



Zofia Szweykowska-Kulińska, prof. dr hab.  
Zakład Ekspresji Genów

Poznań, 21.07.2021

**Recenzja osiągnięcia naukowego i pozostałej aktywności naukowej dr inż. Weroniki Krystyny Czarnockiej w związku z ubieganiem się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauki ścisłe i przyrodnicze w dyscyplinie nauki biologiczne**

Dr inż. Weronika Czarnocka jest pracownikiem Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego (SGGW) w Warszawie, a pracuje w Katedrze Botaniki Instytutu Biologii.

**Dane na temat Kandydatki**

Tytuł magistra inżyniera biotechnologii, specjalność diagnostyka molekularna, otrzymała na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu w 2009 roku, a stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia otrzymała w 2013 roku za pracę wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Stanisława Karpińskiego zatytułowaną „Genetyczne oraz molekularne mechanizmy kontrolujące programowaną śmierć komórki oraz przystosowanie roślin w odpowiedzi na stresy abiotyczne”. Stopień doktora nadała Kandydatce Rada Naukowa Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie.

W latach 2013-2015 dr K. Czarnocka pracowała jako asystent w Katedrze Botaniki SGGW, a od roku 2015 do teraz kontynuuje pracę w tym samym miejscu jako adiunkt.

Kandydatka dostarczyła wszystkie wymagane dokumenty i w moim przekonaniu spełnia formalne warunki ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

Postępowanie o nadanie stopnia doktora habilitowanego toczy się przed Radą Dyscypliny Nauk Biologicznych SGGW.

**Ocena osiągnięcia naukowego dr inż. Weroniki Czarnockiej**

Jako osiągnięcie naukowe dr W.K. Czarnocka przedstawia cykl publikacji opatrzony tytułem „Wpływ percepcji światła i szlaku przekazywania sygnału zależnego od LSD1 na rozwój roślin i ich odporność na czynniki środowiskowe”. W skład tego cyklu wchodzi osiem prac, w pięciu jest pierwszym autorem (w tym raz współpierwszym autorem), a w pozostałych



drugim. W dwóch pracach eksperymentalnych jest dodatkowo autorem korespondującym. Prace z reguły są wieloautorskie lub dwuautorskie. Analiza oświadczeń współautorów wskazuje na wiodącą rolę Kandydatki w większości z tych prac. W pracach gdzie pełni rolę autora korespondującego Kandydatka sformułowała hipotezy badawcze, analizowała wyniki, pisała prace i dyskutowała z recenzentami. W pracach, gdzie jest współ-pierwszym autorem, była jedną z trzech osób formułujących hipotezy badawcze, wykonywała szereg doświadczeń i brała udział w pisaniu manuskryptów. Zasadniczo we wszystkich pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Jej udział był znaczący. Nie mam zastrzeżeń do wkładu pracy Kandydatki w publikacjach z osiągnięcia naukowego. Prace, które ukazują się w bardzo dobrych/dobrych czasopismach muszą być wieloautorskie gdyż obejmują najczęściej szeroką paletę technik, które wymagają wyspecjalizowania w ich prawidłowym przeprowadzeniu i zinterpretowaniu. W sześciu pracach autorem korespondującym jest kierownik grupy badawczej – prof. dr hab. Stanisław Karpiński. Pracując u wybitnego badacza trudno spodziewać się, by pracownik przystępujący do habilitacji miał na tym etapie rozwoju naukowego większość prac po doktoracie z autorstwem korespondującym. W mojej opinii posiadanie w dorobku już dwóch prac z przewodnią rolą dr inż. Weroniki Czarnockiej wskazuje na gotowość podjęcia samodzielnych badań naukowych.

Prace zostały opublikowane w bardzo dobrych i dobrych czasopismach naukowych takich jak *Free Radical Biology and Medicine*, *Journal of Experimental Botany*, *Plant, Cell and Environment*, *Frontiers in Plant Science*, *Journal of Plant Physiology*, *Cells* (dwie prace) i *Plants*. Prace te ukazały się w latach 2015 – 2021. Sumaryczny współczynnik oddziaływania tych prac wynosi 35,5 i wartość tę w przypadku prac dotyczących roślin należy uznać za wysoką. Prace te były już cytowane 174 razy (w momencie składania wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego) i ta wartość w przypadku prac związanych z biologią roślin oznacza, że prace te cieszą się dużym zainteresowaniem społeczności naukowej.

