizmu modelowego – drożdży *S. cerevisiae*. Skupiła się na opisanu zagadnień, które ściśle związane są z uzyskanymi i prezentowanymi w pracy wynikami. Szczególnie znalazło się wiele informacji dotyczących kompleksów białkowych zaangażowanych w inicjację replikacji DNA (m.in. kompleks rozpoznający miejsce inicjacji replikacji ORC, czynniki licencyjne, kompleks przedreplikacyjny (pre-RC), kompleks przedinicjacyjny (pre-IC), kompleks GINS, kompleks helikazy CMG oraz wskazując białka regulatorowe) umiejscawiając je w odpowiednich etapach tego procesu. Opisała także zalety drożdży *S. cerevisiae* jako organizmu modelowego w badaniach genetycznych, w tym procesu starzenia, ze względu na możliwość monitorowania tego procesu w modelach RLS, TLS i CLS. We Wstępie nie zabrakło także rozwinięcia definicji starzenia. Wiedza

w tym rozdziale przekazana jest w konkretny, zwięzły i klarowny sposób, wystarczający, by prawidłowo wprowadzić czytelnika do dalszej części dysertacji. Pod względem merytorycznym wprowadzenie napisane jest poprawnie i świadczy o znajomości zagadnień opisanych w pracy.

Cel pracy sformułowano jasno, jednoznacznie, jest zgodny z tematem rozprawy. Doktorantka wyznaczyła sobie 4 konkretne cele szczegółowe. Na wyróżnienie zasługuje wyraźne określenie, w odrębnym rozdziale, 4 hipotez badawczych. W swojej pracy Doktorantka skoncentrowała się na określeniu wpływu zaburzeń inicjacji replikacji DNA na starzenie heterozygotycznych szczepów drożdży (delecja wybranych genów jest letalna) zawierających mutacje genów kompleksów: ORC (*orc1-6Δ*), CMG (*cdc45Δ, mcm2-7Δ, psf1-3Δ, sld5Δ*) oraz lowPICC (niższa kontrola pre-IC) (*dbf4Δ, cdc6Δ, sld2Δ, sld3Δ, sld7Δ, mcm10Δ*) w modelach starzenia replikacyjnego i chronologicznego. Wyznaczyła sobie także cele szczegółowe w postaci: określenia poziomu transkryptów mRNA wybranych genów, wpływu zaburzeń inicjacji replikacji na: tempo wzrostu, częstotliwość sporulacji, aktywność metaboliczną, przejście przez cykl komórkowy, określenie częstości uszkodzeń DNA, zmiany w ilości DNA i mtDNA, skład biochemiczny komórki oraz fenotyp w warunkach stresowych.

W rozdziale materiały i metody (13 stron) zostały zestawione w tabeli wykorzystane bardzo liczne szczepy drożdżowe, a także startery używane w analizach RT-qPCR. Opisano także warunki hodowli, procedury eksperymentalne stosowane podczas realizacji prezentowanych badań. Liczba wykorzystanych protokołów i ich różnorodność świadczą o opanowaniu i swobodnym posługiwaniu się różnymi metodami biologii molekularnej, genetyki, analiz statystycznych przez mgr Karolinę Stępień. Dobór metod uważam za adekwatny do realizowanych zadań badawczych a ich opis nie budzi zastrzeżeń i umożliwi, w razie potrzeby, ich odtworzenie. Jednak tytuł doświadczenia 6.8 (Barwienie mitochondrialnego DNA za pomocą DAPI w teście *in vivo*) jest mało precyzyjny, ponieważ barwnik DAPI nie jest selektywnym barwnikiem tylko dla mtDNA. Warto podkreślić, iż w rozdziale tym Doktorantka opisała metody, dzięki którym uzyskano prezentowane w pracy wyniki, choć zgodnie z oświadczeniem część tych doświadczeń nie wykonała samodzielnie, np.: analizy cytometryczne, analizy RT-qPCR.

