



L. dz.

Kraków, 2021-07-27

Prof. dr hab. Ewa Niewiadomska
Instytut Fizjologii Roślin
im. Franciszka Górskiego PAN w Krakowie

Recenzja

Osiągnięć dr inż. Weroniki Czarnockiej w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie Nauki Biologiczne

wykonana za zlecenie prof. dr hab. Agnieszki Gniazdowskiej-Piekarskiej, Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 24 czerwca 2021 roku (Uchwała nr 18/HAB/06/2021/710000). Recenzję przygotowano w oparciu o przesłane dokumenty i materiały: autoreferat i wykaz osiągnięć naukowych, a także najważniejsze publikacje Kandydatki będące w ogólnym dostępie.

1. Najważniejsze fakty z życiorysu zawodowego Kandydatki

Dr Inż. Weronika Czarnocka (Wituszyńska) ukończyła studia na Uniwersytecie Przyrodniczym im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu i w roku 2009 uzyskała tytuł magistra inżyniera biotechnologii. Badania w ramach pracy doktorskiej wykonała w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Wydziału Rolnictwa i Biologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem prof. dr Stanisława Karpińskiego. W roku 2013 uzyskała stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia, nadany uchwałą Rady Naukowej Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, na podstawie rozprawy pt. „Genetyczne oraz molekularne mechanizmy kontrolujące programowaną śmierć komórki oraz przystosowanie roślin w odpowiedzi na stresy abiotyczne” a jej praca doktorska uzyskała wyróżnienie.

Pracę zawodową rozpoczęła w 2013 roku jako asystent w Katedrze Botaniki Wydziału Rolnictwa i Biologii (od 2020 Instytut Biologii) SGGW, a od 2015 roku - jako adiunkt. Swoje kwalifikacje zawodowe dr inż. Weronika Czarnocka podnosiła odbywając liczne (17) dotyczące m.in. nowoczesnych technik molekularnych i analizy generowanych przez nie danych, wykorzystania programów bioinformatycznych, statystycznych i innych, a także indywidualnego rozwoju naukowca. Obecnie jest studentką leaderskich studiów podyplomowych w Akademii Leona Koźmińskiego w Warszawie.

2. Charakterystyka i ocena osiągnięcia naukowego wymienionego w Art. 16 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz pozostałego dorobku naukowego (znowelizowanej w 2016 roku) oraz pozostałego dorobku naukowego.

a) Ocena osiągnięcia naukowego w postaci monotematycznego cyklu publikacji pt. „Wpływ percepcji światła i szlaku przekazywania sygnału zależnego od LSD1 na rozwój roślin i ich odporność na czynniki środowiskowe”

Przedstawione osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego stanowi spójny tematycznie cykl 8-miu publikacji naukowych (opublikowanych w latach 2015-2021) ukierunkowany na wyjaśnienie roli wybranych białek w procesach obronnych komórek roślinnych w niekorzystnych warunkach środowiskowych. Wszystkie z wymienionych prac zostały opublikowane w czasopismach posiadających tzw. impact factor, Zdecydowana większość z nich to czasopisma o wysokiej randze naukowej (Free Radical Biology and Medicine, Frontiers in Plant Science, Journal of Experimental Botany, Cells, Plant Cell and Environment), a pozostałe 2 można zaliczyć do grupy o średniej randze naukowej (Plants-Basel, Journal of Plant Physiology). Dwie z tych publikacji to prace przeglądowe a 6 - to oryginalne prace badawcze. Sumaryczny IF tych publikacji jest bardzo wysoki i wynosi 35,469. Analogicznie, suma punktów MNiSW dla tych publikacji jest bardzo wysoka i wynosi 615.