Badania dr inż. Weroniki Czarnockiej są efektem jej pracy doktorskiej, która zainspirowała Kandydatkę do postawienia hipotez związanych z możliwą rolą fototropin, fitochromów i białek JAC1 LSD1, EDS1, PAD4 i FMO1 (ruch chloroplastów, percepcja światła,



homeostaza RFT i regulacja aktywności hormonów) w regulacji odporności roślin na stresy abiotyczne i biotyczne w powiązaniu z pojawieniem się nadmiernej energii wzbudzenia aparatu fotosyntetycznego.

Poniżej przedstawiam najważniejsze osiągnięcia Kandydatki przedstawione w sześciu pracach doświadczalnych. Kandydatce udało się głębiej wniknąć w molekularną i fizjologiczną rolę białka JAC1. Białko to wiadomo było, że odpowiada za ruch chloroplastów związany z obecnością wokół nich krótkich włókien aktynowych. Habilitantka wykazała, że białko to jest negatywnym regulatorem fotosyntezy i obniża zawartość barwników fotosyntetycznych w komórkach liści *A.thaliana*. Białko to hamuje również pobieranie przez roślinę CO<sub>2</sub>. Obserwacje te, poczynione przez porównanie roślin typu dzikiego i mutantu *jac1*, wsparte są doświadczeniami transkryptomycznymi, które pokazują, że w mutancie *jac1* podnosi się poziom ekspresji genów aktywnych w aparatach szparkowych i związanych z ruchem aparatów szparkowych. Odkrycia te ukazują, że rola białka JAC1 jest bardziej różnorodna niż dotychczas sądzono.

Kolejne badania wykazały, że fototropiny Phot1 i Phot2 działają stymulująco na proces fotosyntezy (stosunek otwartych centrów PSII, zawartość chlorofilu i karotenoidów, które były obniżone w podwójnym mutancie *phot1/phot2*). Ponadto Kandydatka odkryła, że Pho1 i Pho2 (razem, z osobna i addytywnie) kontrolują nie tylko otwarcie aparatów szparkowych (co było już wiadome) ale i też ich liczbę. Mutanty *phot1/phot2* miały również obniżoną biomasę w stosunku do roślin typu dzikiego.

Kandydatka udowodniła również udział fitochromów (PhyB) w regulacji wydajności reakcji świetlnych fotosyntezy i asymilacji CO<sub>2</sub> (PhyA i PhyB). Mutant *phyb* wykazywał mniejszą wydajność fotosyntetyczną co było związane z obniżoną zawartością chlorofilu i karotenoidów. Obniżenie zawartości β-karotenu, który ma działania fotoprotekcyjne, może być powodem zwiększonej u mutantu podatności na śmierć komórki indukowanej promieniowaniem UV. Mutanty *phyA* i *phyB* (a także podwójny mutant) charakteryzowały się obniżoną wydajnością asymilacji CO<sub>2</sub>, co korelowało z niższą przewodnością pary wodnej jak i niższą liczbą aparatów szparkowych.



Całkowicie nowa funkcja badanych białek fototropin, fitochromów i JAC1 odkryta przez dr inż. Weronikę Czarnocką polega na kontroli poziomu nadtelunku wodoru jaki i enzymów antyutleniających i śmierci komórki po stresie fotooksydacyjnym wywołanym UV.

