

Prof. dr hab. Henryk Pospieszny

Poznań, 28 stycznia 2019 r.

Poznań, 20 stycznia 2019 r.

Instytut Ochrony Roślin Państwowy Instytut Badawczy

60-318 Poznań, ul. W. Węgorka 20

**Ocena osiągnięcia naukowego oraz całokształtu dorobku doktora inżyniera
Włodzimierza Przewodowskiego w związku z postępowaniem w sprawie nadania
stopnia doktora habilitowanego w obszarze nauk w dziedzinie nauk rolniczych,
dyscyplinie agronomia**

Dane biograficzne

Dr inż. Włodzimierz Przewodowski jest absolwentem Wydziału Mechanicznego Politechniki Koszalińskiej. Tytuł magistra inżyniera z zakresu inżynierii żywności uzyskał na podstawie pracy pt. „ Identyfikacja jednorodności i tożsamości odmianowej ziemniaka przy pomocy markerów biochemicznych i genetycznych”. W okresie od września 2001 do czerwca 2005 r. odbył studia doktoranckie na Politechnice Koszalińskiej a we wrześniu 2007 r. w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie uzyskał stopień doktora nauk rolniczych na podstawie pracy pt. „ Opracowanie zestawów diagnostycznych do wykrywania *Clavibacter michinagensis* subsp *sepedonicus* – sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka. Promotorem obydwu prac był dr hab. Jerzy Lewosz. Od listopada 2009 r. Kandydat jest zatrudniony w IHAR na stanowisku adiunkta.

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego dr W. Przewodowski przedstawił osiągnięcia naukowe pt. „Opracowanie metod izolacji i identyfikacji wybranych, bakteryjnych patogenów kwarantannowych ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.)”. Na „Osiągnięcie” składają się cztery prace opublikowane w latach 2013 – 2017, w postaci jednej oryginalnej publikacji naukowej oraz trzech publikacji w formie patentów znajdujących się w bazach patentowych. Kandydat deklaruje, że w 100% jest pomysłodawcą i autorem patentów oraz w 80 % udział w publikacji naukowej, co nie rodzi wątpliwości co do wkładu Kandydata w przedstawione osiągnięcie naukowe. Sumaryczny IF oraz punkty MNiSW dla osiągnięcia naukowego odpowiednio wynoszą: 3.535 i 110 (dla 2013 r.) lub 125 (dla 2016 r.). Charakter

publikacji (patenty), ograniczony obszar zainteresowania i późny czas publikacji pracy naukowej (rok 2017) nie sprzyjają liczbie cytowań i indeksowi Hirscha, stąd wskaźniki naukometryczne są niskie. Przedstawiony do oceny dorobek naukowy wydaje się być nietypowy w porównaniu z najczęściej spotykanymi. Dla mnie jest do zaakceptowania i określam go jako naukowo-technologiczny. Badania poznawcze i aplikacyjne nie wykluczają się wręcz przeciwnie wzajemnie się wspierają i weryfikują. W Polsce badania aplikacyjne są poważnym niedostatkiem, co można sprawdzić w Narodowym Centrum Badań i Rozwoju. Każdy kto miał do czynienia z patentami doświadczył ile trzeba wnieść wkładu i umiejętności, szczególnie jeżeli się to wykonuje samemu, jak w tym przypadku. Poza tym jeżeli nie instytuty rolnicze to kto ma prowadzić badania aplikacyjne dla rolnictwa. Prezentowane osiągnięcie naukowe mają szczególny charakter naukowo-technologiczny, którego raczej nie można sprzedać, trzeba je wdrożyć do roślinnych służb fitosanitarnych, celem rozwiązania bardzo ważnego problemu zdrowotnego ziemniaka w Polsce. O ważności problematyki świadczy fakt, że dokonane analizy w latach 2001 – 2015 przez Państwowy Inspektorat Ochrony Roślin i Nasiennictwa wykazały obecność bakteriozy pierścieniowej ziemniaka (Cms) we wszystkich województwach. To przekłada się na blokadę wymiany bulw ziemniaka w obrocie międzynarodowym. Najskuteczniejszym sposobem ochrony przed rozprzestrzenianiem się bakteriozy pierścieniowej i innych patogenów, szczególnie kwarantannowych jest stosowanie zdrowego, wolnego od bakterii materiału sadzeniakowego, szybka likwidacja ognisk chorobowych i stosowanie higieny w całym procesie produkcji oraz przechowywania bulw. Dotąd, nie były dostępne metody diagnostyczne jednoznacznie i wiarygodnie potwierdzające obecność i patogeniczność bakterii Cms. Na to składa się kilka powodów: (i) zróżnicowanie bakterii Cms pod względem ilości i zawartości wytwarzania przez nie śluzów, (ii) braku w pełni selektywnych podłoży mikrobiologicznych do namnażania i uzyskania Cms bez obecności innych mikroorganizmów środowiskowych, (iii) brak skutecznej metody izolacji bakterii Cms, pozwalającej na zachowanie żywotności bakterii oraz usunięcie wszelkie zanieczyszczenia znajdujące się w pobranej próbce, (iv) ograniczenie stosowania molekularnych metod diagnostycznych ze względu na brak odpowiedniej techniki izolacji materiału genetycznego z prób środowiskowych i ryzyko uzyskania wyników fałszywie negatywnych. Inaczej mówiąc, wąskim gardłem diagnostyki jest kontaminacja prób pobranych z roślin, gleby i wody. Powyższe problemy stały się celami badań przedstawionych w osiągnięciu naukowym. Pierwszą, chyba najistotniejszą częścią ocenianego osiągnięcia naukowego, oznaczoną jako **H1** i opisaną w publikacji naukowej, jest opracowanie wytwarzania nowego rodzaju, wysoce specyficznych i czułych poliklonalnych przeciwciał

