

Warszawa, 20.08.2021

Dr hab. Mariusz Lewandowski, prof. uczelni
Nauki rolnicze, dyscyplina rolnictwo i ogrodnictwo
Katedra Ochrony Roślin
Instytut Nauk Ogrodniczych
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Recenzja osiągnięcia naukowego pt.:

„Doskonalenie molekularnych technik diagnostycznych do identyfikacji kwarantannowego
nicienia węgorka sosnowca *Bursaphelenchus xylophilus* na tle innych, występujących w drewnie
niepatogenicznych nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*”

oraz dorobku naukowego

dr inż. Anny Filipiak

z Instytutu Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu,

ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo

wykonana na zlecenie Rady Instytutu Ochrony Roślin Państwowy – Instytut Badawczy w
Poznaniu

Recenzja została przygotowana w oparciu o Uchwałę Nr 287/X Rady Naukowej Instytutu Ochrony
Roślin - Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu z dnia 17 czerwca 2021 r. w sprawie
powołania komisji habilitacyjnej w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora
habilitowanego dr. inż. Annie Filipiak.

Najważniejsze fakty z życiorysu naukowego Habilitantki

Pani dr inż. Anna Filipiak w roku 2005 ukończyła studia na Wydziale Rolniczym, Akademii
Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu. Prace magisterską pt. „Degradacja atrazyny
przez tlenowe oraz beztlenowe mikroorganizmy ryzosfery tataraku zwyczajnego (*Acorus calamus*
L.)” wykonała pod kierunkiem dr Pawła Króliczaka. Bezpośrednio po studiach rozpoczęła prace
w Instytucie Ochrony Roślin – Instytut Badawczy w Poznaniu, najpierw w ramach umowy zlecenie
w Zakładzie Herbológii i Techniki Ochrony Roślin, a następnie Zakładzie Biologicznych Metod i

Kwarantanny, gdzie w 2006 roku została zatrudniona na umowę o pracę na stanowisku inżyniera, a następnie asystenta. W 2012 roku na podstawie rozprawy doktorskiej pt: „Ekologia, patogeniczność oraz genetyczna odmienność nicienia *Bursaphelenchus mucronatus* od innych, występujących w Europie gatunków z grupy *B. xylophilus*”, której promotorem był prof. dr hab. Marek Tomalak, uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii. Od 2012 roku dr inż. Anna Filipiak jest zatrudniona w Zakładzie Biologicznych Metod i Kwarantanny, Instytutu Ochrony Roślin - Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu.

Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego jednotematyczny cykl publikacji

Osiągnięcie habilitacyjne dr inż. Anny Filipiak, stanowi monotematyczny cykl prac pt.: „Doskonalenie molekularnych technik diagnostycznych do identyfikacji kwarantannowego nicienia węgorka sosnowca *Bursaphelenchus xylophilus* na tle innych, występujących w drewnie niepatogenicznych nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*”, które składa się z siedmiu artykułów naukowych o charakterze doświadczalnym, opublikowanych w pięciu czasopismach uwzględnionych w bazie JCR oraz jednej pracy nieposiadających współczynnika IF. W skład osiągnięcia naukowego wchodzi artykuły naukowe opublikowane zarówno w czasopismach naukowych, ujętych w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b p.s.w.n., jak i prace opublikowane w czasopismach naukowych, które były ujęte w części A wykazu czasopism naukowych ustalonego na podstawie przepisów wydanych na podstawie art. 44 ust. 2 ustawy uchylanej w art. 169 pkt 4 i ogłoszonego komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. lub były ujęte w części B tego wykazu, którym przyznanych było, co najmniej 10 punktów. Zgodnie z art. 179 ust. 6, ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. przepisy wprowadzające ustawę prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Pomimo iż wniosek o nadanie stopnia doktora habilitowanego został złożony po dniu 30 kwietnia 2019 roku, artykuły te mogą być zaliczone do osiągnięcia naukowego. W związku z powyższym, przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dr inż. Anny Filipiak spełnia wymagania formalne zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt 2 p.s.w.n. Sumaryczny Impact Factor publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, uwzględniając rok publikacji, wynosi 9,286, natomiast liczba MNiSW, zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 430, co stawia dobry dorobek pod względem wskaźników bibliometrycznych.