Kandydatka wykazała (wraz z grupą badaczy Katedry Botaniki), że białka LSD1, EDS1 i PAD4, o których wiadomo było, że odgrywają ważną rolę w odpowiedzi *A.thaliana* i innych roślin zielnych na stres środowiskowy, pełnią taką samą rolę w przypadku roślin drzewiastych – co udowodniła na przykładzie topoli. Między innymi wykazano, że transgeniczne topole z wyciszonym genem EDS1 tworzą więcej pędów bocznych co pokazuje, że białko EDS1 nie tylko bierze udział w odpowiedzi na stresy środowiskowe ale też, najprawdopodobniej poprzez kontrolę homeostazy RFT i hormonów, bierze udział w procesach rozwojowych roślin. Wnioski to poparte zostały zaobserwowanymi w transkryptomie transgenicznych topoli z wyciszonym genem *EDS1* zmianami w ekspresji genów związanych z utrzymaniem równowagi RFT, auksyn i cytokinin. Pomiary fizjologiczne wykazały również, że obecność białka EDS1 obniża wydajność fotosyntezy poprzez obniżanie wydajności PSII, wymiany gazowej, asymilacji CO<sub>2</sub> i zawartości chlorofilu. Zaobserwowane w tym mutancie opóźnione starzenie liści, zwiększona asymilacja CO<sub>2</sub> i wydajność fotosyntezy – mogą okazać się obserwacjami, które będzie można przekuć w działania aplikacyjne, związane z przyrostem biomasy. Pytanie jednak pozostaje, jak taka topola będzie sobie radzić z odpowiedzią na stresy środowiskowe.

Za najciekawszą część badań Habilitantki (z mojego punktu widzenia) uważam molekularną charakterystykę białka LSD1, związanego z programowaną śmiercią komórki. Stosując odpowiednie techniki molekularne, Kandydatka wykazała, że białko to działa jako homodimer występujący głównie w jądrze ale również w cytoplazmie. Ponadto udowodniła, że białko to oddziałuje z białkiem EDS1 tworząc heterodimery, a nie zaobserwowała takich oddziaływań w przypadku LSD1 i PAD4. Nie wykluczone są oddziaływania EDS1 z PAD4. Potwierdzenie molekularnych zależności pomiędzy LSD1, EDS1, o których wiadomo już było wcześniej z badań genetycznych, że biorą udział w regulacji programowanej śmierci komórki, jest bardzo ciekawym i ważnym odkryciem. Wynik ten zainspirował Habilitantkę by



spojrzeć na innych partnerów LSD1, oddziałujących z tym białkiem w warunkach kontrolnych i stresu oksydacyjnego. Stosując trudną technikę TAP zidentyfikowała różną pulę białek oddziałujących z LSD1 w badanych warunkach, znajdując jedynie trzy białka dla różnych warunków jako wspólne. Białka oddziałujące z LSD1 w warunkach stresowych w dużej mierze kategoryzuje się do białek odpowiedzi na stresy środowiskowe. Kolejna runda ciekawych badań, wykonanych we współpracy z prof. B.Muellerem-Roeberem z Instytutu Maxa Plancka w Golm wykazała, że LSD1 jest regulatorem transkrypcyjnym, stymulującym transkrypcję genów między innymi zaangażowanych w odpowiedź na stresy środowiskowe. To bardzo ciekawe odkrycie, zwłaszcza w kontekście braku sygnału NLS w białku LSD1. Być może LSD1 jest wprowadzany do jądra w dimerze z innym partnerem, posiadającym NLS.

Kolejnym badanym białkiem przez Kandydatkę był gen *FMO1*, którego ekspresja (jak wynikało z analiz transkryptomicznych przeprowadzonych przez Habilitantkę) jest najbardziej podwyższona w mutancie *lsd1*. Z kolei jego mRNA obniżał się w liniach mutantów *eds1* i *pad4* (obserwacje poczynione jeszcze podczas wykonywania pracy doktorskiej). Wszystko to sugeruje udział FMO1 w programowanej śmierci komórki. Jako pierwsza udowodniła udział FMO1 w odpowiedzi na stres abiotyczny (rola tego białka w odpowiedzi na stres biotyczny była znana) – nadmierne światło i odpowiedź ta jest odpowiedzią systemiczną. Ponadto dowiodła, że FMO1 sprzyja produkcji RFT i bierze udział w szlaku sygnałowym RFT. Ponadto jego obecność indukuje ekspresję genów markerowych SAA, co dowiodzi, że białko to jest związane z tym procesem. W serii ciekawych doświadczeń Habilitantka pokazała, że FMO1 jest pozytywnym regulatorem systemicznego rozprzestrzeniania się sygnału śmierci komórki pod wpływem nadmiaru światła. Badania te wieńczy model ukazujący udział FMO1 w SAA i SAR i zaproponowanie nowej ścieżki będącej efektem nachodzenia tych dwóch wymienionych ścieżek o zaproponowanej nazwie SAAR (Systemic Acquired Acclimatization and Response).