Wszystkie wymienione publikacje są opracowaniami wielo-autorskimi z wyjątkiem publikacji nr 1, która ma 2 autorów. W 4 publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem, a w 4 – drugim (w tym w 1-nej ma równy wkład jak pierwszy autor). Wprawdzie jest autorem wiodącym (korespondencyjnym) jedynie w 2 z tych publikacji, to na podstawie zamieszczonych opisów oceniam, że w większości z pozostałych prac nich pełniła rolę znaczącą. Rola ta typowo polegała na uczestnictwie w formułowaniu hipotez (4 publikacje), planowaniu eksperymentów (4 publikacje), wykonywaniu części eksperymentów, w tym większości wyrafinowanych analiz molekularnych (4 publikacje), wykonaniu rycin (4 publikacje), oraz w pisaniu (5 publikacji).

Poniżej wypunktowałam najważniejsze elementy osiągnięcia naukowego Habilitantki wraz z ich skrótowym opisem:

a/ Wyjaśnienie roli białka LSD1 (LESION SIMULATING DISEASE1) jako partnera innych białek i regulatora transkrypcji. Białko to zostało wcześniej rozpoznane jako regulator śmierci komórek, a z uwagi na posiadane domeny palca cynkowego można było domniemywać o jego możliwych interakcjach tego białka z DNA/RNA i/lub z innymi białkami. W publikacji oryginalnej nr 7, na postawie wnikliwej analizy eksperymentalnej z wykorzystaniem nowoczesnych metod badawczych (wykorzystania białka fuzyjnego LSD1-GFP, bimolekularnej komplementacji fluorescencji) wykazano tworzenie homodimerów i podwójną lokalizacją komórkową białka LSD1 (w cytoplazmie i w jądrze komórkowym), a także jego interakcję z białkiem EDS1 (ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY1). Rozpoznano także dalsze białka wchodzące w interakcję z LSD1 (metoda Tandem Affinity Purification) i wskazano, że interakcje te zależą od stanu redokсового komórki. W dalszym etapie badań, wykorzystując wyrafinowany model eksperymentalny (wyzwalaną deksametazonem translokację LSD1 do jądra komórkowego, immunoprecypitację chromatyny i ilościowy PCR) zidentyfikowano geny o ekspresji regulowanej przez LSD1. Co więcej, wykryto także zmiany ekspresji zależne od warunków hodowli roślin. Podsumowując, te wszystkie odkrycia w sposób jednoznaczny opisują molekularny mechanizm działania białka LSD1.

b/ Rozpoznanie roli białka FMO1 w przekazywaniu sygnału nadmiernej energii wzbudzenia anten fotosyntetycznych oraz w procesach systemicznie nabywanej aklimatyzacji i odporności z udziałem reaktywnych form tlenu. Gen *FMO1* rozpoznano we wcześniejszych badaniach Habilitantki jako ulegający silnej ekspresji w mutantach *lsd1*, a inne doniesienia literaturowe wskazywały na jego udział w odpowiedzi roślin na stres biotyczny. W publikacji nr 8 udowodniono, że ekspresja genu *FMO1* jest silnie stymulowana także w warunkach stresu abiotycznego (lokalny nadmiar światła). W systemie eksperymentalnym wykorzystującym zestaw mutantów (*lsd1*, *fmo1* i *lsd1/fmo1*) wykazano także, że białko FMO1 odgrywa ważną rolę w rozprzestrzenianiu się sygnałów stresowych z udziałem RFT i jest zaangażowane w szlak sygnałny zależny od LSD1, który zmienia wzór ekspresji genów w liściach systemicznych. W kolejnym etapie badań, na podstawie analizy powstawania mikrouszkodzeń w liściach poddanych działaniu silnego światła i systemicznych, wykryto, że białko FMO1 jest pozytywnym regulatorem szlaku sygnałnego prowadzącego do śmierci komórek i pozostaje pod negatywną kontrolą białka LSD1. Podsumowując tę część badań, kierowany przez Habilitantkę zespół naukowy w sposób nowatorski scharakteryzował rolę białka FMO1 umiejscawiając je w szlaku sygnałnym zależnym od LSD1.