przeciwko bakterii Cms oraz zdolnych do ich wykrywania niezależnie od stopnia wytworzonego przez nie ilości śluzów (od stopnia mukoidalności). Przeciwciała te są nie tylko wykorzystywane bezpośrednio w immunologicznych testach diagnostycznych do identyfikacji bakterii ale także w konstrukcji immunosorbentów do specyficznego wychwytywanie (pułapkowanie) bakteriozy pierścieniowej ziemniaka w różnych zestawach i metodach badawczych, w molekularnych włącznie. Istota osiągnięcia polega tym, że przed immunizacją królika antygenem czyli komórkami bakteryjnymi. usuwa się śluz z ich powierzchni przy pomocy odpowiednio dobranych roztworów przemywających. Śluzy produkowane przez bakterie w znacznym stopniu składają się z polisacharydów o właściwościach immunogennych, co obniża specyficzność przeciwciał. Warunki przygotowania zawiesiny komórek bakterii Cms Kandydat opisał w publikacji naukowej będącej częścią osiągnięcia naukowego. Na tak przygotowany antygen czyli komórki bakteryjne Cms, w możliwie dużym zakresie pozbawione śluzów otrzymano przeciwciała specyficzne względem Cms, bez względu na stopień ich mukoidalności i niereaktywne z innymi patogenami ziemniaka. Badania porównawcze opracowanych przez Kandydata przeciwciał poliklonalnych skierowanych przeciwko Cms wykazały lepsze efekty niż z dostępnymi komercyjnymi (Loewe, Agdia, Adgen). Przykładowo, zestawy poliklonalnych przeciwciał firmy Loewe nie wykrywały 5 z pośród 29 badanych szczepów bakteryjnych i wykrył tylko jeden szczep z grupy niemukoidalnych . Uzyskane wyniki badań udoskonaliły obecnie stosowane testy immunodiagnostyczne ale także wniosły nowe elementy do dalszego doskonalenia technik serologicznych i serologiczno-molekularnych do wykrywania bakterii skrajnie zróżnicowanych mukoidalnie. Poza tym przeciwciała wysoce specyficzne mogą być wykorzystane do izolacji (wyłapywanie, pułapkowanie) bakterii Cms z prób środowiskowych. Problematyka ta jest przedmiotem trzech opracowań patentowych.

Wynalazek opisany w osiągnięciu naukowym, w części oznaczonej jako **H2**, dotyczy zastosowania membran poliwęglanowych opłaszczonych miejscowo przeciwciałami. Zasada działania takiej membrany tzw. filtrowanie polega na tym, że z naniesionej na nią soku roślinnego lub buforowanej zawiesiny z gleby, na powierzchni membrany specyficznie zatrzymane zostają żywe bakterie a inne zanieczyszczenia zostają przefiltrowane przez pory membrany. Aby otrzymać taki efekt należało, po pierwsze, opracować odpowiednie warunki buforowe aby przeciwciała skutecznie wiązały się bakteriami i zarazem zachowały ich żywotność, po drugie, podniesienie reaktywności membrany poliwęglanowej przy pomocy aniliny bogatej w grupy aminowej, celem wzmocnienia wiązania się bakterii Cms z

przeciwciałami. Ważną zaletą tego opracowania jest szybkie i selektywne skoncentrowanie komórek bakteryjnych z dużej objętości próby, co zwiększa czułość wykrywania i identyfikacji bakterii. Bakterie Cms skoncentrowane na membranie, można bezpośrednio analizować pod mikroskopem, po ich wcześniejszym wybarwieniu barwnikiem fluoroscencyjnym.