Rozdział „Wyniki”, w którym opisano uzyskane i opublikowane dane liczy 37 stron i został podzielony na 8 podrozdziałów, ich prezentacja tworzy logiczny ciąg. W każdym z podrozdziałów znalazły się: krótkie wprowadzenie teoretyczne poprzedzające części z danymi eksperymentalnymi, wyniki udokumentowane w postaci najczęściej wielocłonowych właściwie opisanych rycin w postaci: wykresów, fotografii, map cieplnych. Wartym pochwały są krótkie podsumowania i wnioski przypisane na końcu każdej części wynikowej. Wykonane doświadczenia zostały bardzo dobrze zaplanowane, podparte prawidłowymi kontrolami, liczba powtórzeń biologicznych i technicznych także nie budzi zastrzeżeń. Zastosowano odpowiednie programy statystyczne do analizy uzyskanych wyników. Warto podkreślić, że mimo, iż wszystkie z przedstawionych w dysertacji wyników zostały już opublikowane w artykułach współautorstwa mgr Karoliny Stępień, to w polskojęzycznym opracowaniu Doktorantka nie ujęła dokładnie

identycznych figur z publikacji, dokonała bowiem kompilacji wyników z cyklu 3 publikacji, grupując je według zadań badawczych.

W pierwszym podrozdziale Wyników Doktorantka skupiła się na analizie wpływu delekcji pojedynczej kopii genów biorących udział w inicjacji replikacji DNA na: tempo wzrostu, średni czas podwojenia komórek, częstotliwość sporulacji oraz aktywność metaboliczną. Wykorzystując heterozygotyczne szczepy drożdży piekarniczych, przy zastosowaniu różnych technik pomiarowych wykazała, iż delekcja wybranych genów prowadzi do spowolnienia wzrostu w porównaniu do wyjściowego szczepu referencyjnego. Pomiar częstotliwości sporulacji pokazały zmiany i zróżnicowanie (zmniejszenie, ale także podwyższenie) wydajności tego procesu. Nasuwa się więc pytanie z czego może wynikać poprawa wydajności sporulacji w przypadku zmniejszonej ekspresji niektórych analizowanych genów? Czy były wykonywane dodatkowe analizy w przypadku szczepu *MCM2/mcm2Δ*, dla którego odnotowano największy spadek wydajności sporulacji? Badania z barwnikiem fluorescencyjnym FUN-1 pozwoliły na porównanie aktywności metabolicznej wybranych mutantów ze szczepem wyjściowym uwidaczniając w zasadzie brak znaczących różnic. Analizy przejścia przez cykl komórkowy, z wykorzystaniem techniki cytometrii przepływowej, ukazały: wydłużenie fazy G1 i zwiększenie liczby komórek zatrzymanych w fazie G2 dla szczepów z grupy mutantów *ORC*, podobnie, ale nieco słabiej i z częściowym zróżnicowaniem, w obrębie grupy mutantów kompleksu helikazy *CMG*, a najmniejszy efekt na cykl komórkowy, ale jednocześnie bardziej zróżnicowany w obrębie grupy, dla mutantów grupy *lowPICC*. Przesłanki o zmianach w zawartości DNA zaobserwowane w obrębie szczepów *lowPICC* zostały dodatkowo zweryfikowane poprzez analizy zawartości mtDNA ukazując, ponownie, zróżnicowanie w obrębie grupy od wzrostu po spadek, w porównaniu do szczepu referencyjnego, ale dostrzeżono także zależność pomiędzy szczepami o najniższej zawartości DNA, ponieważ zawierały one odpowiednio także mniej mtDNA. Ta analiza rodzi pytanie czy można dostrzec jakąś korelację np. pomiędzy wzrostem zawartości mtDNA a aktywnością metaboliczną szczepów w obrębie tej grupy? Zastosowanie techniki RT-qPCR pozwoliło przeanalizować profile ekspresji wybranych genów w badanych heterozygotycznych szczepach ujawniając znaczące obniżenie (w większości nawet o 50%) ekspresji genów we wszystkich grupach. Z kolei, aby zweryfikować hipotezę, czy zmniejszona zawartość białek *ORC* i *lowPICC* może przyczyniać się do wzrostu ilości uszkodzeń DNA w warunkach stresu oksydacyjnego i genotoksycznego, przeanalizowano liczbę skupisk fuzyjnych, fluorescencyjnych białek markerowych Rad52-YFP oraz Rfa1-YFP w komórkach heterozygotycznych szczepów drożdży obu tych grup. Zaobserwowano zmienne fenotypy, albo nieznaczne obniżenie lub podwyższenie liczby ognisk Rad52-YFP. Ciekawą obserwacją jest wykrycie zwiększonej liczby komórek z więcej niż 3 skupiskami Rfa1-YFP na komórkę we wszystkich szczepach grupy *lowPICC*, czy Doktorantka ma jakąś hipotezę tłumaczącą ten wynik? Następnie eksperymentalnie przeanalizowano wpływ układu heterozygotycznych *loci* na starzenie w komórkach drożdży aktywnych mitotycznie oraz postmitotycznych. Co ciekawe wykryto, że zmniejszenie ekspresji wybranych genów z klasy *ORC* i *CMG* wpływa na zwiększenie nie tylko potencjału reprodukcyjnego, ale także długości życia reprodukcyjnego (z wyjątkiem 2 szczepów)