c/ Wykazanie roli białka EDS1 w procesach wzrostowych topoli oraz omówienie wysokiego potencjału biotechnologicznego wybranych białek stresowych. Biorąc za punkt wyjścia rozpoznaną wcześniej rolę białek LSD1, EDS1 i PAD4 (PHYTOALEXIN DEFICIENT4) w kształtowaniu odporności na stres i wykorzystując rośliny topoli z wyciszoną ekspresją genu *EDS1*, w publikacji nr 6 udokumentowano, że białko EDS1 pełni istotną funkcję w regulacji wzrostu i w tworzeniu pędów bocznych. Stwierdzono także, że EDS1 wpływa negatywnie na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego, natomiast promuje akumulację kwasu salicylowego, starzenie liści i aktywność enzymów antyutleniaczy (SOD i CAT). Opisywane zmiany dotyczące wzrostu i fotosyntezy wydają się być zatem związane z modulacją poziomu H_2O_2 i kwasu salicylowego. Przeprowadzona analiza transkryptomyczna ujawniła zmiany ekspresji wielu genów zaangażowanych w regulację rozwoju oraz homeostazę RFT i hormonów (w tym zwłaszcza auksyn i cytokinin). Takie spektrum działania białka EDS1, dotyczące wzrostu, wydajności fotosyntezy i tempa starzenia liści, ilustruje duży potencjał aplikacyjny manipulacji genetycznych dotyczących poziomu współdziałających ze sobą białek EDS1, LSD1 i PAD4, co opisano w artykule przeglądowym nr 5.

d/ Scharakteryzowanie roli fototropin, fitochromów i niereceptorowego białka JAC1 (*J-DOMAIN PROTEIN REQUIRED FOR CHLOROPLAST ACCUMULATION RESPONSE1*) w regulacji fotosyntezy i aklimatyzacji roślin do stresu nadmiaru światła. Dobrze poznana rola receptorów światła niebieskiego, czerwonego i dalekiej czerwieni (fototropiny i fitochromów) oraz białka JAC1 jest sterowanie ruchem chloroplastów w celu optymalizacji wzbudzenia anten fotosyntetycznych, jednakże jak dotąd nie opisano bezpośredniego związku pomiędzy metabolizmem chloroplastowym a regulatorami ruchu tych organelli. Takich informacji dostarczają badania przedstawione w cyklu publikacji oryginalnych nr 2, 3 i 4. W publikacji nr 2 wykazano, że białko JAC1 jest negatywnym regulatorem fotosyntezy, o czym świadczy m.in. wzrost zawartości chlorofilu, akumulacja otwartych centrów reakcji PSII, oraz intensyfikacja asymilacji CO_2 i przewodnictwa szparkowego u mutantu *jac1* w porównaniu do roślin typu dzikiego. Natomiast fototropiny mają działanie przeciwstawne, czego przejawem jest m.in. spadek zawartości chlorofilu, zmniejszenie proporcji otwartych centrów reakcji PSII, i redukcja gęstości szparek w mutantach *phot2* i *phot1/phot2* porównaniu do typu dzikiego (publikacja nr 3). W systemie eksperymentalnym wykorzystującym mutanty fitochromowe (*phyA*, *phyB* i *phyA/phyB*) udokumentowano promowanie aktywności fotosyntetycznej przez fitochromy. To promujące działanie dotyczyło zawartości chlorofilu i fotoprotekcyjnego β -karotenu, asymilacji CO_2 i przewodnictwa szparkowego (publikacja nr 4). Ponadto, w opisywanej serii publikacji pozytywnie zweryfikowano nowatorską hipotezę zakładającą, że regulatory ruchu chloroplastów (fototropiny, fitochromy i JAC1) uczestniczą w

regulacji śmierci komórki i odpowiedzi aklimatyzacyjnej roślin na stres oksydacyjny. Świadczy o tym modulacja aktywności enzymów antyutleniaczy i poziomu H_2O_2 w ich mutantach, a także intensyfikacja procesu śmierci komórek w następstwie stresu spowodowanego promieniowaniem UV.

