



WYDZIAŁ BIOCHEMII, BIOFIZYKI I BIOTECHNOLOGII

Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin

**Ocena osiągnięcia naukowego, pozostałej aktywności naukowej
oraz działalności dydaktycznej i organizacyjnej**

dr inż. Weroniki Krystyny Czarnockiej

**Ocena osiągnięcia naukowego będącego postawą ubiegania się o stopień doktora
habilitowanego**

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe pt. 'Wpływ percepcji światła i szlaku przekazywania sygnału zależnego od LSD1 na rozwój roślin i ich odporność na czynniki środowiskowe' stanowi cykl ośmiu powiązanych tematycznie (6 oryginalnych i 2 przeglądowych) prac naukowych. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach o międzynarodowym zasięgu, notowanych w bazie JCR, z reguły o wysokim współczynniku oddziaływania i szereg z nich posiada już wiele cytacji. Do najwyższej notowanych czasopism należą *Journal of Experimental Botany* (IF = 5,667), *Free Radical Biology and Medicine* (IF = 5,656), *Plant, Cell and Environment* (IF = 5,415) oraz *Frontiers in Plant Science* (IF = 4,402).

W czterech z publikacji wchodzących w skład dzieła, habilitantka jest pierwszym autorem, w czterech kolejnych drugim autorem oraz w dwóch jest autorem korespondencyjnym. Swoją udział w tych pracach habilitantka szczegółowo określiła w odpowiednich załącznikach wraz z udziałem współautorów. Sumaryczny IF wymienionych publikacji wynosi ponad 35 (615 punktów MNiSW), co wskazuje na wysoką wartość naukową opublikowanych wyników.

W 3 kolejnych pracach dzieła (P2, P3, P4) dr Czarnocka wykazała, że fototropiny, fitochromy i białko JAC1 odgrywają ważną rolę w regulacji śmierci komórki i odpowiedzi aklimatyzacyjnej roślin na nadmierną energię wzbudzenia. Wyniki jej badań po raz pierwszy pokazały, że białko JAC1 negatywnie wpływa na intensywność fotosyntezy i zawartość barwników fotosyntetycznych. Ponadto habilitantka udowodniła, że JAC1 negatywnie wpływa na intensywność pobierania CO₂ przez roślinę. Podwyższona asymilacja CO₂ u

mutanta *jac1* była najprawdopodobniej spowodowana zahamowaniem ruchu chloroplastów u tego mutantu. Wyniki innych badań wykazały wpływ fototropin na fazę świetlną fotosyntezy i przewodnictwo aparatów szparkowych. Parametr wygaszania fotochemicznego (qP) był niższy u podwójnego mutantu *phot1/phot2* niż u roślin typu dzikiego. Habilitantka udowodniła ponadto, że istnieje pozytywna zależność pomiędzy aktywnością fototropin a gęstością aparatów szparkowych, oraz mniejsza akumulacja biomasy u mutantu *phot1/phot2*. Istotnym elementem osiągnięcia naukowego było wykazanie niższej aktywności fotosyntetycznej u mutantu *phyB*, co było związane ze zmniejszoną zawartością chlorofili i karotenoidów (P4). Wyniki tej pracy wykazały również, że szybkość asymilacji CO₂ była zmniejszona u mutantów *phyA* i *phyB*, a jeszcze bardziej u podwójnego mutantu *phyA/phyB*, w porównaniu z roślinami typu dzikiego (P4). Ponadto istotnym osiągnięciem habilitantki było wykazanie nowej funkcji białek *phot1*, *phot2*, *phyA*, *phyB* i *JAC1* w regulacji zawartości H₂O₂ w liściach, aktywności enzymów przeciwutleniających i śmierci komórki po stresie fotoksydacyjnym wywołanym promieniowaniem UV.

Badania prowadzone na roślinach drzewiastych (topola) z wyciszonym genem *EDS1* wykazały, że niższa aktywność *EDS1* ma wpływ na wzrost topoli (P6) - tworzyły one więcej pędów bocznych. Linie te produkowały także mniej H₂O₂ i kwasu salicylowego (P6). Rola białka *EDS1* w regulacji cech morfologicznych topoli mogła być związana z regulacją homeostazy takich fitohormonów jak auksyny i cytokininy. W badanych liniach habilitantka wykazała także wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych SOD i CAT. Uzyskane wyniki wskazują na ważną rolę białka *EDS1* w regulacji homeostazy RFT nie tylko u *Arabidopsis*, ale także u roślin drzewiastych. Aktywność *EDS1* u topoli przyspieszała również starzenie liści i zmiany w aparacie fotosyntetycznym. Opóźnione starzenie w liniach z wyciszoną ekspresją genu *EDS1* sugerowało, że *EDS1* pozytywnie wpływa na śmierć komórek u topoli.