w porównaniu do szczepu referencyjnego, ale skrócenie życia po reprodukcji oraz nieznaczne skrócenie całkowitej długości życia w postaci ujemnej korelacji w stosunku do potencjału reprodukcyjnego. W przypadku oceny tempa starzenia się komórek post-mitotycznych Doktorantka zastosowała 2 podejścia, które pozwoliły na wyciągnięcie wniosku, iż heterozygoty kompleksu ORC, CMG i lowPICC charakteryzują się opóźnionym starzeniem. Dodatkowo podczas analiz CLS bardzo ciekawym zaobserwowanym fenotypem dla badanych heterozygotycznych szczepów okazały się zwiększenie wielkości komórek oraz redukcja zawartości DNA (haploidyzacja komórek). Podobnie interesujące wyniki uzyskano dla badanych szczepów wykorzystując spektroskopię Ramana, która pozwala na określenie tzw. biochemicznego odcisku palca. Wykazały one, że obniżenie kopii białek kompleksów inicjacji replikacji (ORC, CMG, regulujących lowPICC) wpływa na skład biochemiczny komórek w zakresie: polisacharydów, białek, lipidów i kwasów nukleinowych oraz że czasem można zauważyć pewne korelacje pomiędzy tymi składnikami a innymi cechami fenotypowymi testowanych szczepów. Uzyskane obserwacje dla komórek drożdży sugerują, iż można wykorzystać badania widm Ramana jako szybki test do oceny kondycji/momentu w odniesieniu do procesu starzenia się też innych organizmów, a także np.: poszukiwania organizmów czy czynników warunkujących długowieczność. Jedyna uwaga jaka mi się nasunęła dla tej części Wyników, to iż skale długości fali na Ryc. 28-30 są różne, co nieco utrudnia porównanie wyników dla 3 grup szczepów. W ostatniej części Wyników Doktorantka przedstawiła wyniki testów fenotypowych dla analizowanych heterozygotycznych szczepów drożdży w obecności czynników, które wywoływały stres: ściany komórkowej, oksydacyjny, osmotyczny, genotoksyczny, cieplny co pozwoliło na stwierdzenie, iż obniżenie poziomu białek zaangażowanych w inicjację replikacji ma wpływ na odpowiedź komórki na warunki stresu środowiskowego w zróżnicowanym stopniu w zależności od szczepu.