e/ Wnikliwe i oryginalne podsumowanie obecnego stanu wiedzy na temat generacji i usuwania reaktywnych form tlenu, a także udziału tych substancji w procesach sygnałnych związanych zarówno z promowaniem śmierci komórek w wyniku stresu jak i z nabywaniem odporności tkanek na stres droga systemiczną. Takie podsumowanie (publikacja przeglądowa nr 1), opisujące także najnowsze odkrycia dotyczące roli białek LSD1, EDS1 i PAD4, jest szczególnie cenne z uwagi na własne odkrycia naukowe wysokiej rangi jak i duże doświadczenie naukowe Habilitantki.

Uogólniając, pragnę podkreślić bardzo wysoki poziom naukowy badań przeprowadzonych przez Habilitantkę, a także konsekwencję tematyczną. Doprowadziła ona do charakterystyki molekularnej stresowego szlaku sygnałnego, zachodzącego z udziałem RFT, prowadzącego do śmierci jednych komórek i do aklimatyzacji innych. Duża liczba publikacji przy zasadniczym wkładzie Pani dr inż. Weroniki Czarnockiej w ich powstanie ilustruje Jej zdecydowanie ponad-przeciętny dorobek naukowy. Warto także zauważyć fakt, iż 5/8 z prezentowanych artykułów powstało we współpracy międzynarodowej z badaczami z wiodących ośrodków naukowych oraz wysoką liczbę cytacji, odzwierciedla światowy poziom tych badań. Podsumowując tę część recenzji, przedłożone do oceny osiągnięcie naukowe oceniam bardzo pozytywnie gdyż wnosi ono duży wkład w literaturę tematu i stanowi doskonałą podstawę do dalszego postępowania habilitacyjnego.

b) Charakterystyka i ocena pozostałego opublikowanego dorobku naukowego

Dorobek naukowy Pani dr inż. Weroniki Czarnockiej, z wyłączeniem osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę wniosku o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego, składa się z 11 publikacji naukowych z bazy JCR oraz z 3 rozdziałów w monografiach naukowych (2 po uzyskaniu stopnia doktora). Wartość naukowa publikacji składających się na opisany powyżej pozostały dorobek naukowy jest wysoka. Sumaryczny IF dla tych publikacji wynosi 79,049, a średni impakt wynosi 3,96 (IF w zakresie 2,869 – 6,169). Oceniając pozycję Habilitantki w tych publikacjach: w 1 występuje jako 1-szy autor, w 5 jako 2-gi. Zaznacza się także jej rola jako autora wiodącego (3 publikacje).

Problematyka tych prac obejmuje następujące zagadnienia:

1/ Rola białek LSD1, EDS1 i PAD4 w szlaku sygnałnym indukującego śmierć komórek na przykładzie rośliny zielnej *Arabidopsis thaliana* oraz drzewa *Populus tremula* × *tremuloides*. W tym aspekcie opisano szereg nowych cech regulowanych przez w/w białka takich jak: tolerancja na suszę, właściwości ściany komórkowej, przyrost biomasy i plon nasion. Stwierdzono, że białka te współdziałają z kwasem salicylowym i H_2O_2 . Ponadto badania z wykorzystaniem modelu roślinnego z wprowadzonym białkiem Bax z myszy wykazały pewne wspólne cechy organizmów roślinnych i zwierzęcych w regulacji śmierci komórek.

2/ Charakterystyka zmian w transkryptomie wierzchołków korzeni *Medicago* i *Lotus* ze szczególnym uwzględnieniem genów PIN. W tych badaniach analizowano relacje symbiotyczne korzeni z bakteriami brodawkowymi i grzybami mikoryzowymi, oraz ich związek z odpornością na suszę i stres wywołany jonami glinu.

