UNIWERSYTET WARSZAWSKI
WYDZIAŁ BIOLOGII

Instytut Botaniki

Zakład Molekularnej Fizjologii Roślin
ul. MIECZNIKOWA 1, 02-096 WARSZAWA
TEL: (+22) 5543912, FAX: (+22) 5543910

Prof. dr hab. Elżbieta Romanowska
Wydział Biologii,
Zakład Molekularnej Fizjologii Roślin,
Uniwersytet Warszawski

Ocena osiągnięcia naukowego, dorobku naukowego oraz osiągnięć organizacyjnych i dydaktycznych

dr Apolonii Cecylii Sieprawskiej w związku z wszczęciem postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie – biologia.
Niniejszą recenzję sporządzono w oparciu o dokumentację przekazaną do oceny przez Wnioskodawcę. Potwierdzam, że przekazane materiały zostały przygotowane poprawnie i stanowią kompletny zestaw informacji umożliwiający zarówno zapoznanie się z dorobkiem naukowym, jak i osiągnięciami dr Apolonii Cecylii Sieprawskiej i opracowanie mojej opinii.

Życiorys i kariera naukowa

Pani dr Apolonia Cecylia Sieprawska, jest zatrudniona od 2011 r. na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Wydziału Geograficzno-Biologicznego Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie. Stopień naukowy magistra biologii uzyskała w roku 2007, a stopień doktora w roku 2011 w oparciu o rozprawę pt.: „Wpływ kadmu na mobilizację mechanizmów obronnych roślin i zwierząt" wykonaną w Zakładzie Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Pedagogicznego pod kierunkiem prof. dr hab. Marii Filek, na tym samym Wydziale. W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora jak i późniejszym Pani dr Apolonia Cecylia Sieprawska zajmowała się badaniami dotyczącymi oddziaływań selenu (Se) na właściwości błon komórkowych kalusa pszenicy, jak i następnie wpływem kadmu (Cd) na tkanki roślinne i zwierzęce, z uwzględnieniem jego akumulacji, wyjaśnieniem czy jego zawartość ma wpływ na pobieranie innych pierwiastków, określeniem jak zmienia się udział antyoksydantów enzymatycznych i nieenzymatycznych w tkankach oraz wyjaśnieniem czy Se może zmieniać odpowiedź tkanek na Cd. Wyniki tych badań, były prezentowane na 3 konferencjach i zostały opublikowane w 3 pracach oryginalnych (bez wskaźnika IF).

Ocena osiągnięcia naukowego w postępowaniu habilitacyjnym

Pani dr Apolonia Cecylia Sieprawska, zgodnie z art.16 ust 2 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003 r., wskazała osiągnięcie habilitacyjne, które stanowi zestaw siedmiu publikacji pt. „Udział wybranych pierwiastków w reakcjach obronnych roślin w warunkach stresogennych". Wszystkie artykuły opublikowano w czasopismach z listy JCR o wartościach współczynnika oddziaływania IF od 0.625 do 2.718. Sumaryczna wartość IF dla czasopism, w których wydano prace wynosi 12.155, natomiast liczba pkt. MNiSW 195. Liczba cytowań prac cyklu habilitacyjnego wynosi 33. Są to artykuły, opublikowane w czasopismach o zasięgu

międzynarodowym, wydane drukiem w latach 2015-2019. Wszystkie prace są wieloautorskie, w czterech pracach dr Sieprawska jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym, w dwóch autorem korespondencyjnym, w jednej jest na drugim miejscu. Na podstawie oświadczeń Habilitantki wysuwam wniosek, że brała ona udział w koncepcji prac włączonych do osiągnięcia habilitacyjnego oraz zaprojektowała i wykonała ich część. Miała też wiodącą rolę w interpretacji wyników i przygotowaniu manuskryptów. Swój udział w powstawaniu prac ocenia na 45-80%, w jednej 8%. W oświadczeniach współautorów potwierdzono udział Habilitantki w realizacji deklarowanych zadań badawczych i opracowywaniu manuskryptów zgodnie z opisem zamieszczonym w załączniku. Cykl prac ukazał się w następujących czasopismach: *Journal of Plant Growth Regulation, Journal of the Science of Food and Agriculture, Plant Physiology and Biochemistry, Acta Physiologiae Plantarum, Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica.*

W Załączniku 2 (Autoreferat, 37 stron) Habilitantka przedstawiła bardzo obszerne wprowadzenie merytoryczne do zagadnień badanych w ramach osiągnięcia naukowego i innych prac z dorobku, omówiła też cele prowadzonych badań, stosowane metody, uzyskane wyniki i je podsumowała.