W kolejnej pracy (P7) habilitantka zastosowała różne techniki molekularne, umożliwiające określenie subkomórkowej lokalizacji *LSD1* i białek oddziałujących z *LSD1* *in vivo*. Zarówno w warunkach kontrolnych, jak i w czasie stresu oksydacyjnego *LSD1* zostało wykryte w cytoplazmie i jądrze komórkowym. Dr Czarnocka stwierdziła ponadto homodimeryzację białka *EDS1* i bezpośrednie oddziaływanie *EDS1* z *PAD4*, jak też interakcję *LSD1* z *EDS1* (P7). Analiza białek metodą spektrometrii mas doprowadziła do zidentyfikowania do 38 nowych białek wchodzących w interakcję z *LSD1* w zależności od stanu redoks komórki. Wyniki tej pracy pozwoliły także na pozytywne zweryfikowanie hipotezy, że *LSD1* jest regulatorem transkrypcji białek zaangażowanych w różne szlaki

komórkowe, takie jak odpowiedź na stres, szlaki sygnałowe zależne od hormonów, dojrzewanie pre-mRNA, potranslacyjna modyfikacja białek, proteoliza czy modyfikacja ścian komórkowych.

Jednym z genów o najbardziej podwyższonej ekspresji u mutantu *lsd1* był gen kodujący białko FLAVIN-DEPENDENT MONOOXYGENASE 1 (FMO1). U mutantów *eds1* i *pad4* ekspresja *FMO1* była obniżona, co sugerowało, że białko FMO1 może być składnikiem mechanizmu indukcji śmierci komórki, w której pośredniczą białka LSD1, EDS1 i PAD4. Z tego powodu habilitantka wysunęła hipotezę, że białko FMO1, uważane wyłącznie za regulator odpowiedzi na stres biotyczny, jest również ważnym elementem odpowiedzi na stres abiotyczny. Wyniki pracy P8 pozwoliły na pozytywne zweryfikowanie hipotezy, że FMO1 jest ważnym regulatorem SAA (systemic acquired acclimation). Ponadto dr Czarnocka wykazała w tej publikacji, że białko FMO1 jest pozytywnym regulatorem rozprzestrzeniania się sygnału śmierci komórki i bierze udział w zależnym od LSD1 szlaku regulacji śmierci komórki.

Należy podkreślić, że badania będące podstawą osiągnięcia naukowego mają niewątpliwie charakter nowatorski i wnoszą istotny wkład w badania nad poznaniem roli fizjologicznej białka LSD1 oraz innych białek z nim oddziaływujących w szlakach przekazywania sygnału i odporności na stres abiotyczny.

Podsumowując, wartość naukowa przedstawionego do oceny dzieła spełnia wszystkie kryteria określone w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668).

Ocena pozostałej aktywności naukowej

Sumaryczny impact factor wszystkich prac kandydatki wynosi ponad 96, w tym 35 przypada na prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, a 61 na pozostałe publikacje. Wartość indeksu Hirscha wynosi 10 (wg Scopus), a liczba cytacji wszystkich prac 481. Nie są to może zbyt wysokie wskaźniki, ale wystarczające. Biorąc pod uwagę młody wiek habilitantki, wspomniane parametry będą niewątpliwie szybko rosnąć. Liczba publikacji z bazy JCR, poza pracami wchodzącymi w skład dzieła, wynosi 15, w tym jedna to praca przeglądowa. Ponadto habilitantka jest autorem 3 rozdziałów w książkach (monografiach). Omawiane publikacje ukazały się również w większości w prestiżowych czasopismach o wysokim współczynniku IF, takich jak *Plant Physiology* czy *Plant, Cell and Environment*.