Kolejny opracowanie patentowe w ramach osiągnięcia naukowego, oznaczone jako **H3** stanowi zestaw do przyżyciowego pozyskiwania i identyfikowania bakterii z prób o dużej objętości. Proces ten składa się z następujących etapów: (i) na małą część powierzchni dennych naczyń inkubacyjnych nanosimy przeciwciała przeciwko Cms. Aby uniknąć kontaminacji powierzchni naczyń inkubacyjnych zanieczyszczeniami należy stosować naczynia z materiałów nisko reaktywnych chemicznie (polistyren, polietylen, szkło); (ii) Celem uzyskania jak największej efektywności przeciwciał w wyłapywaniu bakterii należy je ukierunkować (immobilizować) przez oksydację ich grup karboksylowych oraz kowalentne wiązanie z grupami aminowymi polimeru poprzez redukcję/stabilizację wiązań przy pomocy NaCNBH_4 . (iii) Tak przygotowane naczynia zalewamy badanymi próbkami potencjalnie zawierające bakterie i inkubujemy przez odpowiedni czas w temp. pokojowej lub w 36°C . Następnie zawiesinę zlewamy i płuczemy naczynie. Wyżej opisane działania to znacznie zwiększyły czułość reakcji i skróciły czas analizy. (iv) Zoptymalizowane warunki buforowe oraz usuwanie (desorpcja) z powierzchni immunosorbentu (naczynia) przy pomocy silnie alkalicznego buforu (np. 0,1M glicyna-NaOH, pH 10,5) pozwalają pozyskać żywe komórki bakterii. Zawiesinę komórek bakteryjnej można posiać na pożywkę lub użyć bezpośrednio do diagnostyki. Zestaw ten jest szczególnie przydatny do pozyskiwania bakterii z prób o dużej objętości takich jak woda środowiskowa i z przemywania gleby oraz ekstrakty z bulw i nie wymaga specjalnej aparatury.

Ostatnią częścią osiągnięcia naukowego jest wynalazek opisany w patencie oznaczonym jako **H4**. Krótko mówiąc, jest to zestaw do pozyskiwania żywych bakterii bakteriozy bulw ziemniaka Cms) z dużej objętości i silnie zanieczyszczonych prób (ekstraktów) przy pomocy mikrokulistycznych sorbentów opłaszczonych przeciwciałami (gammaglobulinami). Już wcześniej jako podłoże do immunosorbentów stosowano dekstran, powszechnie używany w chromatografii kolumnowej jako Sephadex. Mankamentem dekstranu było zbyt długie zawieszanie się w zawieszynie o wysokiej gęstości i silnym zanieczyszczeniu. Istotą tego wynalazku jest to, że opracowano sposób chemicznej modyfikacji dekstranu (poprzez aminosilanizację, aktywację aldehydem glutarowym i chitozanem lub aminocysteiną) oraz kowalencyjnego osadzenia koloidu złota i przeciwciał. Szczególną uwagę należy zwrócić na zastosowanie koloidów złota, które pozwoliły na zwiększenie powierzchni sorbcyjnej,

ustabilizowanie przeciwciał oraz zwiększenie ciężaru mikrosfer dekstranu. Bakterie skoncentrowane na powierzchni mikrokulistych sorbentów mogą być identyfikowane bezpośrednio na nich technikami immunologicznymi lub posiane ich na mikrobiologiczne podłoże i po namnożeniu się mogą być identyfikowane dowolną techniką diagnostyczną.

Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego, stwierdzam, że ma ono znaczący wpływ na rozwój badań nad diagnostyką chorób bakteryjnych ziemiaka.

Ocena całkowitego dorobku naukowego, aktywności badawczej, współpracy naukowej

Dr inż. W. Przewodowski w swoim dorobku naukowym po doktoracie posiada 18 oryginalnych prac twórczych, w tym 4 zostały opublikowane w bazie Journal Citation Reports (JCR), z tego 3 opublikowano po uzyskaniu stopnia doktora. Łączny impact factor prac wynosi 6.7, a indeks Hirscha 1. Do tego dorobku naukowego, należy doliczyć 10 patentów krajowych i 2 międzynarodowe, w większości których Kandydat jest jedynym autorem. Patenty potwierdzają oryginalność prowadzonych przez Niego badań i zgłoszonych wynalazków. Jestem przekonany (z autopsji), że publikacje naukowe i patenty są co najmniej w równym stopniu są czołowe i pracochłonne oraz także podlegają ocenie przez specjalistów. MNiSW podobnie jak publikacje naukowe także patenty wartościuje przez przyznawanie im odpowiedniej ilości punktów, i w tym kontekście łączna liczba punktów MNiSW dla całkowitego dorobku naukowego wynosi ponad 600, z czego 575 przypada na okres po doktoracie.