Wszystkie prace przedstawione przez dr A. C. Sieprawską jako jej osiągnięcie naukowe zostały opatrzone wspólnym tytułem, dobrze oddającym zawartość wszystkich załączonych artykułów. Habilitantka podjęła się próby poznania odpowiedzi na pytanie czy istnieje zależność pomiędzy odpornością i wrażliwością roślin na stresy a akumulacją mikro- i makroelementów w tkankach, zarówno podczas indukcji stresu jak i w warunkach powstawania ochrony przed stresem. Ponadto interesowało ją wyjaśnienie czy mangan (Mn) i selen (Se) mogą zależnie od zawartości w tkankach roślin, mieć wpływ, na powstawanie zarówno odpowiedzi stresowych jak i ochronnych, gdyż nadal ich udział w tym zakresie jest słabo poznany. Wybrany przez Habilitantkę temat badawczy ma znaczenie nie tylko poznawcze, ale wiedza o kumulacji, dystrybucji i funkcji wybranych pierwiastków zarówno podczas warunków stresowych, jak i ich rola ochronna jest słabo poznana, a może być wykorzystana w hodowli ważnych gospodarczo roślin.

Badano: (1) korelację pomiędzy odpornością wybranych odmian pszenicy a akumulacją mikro- i makroelementów; (2) czy mangan indukuje sytuację stresową u roślin wrażliwych i odpornych, i jak zmienia się jego działanie w chloroplastach, gdzie jest głównym komponentem kompleksu utleniającego wodę; (3) czy mechanizm związany z antyoksydacyjnych właściwości selenu, jego pozytywne działanie na rośliny w obecności mykotoksyn (zearalenu) realizowane jest poprzez oddziaływanie na kanały jonowe, zmieniając wrażliwość roślin na te związki. Przeprowadzone badania uważam za interesujące, wskazują one na pomysłowość Habilitantki w projektowaniu kolejnych etapów pracy. Bardzo dobra znajomość literatury w zakresie prowadzonych badań, widoczna jest w Autoreferacie, gdzie każdy etap pracy poprzedzony jest stosownym wprowadzeniem i komentarzami.

W pracy 1 : *Sieprawska A., Filek M., Walas S., Tobiasz A., Mrowiec H., Miszalski Z. (2014) Does micro- and macroelement content differentiate grains of sensitive and tolerant wheat varieties? Acta Physiologiae Plantarum 36, 3095–3100;* poszukiwano markera stresu oksydacyjnego w nasionach kilku odmian pszenicy, odpornych i wrażliwych na stres. Podjęto próbę wyjaśnienia czy skład ilościowy i jakościowy pierwiastków w osi zarodkowej i bielmie może odzwierciedlać ich odporność. Przeprowadzono analizę zawartości makroelementów (Mg, Ca, K, S, P) techniką ICP-OES (atomowa spektroskopia emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukowanej) oraz mikroelementów (Fe, Cu, Zn, Mo, Mn) metodą ICP-MS (spektrometria mas sprzężona z plazmą wzbudzaną indukcyjnie). Stwierdzono, że zarodki genotypów odpornych zawierały więcej mikroelementów, natomiast bielmo nasion roślin wrażliwych miało mniejszą zawartość wszystkich pierwiastków. Osiągnięciem tej pracy jest wykazanie, że zawartość mikroelementów w zarodku może być markerem odporności danego genotypu na stres oksydacyjny, natomiast całkowita zawartość pierwiastków w bielmie może pozwolić wyróżnić odmiany wrażliwe na stres.

Kolejnym krokiem w badaniach było wyjaśnienie czy mangan (Mn), pierwiastek będący np. komponentem kompleksu utleniającego wodę i dysmutazy ponadtlenkowej (Mn-SOD) jest też czynnikiem