Osiągnięcie naukowe Habilitantki w formie siedmiu publikacji naukowych, które w większości ukazały się w renomowanych czasopismach naukowych, to grupa spójnych tematycznie opracowań dotyczących identyfikacji kwarantannowego gatunku nicienia węgorek sosnowiec (*Bursaphelenchus xylophilus*). W ramach tego cyklu można wyróżnić trzy główne kierunki badawcze: i) opracowanie skutecznych i precyzyjnych metod do wykrywania i identyfikacji węgorka sosnowca, a także innych blisko z nim spokrewnionych gatunków, przy wykorzystaniu molekularnych technik diagnostycznych; ii) ocenę zróżnicowania genetycznego oraz stopnia patogeniczności szczepów węgorka sosnowca względem sosny, a także wykazanie zależności pomiędzy reprodukcją różnych szczepów tego szkodnika, a ich zdolnością do powodowania zamierania roślin; iii) wykrycie i scharakteryzowanie pierwszej spontanicznej mutacji Roller u węgorka sosnowca, warunkującej powstanie łatwego do odróżnienia fenotypu mutantów tego nicienia oraz wykorzystanie tej mutacji, jako markera umożliwiającego śledzenie procesów wewnątrz- i międzygatunkowego krzyżowania się węgorka sosnowca z niepatogenicznym nicieniem *B. mucronatus*.

Pierwszy z kierunków badawczych, dotyczący opracowanie skutecznych i precyzyjnych metod wykrywania i identyfikacji węgorka sosnowca, realizowany był poprzez badania zaprezentowane w trzech artykułach naukowych. W pracy pt.: "The use of real-time polymerase chain reaction with high resolution melting (real-time PCR-HRM) analysis for the detection and discrimination of the quarantine nematode *Bursaphelenchus xylophilus* and *Bursaphelenchus mucronatus*" autorzy zaprezentowali możliwości precyzyjnego odróżnienia populacji węgorka sosnowca od najbardziej podobnego morfologicznie gatunku *B. mucronatus*. Do potrzeb projektu, wykorzystali oni techniką real-time PCR – High Resolution Melting (real-time PCR–HRM), bazującą na analizie topnienia produktu PCR. Na podstawie rDNA (18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S) zaprojektowali dla tych dwóch gatunków nicieni specyficzne startery, pozwalające na amplifikację fragmentów o wielkości 107 pz, a także wyznaczyli najbardziej efektywną parę starterów. Na podstawie analizy krzywej topnienia produktów reakcji wykazali obecność pojedynczych, różniących się produktów amplifikacji dla populacji *B. xylophilus* i *B. mucronatus* genotypu europejskiego, a także dwóch produktów dla genotypu wschodnio-azjatyckiego, co pozwala na identyfikację tych gatunków na podstawie DNA pojedynczych osobników, niezależnie od ich stadium rozwojowego. Watro podkreślić, że w pracy tej określono również najniższą koncentrację DNA, wynoszącą 500 fg/μl, która pozwala na wykrywanie tych gatunków nicieni przy

wykorzystaniu techniki real-time PCR–HRM. Za ważne osiągnięcie należy uznać potwierdzenie, że dzięki stwierdzeniu pojedynczych zmian nukleotydowych, technika ta jest bardzo efektywną metodą wykrywania i identyfikacji węgorka sosnowca, będącego groźnym i ważnym gospodarczo szkodnikiem sosny. Ponadto zgodnie z informacjami podanymi w publikacji, metoda ta jest tańsza od innych tego typu metod, ze względu na brak konieczności użycia specyficznych sond oraz mniejszą pracochłonność i większą dokładność. Wkład Habilitantki w realizację prezentowanych badań jest znaczący, gdyż udział współautora pracy ograniczał się jedynie do konsultacji wyników i współtworzeniu manuskryptu.