3/ Efekty fizjologiczne wywoływane infekcją nicieniem *Heterodera*. W tych badaniach na przykładzie rzodkiewnika pospolitego opisano szereg zmian w homeostazie RFT, rozwój funkcjonalnego Syncytium zależny od ekspresji genów γ -tubuliny, oraz zmiany dotyczące procesu fotosyntezy.

4/ Rola kinazy 4 aktywowanej mitogenem (MPK4) w regulacji gospodarki wodnej i struktury naczyń ksylemu u topoli. W tych badaniach wykazano, że kinaza MAPK4 reguluje lignifikację naczyń ksylemu i grubienie ścian komórkowych, a także kontroluje wzrost i fotosyntezę poprzez modulację homeostazy hormonów i RFT. Co więcej, MAPK4 wydaje się regulować transpirację poprawiając wydajność wykorzystania wody.

Wyniki prac Habilitantki mają duże znaczenie poznawcze, związane z rozpoznaniem mechanizmu działania wybranych białek regulatorowych determinujących odporność roślin na niekorzystne warunki środowiskowe. Mają także duży potencjał aplikacyjny, związany z regulacją przyrostu biomasy i struktury drewna, a także z intensyfikacją pobierania azotu atmosferycznego. Śledząc wkład Habilitantki w powstanie opisywanych prac łatwo zauważyć, iż jest ona uznanym ekspertem w aspekcie analizy transkryptomu i nowoczesnych metod inżynierii genetycznej. Opisywany w tej części recenzji dorobek naukowy oceniam zatem bardzo pozytywnie.

3. Aktywność badawcza, współpraca naukowa, dorobek dydaktyczny i popularyzatorski Kandydatki

Po uzyskaniu stopnia doktora dr inż. Weronika Czarnocka wzięła udział w 12 konferencjach, na których prezentowała wyniki swoich badań w formie 16 posterów, w tej liczbie 15 zaprezentowano na konferencjach międzynarodowych (z tego 5 w kraju) i 1 na konferencji krajowej. Wygłosiła także 1 wykład na zaproszenie na międzynarodowej konferencji w Monachium „14th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants” (2019). Uczestniczyła także w Komitecie organizacyjnym konferencji krajowej.

Habilitantka aktywnie uczestniczy w realizacji projektów krajowych i międzynarodowych. Do tej pory uczestniczyła w 3 zakończonych projektach badawczych (w tym 2 po uzyskaniu stopnia doktora). W projekcie MNiSW Iuventus plus pełniła rolę kierownika, a w projektach NCBiR WOODTECH oraz FNP Welcome – wykonawcy. Aktualnie uczestniczy w realizacji 2 projektów badawczych: w projekcie NCN Miniatura – jako kierownik, a w projekcie NCN Maestro – jako wykonawca.

Jako stypendystka brała udział w realizacji 2 programów europejskich: 1/ w projekcie finansowanym w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki Europejskiego Funduszu Społecznego przyznany SGGW w Warszawie oraz 2/ w projekcie finansowanym ze środków 7 Programu Ramowego EU przyznany prof. dr hab. Zbigniewowi Dąbrowskiemu.

Podczas studiów magisterskich Kandydatka odbyła 3-miesięczny staż naukowy w Institut für Humangenetik w Lipsku (Niemcy), a w trakcie doktoratu odbyła 9-miesięczny staż badawczy w Department of Plant Systems Biology, Flanders Institute for Biotechnology (VIB) w Gandawie (Belgia), w grupie badawczej Prof. Franka Van Breusegema. W okresie po doktoracie, realizując własny projekt badawczy, odbyła 3-miesięczny staż naukowy w Max-Planck Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie w Poczdamie (Niemcy), w grupie badawczej Prof Berndta Mueller-Roebera.