Wszystkie uzyskane przez dr inż. Weronikę Czarnocką wyniki spaja pytanie o poszukiwanie elementów odpowiedzi roślin na nadmierne światło i wskazanie na udział w tym procesie



białek znanych od dawna i uwikłanych w programowaną śmierć komórki z powodów różnych stresów środowiskowych (fotoreceptory, JAC1, LSD1, ESD1, PAD4 i FMO1). Geny te, jak pokazała Pani Doktor, są również zaangażowane w odpowiedź rośliny na nadmierne światło i uszkodzenie aparatu fotosyntetycznego. Wyniki te są pod tym względem spójne i stanowią istotny postęp w zrozumieniu odpowiedzi roślin na niekorzystne warunki świetlne (nadmiar światła), a tym samym wnoszą istotny wkład w nauki biologiczne. Oceniam przedstawione osiągnięcie naukowe bardzo wysoko, a dodatkowo pragnę nadmienić, że wyniki te są znakomicie, syntetycznie opisane w autoreferacie.

#### **Pozostała aktywność naukowa dr inż. Weroniki Czarnockiej**

Jako pozostały dorobek naukowy Kandydatka przedstawia 15 prac opublikowanych w czasopismach z listy JCR i trzy rozdziały w monografiach. Prace te ukazały się w bardzo dobrych i dobrych czasopismach jak *Plant Physiology*, *J.Exp. Bot.*, *Plant, Cell and Environment*, *Plant Cell Reports*, *Journal of Plant Physiology* itd. W trzech z tych prac Kandydatka jest pierwszą autorką (w tym w pracy w *Plant Physiology*), a w pozostałych jest na drugiej/trzeciej lub dalszej pozycji. W trzech pracach pełni rolę autora korespondującego. Rozdziały w monografiach (w jednym jest pierwszą autorką) zostały opublikowane w uznanych, międzynarodowych wydawnictwach naukowych. Prace te koncentrowały się na mechanizmach aklimatyzacji roślin do warunków polowych/nadmiernego światła i udziale białek LSD1, ESD1, PAD4 w tych procesach. Ponadto wykazała wraz z innymi współautorami prac, że MPK4 *A.thaliana* i topoli reguluje homeostazę RFT i hormonów, ma znaczenie w wydajności fotosyntezy i przyroście drewna w przypadku drzew. Opisała wpływ białek LSD1, EDS1, PAD4 na modyfikacje drewna topoli. Ciekawym nurtem badawczym jest wykazanie, że zwierzęce białko Bax wpływa na procesy śmierci komórki zależnych od EDS1 co rzeczywiście dowodzi pewnych wspólnych elementów pomiędzy procesami śmierci komórki roślin i zwierząt. Oryginalnym nurtem badawczym było również wykazanie roli transporterów auksynowych PIN zlokalizowanych w błonie ER w inicjacji symbiozy lucerny





i bakterii z rodzaju *Rhizobium* i podtrzymania aktywności merystematycznej brodawek lucerny.

Całkowita liczba cytowań prac Kandydatki, bez autocytowań wg bazy Scopus wyniosła 424 na dzień składanego wniosku habilitacyjnego, a indeks Hirscha 9. Są to parametry bardzo dobre jak na ten etap kariery naukowej.

Dr inż. Weronika Czarnocka ma bogaty dorobek stażowy: 9-miesięczny pobyt w Department of Plant Systems Biology, Flanders Institute for Biotechnology, Gandawa, Belgia, cztero-miesięczny staż naukowy w Institut fuer Humangenetik, Lipsk, Niemcy i trzy-miesięczny staż w Instytucie Maxa Plancka w Golm, Niemcy. Z pobytów tych są wspólne publikacje więc jak najbardziej spełniony został przez Kandydatkę warunek ustawy prowadzenia działalności naukowej w więcej niż jednej jednostce naukowej.