Kontynuując ten kierunek badawczy, w kolejnej publikacji pt.: „Multiplex polymerase chain reaction for simultaneous detection and identification of *Bursaphelenchus xylophilus*, *B. mucronatus* and *B. fraudulentus* – three closely related species within the *xylophilus* group” Habilitantka prezentuje możliwości wykorzystania kolejnej metody do jednoczesnego wykrywania i identyfikacji trzech gatunków nicieni z grupy *xylophilus*. Stworzenie tej metody było zasadne z powodu coraz częstszego wykrywania w Polsce kolejnego gatunku należącego do tej grup, *B. fraudulentus*. W ramach tych badań, Habilitantka w raz z zespołem, wykorzystwała metodę multipleks PCR, umożliwiającą wykrywanie tych trzech gatunków nicieni podczas jednej reakcji PCR. Nowatorskość zastosowania tej metod polegała na wytypowaniu mutacji w regionie rDNA nicieni *B. xylophilus*, *B. mucronatus* oraz *B. fraudulentus*, które pozwalały na odróżnienie ich od siebie, a także na zaprojektowanie trzech specyficznych starterów dla każdego z tych gatunków nicieni i jednego uniwersalnego. Taki zestaw starterów, pozwolił na uzyskanie na żelu agarozowym tylko jednego produktu, o różnej wielkości dla każdego z badanych gatunku nicieni. Co ważne, zaprojektowane startery nie pozwalały na uzyskanie produktu dla innych badanych gatunków nicieni. Istotnym wkładem w rozwój metod identyfikacji węgorka sosnowca i odróżniania go od innych powszechnie występujących gatunków, należy uznać stworzenie i ocenę skuteczności zestawu starterów umożliwiających wykrywanie tych nicieni w czasie jednej reakcji oraz stworzenie protokołu prowadzenia takiej analizy. Bardzo istotny jest fakt, że metoda ta jest bardzo czuła i pozwala na wykrycie i identyfikację pojedynczych osobników, bez względu na stadium rozwojowe, dzięki czemu może ona być bardziej przydatną metodą wykrywania kwarantannowego szkodnika *B. xylophilus* niż dotychczas stosowanej techniki. Należy zaznaczyć, że koncepcja pracy, zaplanowanie metodyki badań, jak również opracowanie wyników i tworzenie

manuskryptu były wykonane głównie przez Habilitantkę. Udział współautorów ograniczał się do konsultacji metodyki i uzyskanych wyników, jak również współtworzenia manuskryptu.

Kolejnym krokiem w badaniach dotyczących doskonalenia technik wykrywania i identyfikacji węgorka sosnowca było udoskonalenie metody multiplex PCR, poprzez wykorzystanie techniki multiplex real-time PCR. Modyfikacja ta zwiększyła czułości i szybkości wykrywanych nicieni w próbach drewna, bez konieczności przeprowadzania rozdzału elektroforetycznego. Wyniki tych badań zaprezentowano w publikacji pt.: “A fast and sensitive multiplex real-time PCR assay for simultaneous identification of *Bursaphelenchus xylophilus*, *B. mucronatus* and *B. fraudulentus* – three closely related species from the *xylophilus* group”. W trakcie tych badań zaprojektowano nowe, uniwersalne startery dla trzech uprzednio badanych gatunków nicieni i podobnie jak we wcześniejszej pracy, przetestowano je na czterech innych gatunkach. W kolejnym etapie, zaprojektowano trzy specyficzne sondy TagMan dla *B. xylophilus*, *B. mucronatus* oraz *B. fraudulentus*, które po wprowadzeniu do mieszaniny reakcyjnej umożliwiły precyzyjne zidentyfikowanie i odróżnienie od siebie badanych gatunków. Uzyskane wyniki potwierdzają wysoką skuteczność zaprojektowanych starterów oraz specyficznych sond w identyfikacji tych nicieni. Podobnie, jak w przypadku techniki multiplex PCR, opracowana technika multiplex real-time PCR również pozwala na jednoczesne wykrywanie tych trzech gatunków nicieni występujących w próbce drewna, jednak technika multiplex real-time PCR cechuje się zdecydowanie większą czułością oraz mniejszą czasochłonnością. O znaczeniu przeprowadzonych badań, pozwalających na opracowanie tej metody, świadczy fakt włączenia jej przez Europejską Organizację Ochrony Roślin (EPPO) do protokołu diagnostycznego, jako jeden ze standardów diagnostycznych obowiązujących we wszystkich krajach Europy do identyfikacji kwarantannowego nicienia węgorka sosnowca (EPPO Bulletin (2021). Diagnostics PM 7/4 (4) *Bursaphelenchus xylophilus*). Podobnie jak w przypadku poprzedniej pracy, wkład Habilitantki należy uznać za znaczący, gdyż większość czynności związanych z prowadzonymi badaniami wykonywała ona samodzielnie, a udział współautorów ograniczał się do konsultacji i tworzenia manuskryptu.