odpowiedzialnym za tolerancję na stres. W badaniach wykorzystano kalusy pszenicy roślin odpornych i wrażliwych, jako dogodny materiał modelowy w badaniach reakcji stresowych indukowanych przez metale. Stosowano też hormon, auksynę syntetyczną (kwas 2,4 dichlorofenoksyoctowy (2,4D)). Oznaczano szereg parametrów wskazujących na indukcję warunków stresowych tj.:zawartość dialdehydu malonowego (MDA), biologicznego markera stresu oksydacyjnego; akumulację szeregu makro- i mikroelementów; zawartość proliny i węglowodanów; aktywność enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, POD). Badania wykazały, że kalusy badanych odmian kumulowały różną ilość Mn. Odmiana wrażliwa pobierała więcej jonów Mn, a zwiększone pobieranie Mn miało wpływ na transport innych pierwiastków z pożywki zaburzając relacje między nimi, różnice mogły wynikać z różnej przepuszczalności błon badanych odmian. Obecność auksyny 2,4 D miała wpływ na gromadzenie Mn u roślin tolerancyjnych. Osiągnięciem tej pracy jest wykazanie, że jony Mn indukują stres oksydacyjny w wyższych stężeniach, wrażliwość komórek na Mn może wynikać z zaburzenia gospodarki wodnej, na co wskazuje wzrost stężenia proliny w tkankach wrażliwych. Ponadto zwiększenie akumulacji Fe, Cu i Zn w komórkach, może odpowiadać za powstanie mechanizmów obronnych u tolerancyjnego genotypu. Wyniki badań opisano w pracy (2) *Sieprawska A., Filek M., Tobiasz A., Walas S., Dudek-Adamska D., Grygo-Szymanko E. (2016) Trace elements uptake and antioxidant response to excess of manganese in in vitro cells of sensitive and tolerant wheat. Acta Physiologiae Plantarum 38, 38–55.*

Kolejna praca jest kontynuacją badań nad poznaniem wpływu Mn na indukcję stresu. Badania miały na celu wyjaśnienie czy Mn podawany egzogennie w różnych stężeniach kumuluje się w zmiennych ilościach w chloroplastach roślin pszenicy odpornych i wrażliwych, zmieniając ich właściwości. Oznaczano w chloroplastach: zawartość Mn i innych pierwiastków, MDA i aktywność enzymów antyoksydacyjnych (SOD i POX). Ponadto analizowano strukturę chloroplastów i zawartość skrobi jako markera aktywności fotosyntetycznej. Wyznaczano również potencjał elektrokinetyczny błon, mogący wskazywać na zmiany ich właściwości. Obserwowano większą akumulację Mn w chloroplastach roślin wrażliwych, czemu towarzyszył wzrost peroksydacji lipidów błonowych i aktywności SOD i POX. Jednocześnie zwiększonej akumulacji manganu towarzyszyło obniżenie zawartości innych pierwiastków, co miało niewątpliwie wpływ na natężenie fotosyntezy. Jest bardzo interesujące, że zmianom w akumulacji Mn w chloroplastach u obu odmian towarzyszyły zmiany właściwości hydrofilowych i hydrofobowych membran, które mogły odpowiadać za różne pobieranie Mn i innych pierwiastków u obu grup roślin. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracy (3) *Sieprawska A., Filek M., Tobiasz A., Bednarska-Kozakiewicz E., Walas S., Dudek-Adamska D., Grygo-Szymanko E. (2017) Response of chloroplasts of tolerant and sensitive wheat genotypes to manganese excess: structural and biochemical properties. Acta Physiologiae Plantarum 39, 2–6.* Odnośnie tej pracy mam pewne sugestie dotyczące wyboru warunków wzrostu roślin. Hodowla roślin przy natężeniu światła 1000 µmoli fotonów m^{-2} s^{-1} była niewątpliwie dla pszenicy dodatkowym czynnikiem stresowym powodującym fotoinhibicję PSII (realizowaną jako uwalnianie Mn z kompleksu utleniającego wodę, OEC), zatem wydaje się, że egzogennie podany Mn miał również wpływ na zmiany w obrębie OEC, gdyż kompleks zawiera 4 atomy Mn. Myślę, że ten wątek może stanowić kontynuację badań w kierunku wyjaśnienia roli Mn u roślin odpornych i wrażliwych, zależnie od zmian natężenia światła wzrostowego.

Listę artykułów stanowiących dorobek Habilitantki dopełnia praca (4), która jest artykułem przeglądowym przedstawiającym wyniki badań o ochronnej roli selenu (Se) w warunkach działania różnych stresów środowiskowych tj. metale ciężkie, susza, niska i wysoka temperatura promieniowanie UV i inne. Przedstawiono przypuszczalne mechanizmy protekcyjnego działania Se. Bardzo ciekawe są wyniki pokazujące, że Se poprzez oddziaływanie z grupami SH-białek, zmienia ich strukturę i funkcję, w efekcie dochodzi do zmian przepuszczalności błon. Obserwowano, że może mieć również wpływ na pobieranie innych jonów ze środowiska. Obniżenie peroksydacji lipidów błonowych i zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych, zwiększenie zawartości proliny i antocyjanów wskazują na obniżenie zawartości reaktywnych form tlenu (RFT) w komórkach w obecności Se. Analiza wyników badań wielu autorów