W kolejnym rozdziale pojawiła się Dyskusja (liczy 11 stron), która jest bardzo dobrym podsumowaniem uzyskanych danych oraz wnikliwym odniesieniem ich do aktualnych źródeł literaturowych. Dyskusja jest dojrzała, prowadzona logicznie, z dużą ostrożnością. Stawiane wnioski są wyważone. Na plus zasługuje krytyczne spojrzenie na wyniki i jednocześnie zaproponowanie kolejnych badań w celu potwierdzenia lub wykluczenia stawianych przez Doktorantkę nowych hipotez.

Pracę kończy rozdział Wnioski z 7 właściwie sformułowanymi konkluzjami zgodnie z założonymi celami pracy.

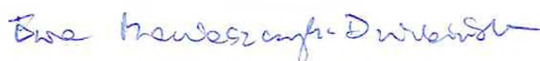
Kilka dodatkowych spostrzeżeń, pytań pojawiło się po lekturze dysertacji i prosiłabym o ich wyjaśnienie podczas obrony:

- Czy można zauważyć jakąś zależność pomiędzy szczepami z grupy lowPICC o zmniejszonej zawartości DNA (*SLD7/sld7Δ*, *MCM10/mcm10Δ*) a liczbą foci Rfa1-YFP, jeśli założylibyśmy, że pojawia się tam więcej 1-niciowych fragmentów DNA?
- Proszę zaproponować, w jaki inny sposób, niż określenie liczby foci Rad52-YFP, można sprawdzić czy w analizowanych szczepach (np. *SLD3/sld3Δ*) powstają 2-niciowe pęknięcia DNA?

- Jak wytłumaczyć wzrost liczby skupisk Rfa1-YFP w niektórych heterozygotycznych szczepach z grupy lowPICC w obecności zeocyny?
- Czy można zaobserwować związek pomiędzy poziomem mtDNA a liczbą uszkodzeń DNA w analizowanych w pracy szczepach?
- Ze względu na obserwację fenotypu oporności na inhibitory ściany komórkowej testowanych szczepów czy są przesłanki/dane/lub wykonano doświadczenia, które pokazałyby czy dochodzi do zmian w poziomie białek ściany komórkowej?
- Czy były podejmowane próby sprawdzenia parametrów aktywności biologicznej dla komórek post-reprodukcyjnych badanych szczepów heterozygotycznych?
- W jaki sposób można eksperymentalnie wykazać, że obecność domeny AAA+ może odpowiadać za fenotyp spowolnionego wzrostu u wybranych szczepów grupy ORC?

Podsumowując, nie mam krytycznych uwag do recenzowanej dysertacji, uważam, że praca mgr Karoliny Stępień ma wysoką wartość naukową. Doktorantka prawidłowo zaplanowała i wykonała badania, wyniki poddała właściwej analizie, wyciągnęła logiczne wnioski, uzyskane dane po recenzjach ekspertów zostały opublikowane a zatem rozwiązała problem naukowy w sposób oryginalny, dzięki czemu spełnia ustawowy warunek stawiany pracom doktorskim. Recenzowana rozprawa doktorska dowodzi, że Pani mgr Karolina Stępień jest w pełni ukształtowaną badaczką, o szerokiej wiedzy i umiejętnościach, zdolną do samodzielnej pracy naukowej.

Reasumując uważam, że recenzowana praca doktorska odpowiada wszystkim ustawowym wymogom stawianym rozprawom doktorskim określonym w art. 14 ust.2 pkt. 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003, Nr 65 poz. 595 z późn. Zm.). Na tej podstawie składam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie mgr Karoliny Stępień do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu dużą wartość poznawczą oraz opublikowanie wszystkich wyników tworzących podstawę tej dysertacji, wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Stępień.



dr hab. Ewa Maciaszczyk-Dziubińska, prof. UW