Dr Przewodowski bardzo aktywnie popularyzuje wyniki badań na różnych poziomach: od publikowania prac popularno-naukowych (9), przez prezentowanie wyników na krajowych (18) i międzynarodowych konferencjach naukowych (10), do prezentowania ich na międzynarodowych targach (USA) i krajowych spotkaniach.

Mocną stroną Kandydata jest duża umiejętność zdobywania środków na badania z różnych źródeł. Kierował 6. projektami badawczymi uzyskanymi na zasadach konkursowych, w tym finansowanymi przez Narodowe Centrum Nauki (NCN), Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR), Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka, oraz trzema z innych źródeł, także był wykonawcą w 3. projektach krajowych i w jednym międzynarodowym (6 Program Ramowy UE).

Habilitant wykazuje dużą aktywność międzynarodową. W latach 2004 – 2005, odbył 11 miesięczny staż naukowy w ramach Programu Leonardo da Vinci w firmie biotechnologicznej

Sartorius (Niemcy), gdzie nabył dużo umiejętności w tworzeniu i modyfikacji membran filtracyjnych, co wykorzystał między innymi w opracowaniu habilitacyjnego osiągnięcia naukowego. Jako członek uczestniczy w działalności sześciu sieci naukowych takich jak: Particle technology, Polymer nanoparticles Network group, Horizon 2020 network of researchers, Top 500 Innovators, LIDER NCBiR i Research & Innovation w ramach programu INTERREG EUROPA 2014-2020. Jest także członkiem 3 międzynarodowych organizacji naukowych: Nanotechnology World Association, American Phytopathology Society i Potato Association of America.

Interdyscyplinarny i niekiedy bardzo specyficzny charakter badań prowadzonych przez dr W. Przewodowskiego, często wymagają posiadanie różnych zezwoleń do prowadzenia niektórych z nich, np. nad patogenami kwarantannowymi z zwierzętami laboratoryjnymi i in. Mobilizowało to Kandydata do stałego poszerzania i podnoszenia swojej wiedzy i umiejętności, poprzez udział w 16 różnych krajowych i zagranicznych kursach szkoleniowych. Dzięki nabyciu odpowiednich umiejętności i przygotowania miejsca pracy uzyskał 7 zezwoleń, które wręcz umożliwiły Mu prowadzenie niektórych badań.

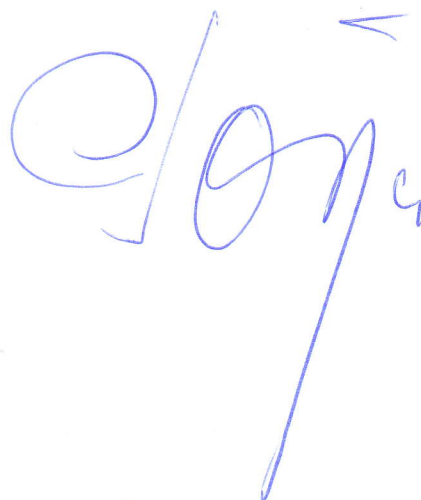
Pomimo, że Habilitant jest pracownikiem instytutu bliska Mu jest szeroko pojęta dydaktyka. W latach 2001 – 2005 jako doktorant Studiów Doktoranckich prowadził dla nich zajęcia dydaktyczne na Politechnice Koszalińskiej. Później już jak pracownik IHAR opiekował się studentami z Politechniki Koszalińskiej w czasie ich szkoleń i wykonywania prac magisterskich. Kandydat wykazuje dużą aktywność szkoleniową dla producentów i pracowników PIORiN. Obecnie jest promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim.

Dr. W. Przewodowski za działalność naukową otrzymał następujące wyróżnienia i nagrody: Brązowy Krzyż Zasługi, dwukrotnie nagrodę Dyrektora IHAR PIB, wyróżnienie „Fundusze i Nauka” za realizację projektu w Programie Operacyjnym Innowacyjna Gospodarka, Tytuł „Jakość Roku 2010” przyznany przez specjalistów Polskiego Centrum Badań i Certyfikacji.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu przedstawionej przeze mnie oceny osiągnięcia naukowego, będącego podstawą habilitacji oraz całościowej aktywności naukowej i pozostałych osiągnięć (współpraca zagraniczna, dorobek dydaktyczny i popularyzatorski) Pana Dr inż. Włodzimierza

Przewodowskiego, stwierdzam, że dorobek Habilitanta odpowiada wymogom stawianym kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego i spełnia kryteria określone w ustawie z 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 , z późniejszymi zmianami). Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie o nadanie Dr inż. Włodzimierzowi Przewodowskiemu stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie agronomia.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'G. G. G.' with a long vertical stroke extending downwards from the final 'G'.