pozwoliła Habilitantce na zaproponowanie własnego modelu przedstawiającego mechanizmy regulacji procesów fizjologicznych i biochemicznych w warunkach stresu indukowanego przez Se. Artykuł przeglądowy został opublikowany w: *Sieprawska A., Kornaś A., Filek M. (2015) Involvement of selenium in protective mechanisms of plants under environmental stress conditions – review. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 57, 9–20.*

Artykuł ten był niewątpliwie inspiracją do dalszych badań Habilitantki, która postanowiła wyjaśnić czy Se, który ma wpływ na przepuszczalność błon może zmniejszyć transport mykotoksyny (zearalenonu, ZEA) do komórek liścia. Toksyna ta ma wpływ nie tylko na żywotność komórek, ale może również indukować apoptozę. Badano odmiany pszenicy, owsa i jęczmienia, wrażliwe i odporne na ZEA. Wykorzystano pomiary termowizyjne do rejestracji temperatury liścia. Obserwowano obniżenie temperatury liścia w obecności ZEA, większe dla roślin wrażliwych. Prawdopodobnie ZEA penetruje w głąb liścia uszkadzając jego strukturę, głównie chloroplasty. W obecności Se mogą powstawać kompleksy Se-ZEA obniżające transport ZEA do komórek. Jednocześnie wykazano, że ZEA indukuje stres oksydacyjny, obniża turgor komórek powodując więdnięcie liści. Se aktywuje enzymy antyoksydacyjne. Praca jest interesująca, ma niewątpliwie znaczenie aplikacyjne, gdyż pokazuje, że Se poprzez wpływ na kanały jonowe może obniżać penetrację mykotoksyn do liści. Jest to niewątpliwie osiągnięcie Habilitantki. Wyniki tych badań opublikowano w 5 pracy: *Kornaś A., Filek M., Sieprawska A., Bednarska-Kozakiewicz E., Gawrońska K., Miszalski Z (2019) Foliar application of selenium for protection against the first stages of mycotoxin infection of crop plant leaves. J. Sci. Food Agric. 99, 482-485.*

Praca (6) przedstawiona przez dr Sieprawską jako osiągnięcie naukowe jest kontynuacją badań nad wpływem mykotoksyny ZEA na funkcję chloroplastów izolowanych z pszenicy wrażliwej i odpornej na stres, badano indukcję stresu oksydacyjnego. Stosowano Se oraz hormon, 24 epibrasinolid (EBR) jako związki o działaniu protekcyjnym (indukcja syntezy fitochelatyn, białek Hsp) oraz znane jako związki o oddziaływaniu na receptory błonowe. Badania pokazały, że ZEA kumulowana jest w niższych stężeniach w chloroplastach roślin odpornych, gdzie stwierdzono wyższą zawartość podanych egzogennie Se i EBR. Wyższe stężenie związków o działaniu protekcyjnym obniżało efekty stresu oksydacyjnego poprzez wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Nie stwierdzono moim zdaniem wpływu ZEA na parametry fluorescencji chlorofilu a. Ważnym osiągnięciem prezentowanej pracy jest wykazanie, że chloroplasty są miejscem działania ZEA, a Se i EBR poprzez wpływ na zmiany właściwości błon pełnią funkcję protekcyjną. Wyniki opublikowano w pracy: *Koselski M., Dziubińska H., Trebacz K., Filek M. (2019) The role of SV/TPC1 ion channels under the stress of mycotoxins induced in wheat cells- protective action of seleniu ions. Journal of Plant Growth Regulation* . doi.org/10.1007/s00344-019-09930-z