Tematyka wyżej wymienionych publikacji dotyczyła, m.in. roli białek LSD1, EDS1 i PAD4 w regulacji śmierci komórki w odpowiedzi na nadmierną energię wzbudzenia u

Arabidopsis. Badania te były wykonywane w ramach pracy doktorskiej i zostały opublikowane w 3 pracach oryginalnych, jednym artykule przeglądowym oraz jednej monografii. Uzyskane wyniki zostały również wykorzystane do zgłoszenia patentowego.

Z kolei pełniąc funkcję promotora pomocniczego, dr Czarnocka kontynuowała prace nad rolą białek LSD1, EDS1, PAD4 i MPK4 zarówno u *Arabidopsis* jak też u topoli, czego efektem było kilka wartościowych publikacji.

Zainteresowanie mechanizmami symbiozy między roślinami bobowatymi a bakteriami glebowymi zaowocowało przyznaniem habilitantce grantu z MNiSzW pt. 'Analiza różnic w transkryptomach brodawek korzeniowych *Medicago truncatula* oraz *Lotus japonicus* w warunkach optymalnych i w warunkach stresu suszy przy pomocy sekwencjonowania RNA następnej generacji (NGS)'. Efektem realizacji tego projektu były 3 prace oryginalne, gdzie kandydatka pełniła rolę autora korespondencyjnego, oraz 2 rozdziały w monografiach.

W latach 2008-2015 habilitantka odbyła 3 zagraniczne staże naukowe w Niemczech oraz w Belgii realizując własne projekty badawcze. Wyniki swoich badań prezentowała wygłaszając jeden zagraniczny wykład na zaproszenie oraz w postaci 19 prezentacji posterowych (3 przed oraz 16 po uzyskaniu stopnia doktora). Kandydatka była kierownikiem 2 projektów badawczych (Miniatura i Juventus Plus) oraz wykonawcą w 3 innych projektach.

Dr Czarnocka jest ponadto ekspertem w europejskiej Agencji Wykonawczej ds. Badań Naukowych oraz była redaktorem zeszytu tematycznego w czasopiśmie 'Cells'. Była ponadto recenzentem 18 prac naukowych w różnych czasopismach, europejskich grantów w ramach programu Horyzont 2020 czy wniosków w programie SKILLS. Jej praca naukowa została doceniona w postaci przyznania szeregu nagród, wyróżnień i stypendiów.

Wobec powyższych faktów, moja ocena pozostałego dorobku i aktywności naukowej dr Czarnockiej jest wysoka i pozwala stwierdzić iż spełnia ona warunki stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego.

Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Działalność dydaktyczna kandydatki związana jest w głównej mierze z jej zatrudnieniem w SGGW, gdzie od 2013 roku prowadzi ćwiczenia i wykłady ze studentami kierunków Biologia, Biotechnologia, Inżynieria ekologiczna, Rolnictwo oraz kierunku Organic Agriculture and Food Production w języku angielskim. Jest ponadto koordynatorem przedmiotu „Basics of Botany” dla kierunku OAFP, będąc jednocześnie autorem treści wykładowych i ćwiczeniowych w języku angielskim. Prowadzi także autorskie wykłady w ramach zajęć fakultatywnych "Nowe trendy w fizjologii roślin".

Kandydatka pełniła ponadto funkcję promotora pomocniczego w 2 zakończonych przewodach doktorskich oraz funkcję promotora 2 prac magisterskich. Dr Czarnocka brała również udział w szeregu kursów i szkoleń zarówno w kraju jak i za granicą.

Do działalności organizacyjnej kandydatki należy zaliczyć członkostwo w Komitecie naukowym konferencji pt. „*Mity i rzeczywistość XXI wieku – żywność genetycznie modyfikowana GMO*”, która odbyła się w Warszawie w 2014 roku, udział w tworzeniu programu studiów podyplomowych "Przyroda i biologia" w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, czy przygotowanie programu oraz prowadzenie zajęć w ramach przedsięwzięcia edukacyjnego „Uniwersytet Dzieci”.

WNIOSEK KOŃCOWY:

Stwierdzam, że przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe, oraz pozostała aktywność naukowa, dydaktyczna i organizacyjna spełnia wymogi stawiane w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668). W związku z powyższym, pozytywnie opiniuję wniosek o nadanie dr inż. Weronice Krystynie Czarnockiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauk biologicznych.

Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ


prof. dr hab. Jerzy Kruk