W ramach aktywności naukowej dr inż. Weronika Czarnocka pełniła dwukrotnie funkcje promotora pomocniczego w dwóch zakończonych przewodach doktorskich, dwukrotnie funkcje promotora prac magisterskich.

Z sukcesem potrafi zdobywać projekty naukowe i je rozliczać, czego przykładem jest kierowanie projektem MNiSW Iuventus Plus i kierowanie projektem Miniatura z agencji grantowej NCN. Odczuwam pewien niedosyt, że Kandydatka nie aplikowała lub nie zdobyła projektu NCN typu Sonata/Sonata Bis, o które przecież mogłaby się ubiegać z dużym prawdopodobieństwem sukcesu. Bierze również udział jako wykonawca w projekcie Maestro kierowanym przez prof. S. Karpińskiego, a także była wykonawcą projektu Profesora Welcome FNP i projektu Woodtech NCBiR.

Brała udział jako ekspert w pracach europejskiej Agencji Wykonawczej ds. Badań Naukowych, pełni funkcje gościnnej edytorce specjalnego zeszytu czasopisma Cells (MDPI) dotyczącego programowanej śmierci komórki, a dla FNP oceniała merytorycznie projekty złożone w ramach programu Skills.

Powierzano Jej również, i to czasami wielokrotnie, recenzowanie prac do takich czasopism jak Plant Physiology, I. Int. Mol. Sci., Cells, BMC Plant Biology, Protplasma, Acta Phys. Plant.



Dr inż. Weronika Czarnocka była zaproszona z wykładem na międzynarodową konferencję dotyczącą reaktywnych form tlenu i azotu, która odbywała się w Monachium w 2019 roku. Ponadto uczestniczyła i prezentowała swoje wyniki w formie posteru trzykrotnie przed doktoratem i 16-krotnie po doktoracie, głównie na międzynarodowych konferencjach odbywających się poza granicami naszego kraju.

Habilitantka udziela się też w pracach nad organizacją konferencji, biorąc udział w pracach komitetu organizacyjnego konferencji z serii „Mity i rzeczywistość XXI wieku – żywność genetycznie modyfikowana GMO”.

Osiągnięcia naukowe dr inż. Weroniki Czarnockiej zostały uhonorowane nagrodami Rektora SGGW, I Nagrodą Polskiego Towarzystwa Botanicznego dla młodych naukowców, Nagrodą Główną Polskiego Towarzystwa Genetycznego za prezentację posterową. Otrzymała również stypendium naukowe dla młodego wybitnego naukowca Ministra NSiW, a także prestiżowe stypendium START FNP.

Jest również współautorką międzynarodowego patentu.

Choć nie jest wymagana ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego w postępowaniach habilitacyjnych, to należy przyznać, że z racji pracy w uczelni Kandydatka prowadzi szereg zajęć dydaktycznych, a także udziela się organizacyjnie.

Wszystkie te dokonania, które wymieniłam powyżej oceniam wysoko i uznaję, że dr inż.

Weronika Czarnocka jest bardzo aktywnym naukowo badaczem, udzielającym się w bardzo różnych formach, między innymi publikacyjnie, jako stażysta naukowy w innych ośrodkach naukowych, jako kierownik projektów badawczych, jako recenzent, i jako uczestnik aktywnej konferencji naukowych. Wszystko to prowadzi do wniosku, że jest Ona pracownikiem, który dojrzał do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej i współpracy z innymi naukowcami na zasadzie partnerstwa.

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując uważam, że wniosek habilitacyjny dr inż. Weroniki Czarnockiej spełnia wszystkie wymogi Ustawy z 20.07.2018 Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. z





2020 r. poz. 85 z późniejszymi zmianami). W związku z tym zwracam się do Rady  
Dyscypliny Nauki Biologiczne SGGW w Warszawie o nadanie dr inż. Weronice Czarnockiej  
stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauki ścisłe i przyrodnicze w dyscyplinie nauki  
biologiczne.

Zofia Szweykowska-Kulińska