Dalsze badania Habilitantki koncentrowały się nad wyjaśnieniem czy mechanizm działania mykotoksyny wiąże się z jej bezpośrednim oddziaływaniem na aktywność kanałów jonowych i na czym polega protekcyjna rola jonów selenu. Badana przeprowadzono na błonach wakuol izolowanych z koleoptyli pszenicy, roślin odpornych i wrażliwych na stres oksydacyjny. Wykorzystano metodę *„pach-clamp"* umożliwiającą pomiary przepływu jonów w pojedynczych kanałach. Mechanizmy transportu przez kanały są istotne dla homeostazy komórkowej, a więc dla zabezpieczenia składu wnętrza komórki stąd zasadne prowadzenie takich badań. Rejestrowano aktywność kanałów SV, uczestniczących w transporcie jonów Ca^{2+}. Stwierdzono, że aktywność kanałów u obu odmian jest podobna, natomiast dodanie ZEA powodowało obniżenia aktywności kanałów odmiany wrażliwej, po podaniu Se nie notowano tych zmian. Wyniki te jednoznacznie pokazały, że ZEA działa na kanały jonowe. Autorzy sugerują dwie możliwości, że u odmiany wrażliwej ZEA indukując stres oksydacyjny (powstawanie H_2O_2) co zmienia przewodność kanałów jonowych, ale sugerują, że możliwe jest również oddziaływanie z białkami kanałów, ograniczając transport jonów. W obu przypadkach można wyjaśnić ochronna rolę Se. Choć w tej pracy Habilitantka ocenia swój udział na 8%, niewątpliwie fakt, że jest autorem korespondencyjnym i że jest to kolejny etap planowych przez nią badań, świadczy o jej ważnej roli w powstaniu tej pracy.

Do najistotniejszych osiągnięć dr Sieprawskiej, należy zaliczyć badania, w których wykazano m.i. że:
(1) zawartość mikroelementów w zarodkach nasion może być markerem odporności danego genotypu na stres oksydacyjny
(2) jony Mn w wyższych stężeniach indukują stres oksydacyjny, a różna akumulacja tych jonów w roślinach odpornych i wrażliwych na stres, zmienia relacje innych jonów w komórkach; wzrost stężenia Mn w chloroplastach odpowiada za obniżenie aktywności fotosyntetycznej roślin
(3) wykazanie ochronnej roli selenu w warunkach działania mykotoksyny (zearalenonu) poprzez mechanizm indukujący zmiany aktywności kanałów jonowych

Podsumowując należy stwierdzić, że dr A. C. Sieprawska ma sprecyzowane zainteresowania naukowe, dobrą znajomość problematyki badawczej, potrafi planować i wykonywać badania eksperymentalne oraz oceniać wyniki. Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe wnosi niewątpliwie nowa wiedzę o działaniu i współdziałaniu wybranych pierwiastków na rośliny w warunkach stresowych, Habilitantka poszukuje mechanizmów odpowiedzialnych za zmiany transportu wybranych pierwiastków do komórek w warunkach stresu i wskazuje na funkcję kanałów jonowych, i ochronną rolę selenu w tym procesie. Na podkreślenie zasługuje też fakt, że w czterech przedstawionych pracach dr Sieprawska jest autorem korespondencyjnym i wiodącym, co najlepiej świadczy o jej samodzielności i dojrzałości naukowej.

W mojej ocenie zestaw publikacji przedstawiony jako osiągnięcie naukowe Habilitantki stanowi wkład w rozwój biologii, a tym samym spełnia wymagania wniosku habilitacyjnego.

.

Ocena osiągnięć badawczych i aktywności naukowej Habilitantki

Działalność naukowa dr A. C. Sieprawskiej związana jest poszukiwaniem mechanizmów działania związków o charakterze protekcyjnym w warunkach stresu indukowanego przez metale oraz toksyny.

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora Habilitantka zajmowała się badaniami dotyczącymi oddziaływań selenu (Se) na właściwości błon komórkowych, jak i wpływem kadmu (Cd) na tkanki roślinne i zwierzęce, jego akumulacją, wyjaśnieniem czy jego zawartość ma wpływ na pobieranie innych pierwiastków, ponadto badała udział antyoksydantów enzymatycznych i nieenzymatycznych w ochronie tkanek..