Pani Dr inż. Weronika Czarnocka aktywnie uczestniczy w recenzowaniu artykułów naukowych (24 recenzje) oraz grantów jako ekspert w europejskiej Agencji Wykonawczej ds. Badań Naukowych (programy Horyzont 2020 i Horyzont Europa) i ekspert w Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (program SKILLS). Była redaktorem zeszytu tematycznego w czasopiśmie Cells i ma na swym

konczie wykonanie ulotki informacyjnej na temat cynii dla wydawnictwa ITEM Publishing. Jest także współautorką 1 zgłoszenia patentowego.

W związku z zatrudnieniem na Uczelni od 2013 r. Pani Dr inż. Weronika Czarnocka prowadzi intensywną działalność dydaktyczną. Do tej pory prowadziła zajęcia w formie ćwiczeń i wykładów dla studentów kierunków: Biologia, Biotechnologia, Inżynieria Ekologiczna, Rolnictwo oraz prowadzonego w języku angielskim – Organic Agriculture and Food Production (wykłady i ćwiczenia). Prowadzi także wykłady w ramach fakultatywnego przedmiotu „Nowe trendy w fizjologii roślin”. Ponadto, współtworzyła program studiów podyplomowych „Przyroda i biologia” skierowany dla nauczycieli szkół podstawowych. Aktywnie uczestniczyła także w popularyzacji nauki poprzez przygotowanie programu i udział w zajęciach „Uniwersytet Dzieci”.

Habilitantka dwukrotnie była promotorem prac magisterskich i dwukrotnie pełniła funkcję promotora pomocniczego w przewodach doktorskich – mgr Izabeli Sańko-Sawczenko oraz mgr Macieja Bernackiego.

Działalność naukową Pani Dr inż. Weroniki Czarnockiej oceniam jako doskonałą. Obok ponadprzeciętnie wysokich współczynników bibliometrycznych, dobrą ilustracją wysokiego poziomu naukowego Habilitantki są liczne nagrody. W okresie przed doktoratem uzyskała 1-szą nagrodę za prezentację posterową na konferencji krajowej. Wysoka jakość naukowa rozprawy doktorskiej została doceniona wyróżnieniem przez Prezesa PAN. Zdobyła pierwszą nagrodę dla Młodych Pracowników Nauki przyznana przez Polskie Towarzystwo Botaniczne (2016). Uzyskała 3 prestiżowe stypendia: stypendium START Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, międzynarodowe stypendium konferencyjne na spotkanie z laureatami Nagrody Nobla, oraz Stypendium naukowe dla wybitnych młodych naukowców MNiSW. Trzykrotnie uzyskała dyplom uznania Rektora SGGW za wyróżniające osiągnięcia naukowe (w latach 2014, 2016 i 2018) oraz zdobyła 2 nagrody Rektora SGGW za wyróżniające osiągnięcia naukowe - indywidualną III stopnia (2019) i zespołową I stopnia (2020).

Podsumowując tę część recenzji mogę stwierdzić, że Dr inż. Weronika Czarnocka prowadzi szeroką działalność naukową, jest doceniana przez różnorodne gremia naukowe w kraju i zagranicą i jest dobrze przygotowana do samodzielnej pracy badawczej.

Wniosek końcowy

Na podstawie analizy osiągnięcia naukowego, przedstawionego w formie cyklu publikacji powiązanych tematycznie, pozostałego dorobku naukowego, a także aktywności badawczej, współpracy międzynarodowej, oraz osiągnięć dydaktycznych i popularyzatorskich, stwierdzam, że Pani dr inż. Weronika Czarnocka spełnia wymogi stawiane Kandydatom ubiegającym się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego wynikające z art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne SGGW w Warszawie o nadanie Pani dr. inż. Weronice Czarnockiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie Nauki Biologiczne.

Ewa Niewiadek