Po doktoracie dominujący wątek w dorobku publikacyjnym Kandydatki stanowią prace dotyczące mechanizmów adaptacji roślin do różnorodnych warunków stresowych i roli pierwiastków w tym procesie. Jej dorobek powiększył się o 19 prac badawczych, współautorskich, 16 wydrukowanych w czasopismach znajdujących się w bazie JCR, 3 w czasopismach spoza bazy tj. np. *Herba Polonica* (7 punk. MNiSW), opublikowanych w latach 2012-2018. Łączny IF opublikowanych prac wynosi 29.385 a sumaryczna punktacja MNiSW wynosi 450, IH = 7. Spośród tych prac 7 przedstawiono jako osiągnięcie naukowe. Prace nie wchodzące w skład osiągnięcia zostały opublikowane w latach 2012-2018 w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, typowych dla biologów eksperymentalnych roślin np.: *Journal of Plant Growth Regulation, Acta Physiol. Plantarum, Toxicology Mechanisms and Methods, Biologia Plantarum, Steroids, J. Membrane Biol., Toxins.* Udział Habilitantki w powstaniu tych prac nie był kluczowy, oceniany jest na 10-90%. W 7 z tych prac dr Sieprawska jest ostatnim autorem, w pozostałych pracach jest na drugim miejscu lub na innej pozycji. Jednak efektywność publikacyjna Habilitantki po doktoracie, od r. 2012, rozkłada się równomiernie w tym okresie, co świadczy o jej stabilnej aktywność badawczej. Włączała się w różne badania aktywnie nie będąc ich liderem, wszystkie te prace zgodne z jej zainteresowaniami naukowymi, równolegle realizując badania wchodzące w jej osiągnięcie habilitacyjne. Sumaryczną wartość współczynnika IF tych prac (17.23) oceniam jako przeciętną, a indeks Hirscha i liczbę cytowań jako bliskie wartościom średnim osiąganym przez kandydatów do stopnia doktora habilitowanego w zakresie biologii. Wiele prac pochodzi z ostatnich 2 lat stąd zapewne niewysoki indeks cytowań. Tematyka prac powstałych w okresie po obronie pracy doktorskiej, których Habilitantka nie włączyła do swojego osiągnięcia naukowego obejmuje zagadnienia związane z poszukiwaniem związków o charakterze protekcyjnym w warunkach

stresowych tj. stres osmotyczny (susza i zasolenie), działanie ozonu, niska temperatur, i wyjaśnieniem mechanizmów ich działania. Szczególnie interesują Habilitantkę zmiany właściwości błon komórkowych indukowane podczas stresu. Odpowiedź rośliny na stres jest sumą wielu mechanizmów obronnych, rozpatrywanie funkcji różnych protektantów w kontekście oddziaływań na błony jest w pełni uzasadnione. Badano jak zmiany przepuszczalności mambran u szeregu odmian pszenicy wrażliwych i odpornych na stres suszy i zasolenia wpływają na akumulację mikro- i makroelementów. Stwierdzono, że stres indukuje zmiany w zawartości nienasyconych i nasyconych kwasów tłuszczowych u badanych odmian oraz wykazano korelację ich zawartości z peroksydacją lipidów błonowych i przepuszczalnością błon, oba badane stresy działały w inny sposób. Uzyskano interesujące wyniki, stwierdzono, że zmianom płynności błon u roślin wrażliwych i odpornych na stres, towarzyszy różna akumulacja makro- i mikroelementów oraz jest zmienna peroksydacja lipidów błonowych. Przepuszczalność mambran i ich skład decydują o wrażliwości roślin na suszę i zasoleni. (*Acta Physiol. Plant. 2012, 34, 985-995*).

Badania powyższe zainspirowały Habilitantkę do napisania współautorskiego bardzo ciekawego artykułu przeglądowego, przedstawiającego wyniki badań działania różnych czynników stresowych na modyfikację składu lipidów błonowych i ich funkcji w aspekcie rozwojowym, pokazano jakie metody (np. potencjały elektrokinetyczne błon, wanna Langmuira) mogą być przydatne w interpretacji zmian strukturalnych i funkcjonalnych błon. Opisano również, jak analizowane parametry fizykochemiczne przekładają się na zmiany właściwości hydrofilowo-hydrofobowych membran. Praca opublikowana została w *Acta Physiol. Plant. (2016) 38, 1-17.*

Następnie, prowadzono interesujące badania modelowe na kalusach pszenicy poddanych krótkotrwałemu działaniu ozonu, który utlenia reszty kwasów tłuszczowych, zmieniając fizykochemiczne właściwości błon, ich płynność i przepuszczalność. Zastosowano znane związki o charakterze przeciwutleniającym, ale różnej naturze chemicznej: kwas galusowy (związek hydrofilowy) i tokoferol (związek hydrofobowy). Analiza głównych frakcji lipidowych błon, wykazała, że obecność stosowanych protektantów zapobiega niekorzystnym zmianom w błonach, a ich skuteczność uwarunkowana jest składem lipidowym błon, zwiększenie zawartości frakcji fosfolipidów może być przystosowaniem do stresu ozonowego. Praca ukazała się w *Acta Physiol. Plant. (2016) 38, 1-11.*

Kolejnym ważnym krokiem w badaniach było poznanie właściwości ochronnych brasinosteroidow i progesteronu, wykorzystując ich właściwości wiązania z błonami. Badania prowadzono na lipidach izolowanych z membran siewek pszenicy odpornych i wrażliwych na niską temperaturę i poddanych aklimatyzacji do niskiej temperatury. Wykazano korelację stopnia nienasycenia kwasów tłuszczowych z tolerancją na temperaturę, oraz pokazano, że wzrost zawartości kwasu linolenowego może tłumaczyć odporność na chłód. Ponadto wykazano, że polarność steroidów i ich inkorporacja w błony zwiększa ich płynność, ważną dla roślin podczas chłodu (*Steroids 2017, 128, 37-45*).

Wykazano również, że selen i EBR obniżają transport ZEA do komórek, utrzymując odpowiedni poziom jonów Mn^{2+} i Fe^{3+} (stosowano technikę elektronowego rezonansu paramagnetycznego), mają też wpływ na indukcję enzymów antyoksydacyjnych. Pokazano, że zmiana właściwości błon decyduje zarówno o pobieraniu toksyn jak i związków o charakterze protekcyjnym, u roślin odpornych i wrażliwych na ZEA *(Toxins 2017,9, 1-14).* Ponadto sugeruje się, że poza obniżeniem efektów stresu oksydacyjnego działanie protekcyjne EBR polega na zastępowaniu ZEA zaabsorbowanej na powierzchni błony (*J. Plant Growth Regulation 2018, doi. Org/10.1007/s00344-018-9792-0*).

Analizowano również, czy suplementacja roślin pszenicy selenem podczas wzrostu może zmieniać zarówno pobieranie jak i akumulację innych jonów w różnych organach. Nie wykazano większego wpływu, natomiast stwierdzono jego kumulację w nasionach zależną od stosowanego stężenia. Wyniki te mogą mieć znaczenie aplikacyjne *(Biologia Plantarum (2017) 58, 370-374).*

Badania te kontynuowano (praca wysłana do redakcji) i wykazano, że Se ma wpływ na syntezę węglowodanów i zwiększa pobieranie jonów Mo.

Aby lepiej poznać mechanizmy protekcyjnego działania selenu na błony biologiczne badania prowadzono na lipidach ekstrahowanych z plazmalemmy pszenicy z kultur *in vitro*, w warunkach działania mykotoksyny zearalenonu. Zastosowano filmy Langmuira stanowiące idealne modele błon biologicznych. Monowarstwy Langmuira pozwalają na badanie oddziaływań pomiędzy składnikami w błonie oraz interakcji składnik błony-substancja fizjologicznie czynna. Badania pozwoliły wykazać, że Se powoduje zmiany ułożenia cząsteczek wody wokół polarnej części lipidów i uniemożliwia wnikanie ZEA do warstwy lipidowej (*J. Membrane Biol. 2017; DOI 10.1007/s00232-017-9958-X*).

Kontynuacja tych badań pokazała, że powstające w wyniku przemian w komórkach pochodne ZEA w różny sposób oddziaływują na modelowe błony, ze względu na istniejące różnice strukturalne, a jony Mn przez stabilizację membran, obniżają wnikanie toksyn (praca wysłana do *Scientific Reports*).

Ilościowo dorobek publikacyjny dr A. Sieprawskiej można uznać za niezbyt duży, ale biorąc pod uwagę znaczenie przedstawionych interesujących i mało poznanych problemów, opublikowany dorobek naukowy Kandydatki można uznać za wystarczający w odniesieniu do wymogów toczącego się postępowania habilitacyjnego.

Wyrazem aktywności naukowej Kandydatki jest jej udział w krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych, na których opublikowała w materiałach konferencyjnych 24 komunikaty.

Za działalność naukowa w r. 2009 otrzymała małopolskie stypendium doktoranckie.

Pani dr A. C. Sieprawska realizowała swoje projekty naukowe z badaczami z innych jednostek naukowych, współpraca zaowocowała wspólnymi publikacjami. W trakcie pracy zawodowej dr Sieprawska odbyła dwa krótkie zagraniczne staże naukowe, w r. 2016 i 2017 w Helisinkach i r. 2017 w Czechach.

Habilitantka była w latach 2009/2019 wykonawcą w czterech grantach, do tego czasu nie kierowała własnym projektem. Habilitantka powinna zwiększyć starania o pozyskiwanie zewnętrznych środków na swoje badania.

Habilitantka podnosiła swoje kwalifikacje zawodowe uczestnicząc w r. 2018 w 2 stażach naukowych, miesięcznym w Katedrze Biologii Komórkowej i Molekularnej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (poznanie technik immunocytochemicznych, przygotowanie materiału do badań w mikroskopie świetlnym i elektronowym) oraz pięciomiesięcznym w Instytucie Fizjologii Roślin PAN w Krakowie (kultury *in vitro*).

Dorobek organizacyjny i dydaktyczny

Pani dr A. C. Sieprawska posiada cenną dla przyszłego samodzielnego pracownika naukowego umiejętność współpracy w zespołach badawczych. Realizowała swoje projekty naukowe z badaczami z innych jednostek naukowych, np. z Wydziału Chemii UJ, Katedry Fizjologii Roślin Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Zakładu Biofizyki UMCS w Lublinie oraz ośrodkami zagranicznymi w Czechach i Finlandii.

Habilitantka brała udział w pracach komitetu organizującego „Małopolski Festiwal Innowacji w r.2014. Była recenzentem dwóch prac dla czasopism np. *„Rice Science" i „Journal of the Science of Food and Agriculture"*.

Dr A. C. Sieprawska jest członkiem Komisji Rekrutacyjnej kierunku Ochrona Środowiska.

Bierze czynny udział w imprezach cyklicznych „Noc Naukowców", „Krakowski Festiwal Nauki". Habilitantka, uczestniczy w pracach na rzecz uczniów szkół podstawowych i licealnych prowadząc różnorodne warsztaty.

W sferze dydaktycznej dr Sieprawska zaangażowana była w bardzo różnorodne zajęcia dla studentów kierunków: Biologia, Chemia, Bioinformatyka, Ochrona środowiska studiów stacjonarnych i niestacjonarnych, I i II stopnia. Przykładowo niektóre tylko wymienię: „Biochemia", „Chemia fizyczna i organiczna", „Biotechnologia żywności", „Biologia roślin" ponadto pracownia magisterska i specjalizacyjna. W latach 2012/18 opiekowała się licznymi dyplomantami w Zakładzie: licencjatami (7

prac) i magistrantami (15 prac) na realizowanych kierunkach studiów. Ponadto recenzowała 4 prace licencjackie i 13 magisterskich. Habilitantka jest również autorem nowych zajęć dydaktycznych: "Analiza żywności" i „Biotechnologia żywności a sprawne funkcjonowanie komórek".
Habilitantka pełniła w latach 2011/13 funkcję opiekuna roku dla studentów kierunku „Biologia II" studiów niestacjonarnych, a od 2016 r. opiekuna roku dla studentów kierunku „Biologia I" studiów stacjonarnych.
Uwzględniając powyższe informacje dorobek organizacyjny i dydaktyczny Habilitantki oceniam wysoce pozytywnie.

W podsumowaniu chciałabym stwierdzić, że dorobek dydaktyczny, organizacyjny, popularyzacyjny Habilitantki, a także umiejętność współpracy naukowej spełnia wymagania ustawowe w odniesieniu do kandydatów ubiegających się o stopień naukowy doktora habilitowanego.
Omówione powyżej osiągnięcia naukowe dr A. C. Sieprawskiej pokazują, że wniosła on do nauki wiele cennych informacji poszerzających naszą wiedzę, tworzą one twórczy potencjał eksperymentalny. W mojej ocenie całokształt dorobku naukowego dr Apolonii C. Sieprawskiej upoważnia ją do starań o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Wniosek końcowy

Pod względem wagi dorobku naukowego przedstawionego jako osiągnięcie naukowe, w szczególności w kontekście wniesionego w jego wygenerowanie wkładu doświadczalnego i intelektualnego — zgodnie podkreślonego w oświadczeniach współautorów, dr Apolonia Cecylia Sieprawska spełnia wymagania ustawowe i zwyczajowe stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora habilitowanego. Również całkowity dorobek publikacyjny, organizacyjny i dydaktyczny uważam za wystarczający do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego. Dlatego też, biorąc pod uwagę powyższe argumenty, stwierdzam, że recenzowane osiągnięcie naukowe spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami) i może stanowić podstawę do nadania kandydatce stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.

Prof. dr hab. Elżbieta Romanowska

Warszawa, 23 październik 2019

KIEROWNIK
ZAKŁADU MOLEKULARNEJ FIZJOLOGII ROŚLIN
INSTYTUTU BOTANIKI
Wydziału Biologii
Uniwersytetu Warszawskiego
prof. dr hab. Elżbieta Romanowska