Kolejny kierunkiem badań, których wyniki Habilitantka zaprezentowała w dwóch artykułach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, koncentrował się na zmienności genetycznej i patogeniczności różnych szczepów węgorka sosnowca, a także określeniu zależności pomiędzy reprodukcją różnych szczepów tego szkodnika, a ich zdolnością do powodowania zamierania

roślin. W pierwszej pracy, której Habilitantka jest jedynym autorem, pt.: “Pathogenicity of selected isolates of the quarantine pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* to Scots pine (*Pinus sylvestris* L.)” porównała ona patogeniczności oraz reprodukcję pięciu populacji węgorka sosnowca pochodzących z różnych rejonów Japonii, inokulując w sztucznych warunkach 3-letnie siewki sosny zwyczajnej. Pani doktor wykazała, że stopień zamierania siewek zależy od badanego izolatu. Trzy z badanych izolatów powodowały znaczą, dochodzącą do 100%, śmiertelność roślin już po dwóch miesiącach od inokulacji, natomiast dwa izolaty nie powodowały żadnych objawów chorobowych na roślinach. Uzyskane przez Habilitantkę wyniki potwierdziły dotychczasowe doniesienia dotyczące patogeniczności różnych ras węgorka sosnowca. Warto dodać, że Habilitantka wykazała zależność pomiędzy wirulencją poszczególnych izolatów węgorka sosnowca a szybkością ich reprodukcji. O ile podobne doniesienia można znaleźć w literaturze z tego zakresu, to za ważną należy uznać stwierdzenie występowania w środowisku niepatogenicznych izolatów tego nicienia, co wskazuje, że brak objawów typowych dla żerowania nicienia, nie zawsze świadczy, że rośliny są wolne od tego szkodnika.

Wykorzystując wyniki badań prezentowane w powyższej pracy oraz doniesienia literaturowe, Habilitantka określiła zróżnicowanie genetyczne badanych izolatów, a wyniki tych badań zamieszczone zostały w wieloautorskiej pracy pt.: “Molecular variation among virulent and avirulent strains of the quarantine nematode *Bursaphelenchus xylophilus*”. W badanych tych autorzy wykorzystali cztery izolaty węgorka sosnowca, pochodzące z Japonii i Portugalii, o znanej patogeniczności w stosunku do roślin żywicielskiej. W celu określenia zmienności genetycznej wirulentnych i awirulentnych populacji, przy zastosowaniu techniki NGS, zsekwencjonowali oni DNA osobników pochodzących z tych populacji, a następnie, przeprowadzili porównanie i analizę kompletnych sekwencji genomów jądrowych. Analiza ta wykazała istnienie niemal dwukrotnie większej liczby wariantów sekwencji uzyskanych z populacji awirulentnych, w tym wariantów o tzw. dużym wpływie (high impact variants), które mogą mieć wpływ na struktury i funkcje białek. Co bardzo istotne, autorzy zidentyfikowali również geny związane z wariantami o dużym wpływie dla każdej z czterech badanych populacji węgorka sosnowca i przeprowadzili adnotację funkcjonalną w celu przypisania im funkcji molekularnych, procesów biologicznych i składników komórkowych. Stwierdzili, że populacje awirulentne cechują się większą liczbą takich funkcji. Ważnym osiągnięciem autorów było stwierdzenie, że populacje wirulentne wykazują wyższą nadreprezentację aktywności oksyreduktazy oraz procesów utleniania-redukcji, co wpływa na ich

wyższa tolerancje na stres oksydacyjny wytwarzany, jako reakcja obronna rośliny. Wyjaśnia to, dlaczego wirulentne szczepy węgorka sosnowca zdolne są przewyciężyć mechanizm obronny rośliny, a następnie migrować i rozmnażać się. Równie istotne jest wskazanie, że wśród wyróżnionych funkcji awirulentnych populacji węgorka sosnowca, są m. in. aktywność metaloendopeptydazy, aktywność endopeptydazy typu asparaginowego i aktywność hydrolazy, które w istotny sposób wpływają na utratę funkcji poszczególnych szczepów, co w konsekwencji prowadzi do ograniczenia rozwoju w skutek niskiej aktywności pobierania pokarmu.

Za duży wkład autorów w rozwój wiedzy na temat tego groźnego szkodnika należy uznać wykazanie różnic genetycznych między wirulentnymi i awirulentnymi populacjami węgorka sosnowca, co może być ważne przy opracowywaniu metod diagnostycznych pozwalających na identyfikację poszczególnych szczepów tego szkodnika. Biorąc pod uwagę, że cechują się one różnym poziomem patogeniczności, prawidłowa ich identyfikacja wydaje się być kluczowa w ograniczaniu rozprzestrzenienia się tego szkodnika. Warto również podkreślić znaczenia prezentowanych wyników dla lepszego zrozumienia molekularnego mechanizmu rozwoju choroby więdnienia sosny. Większość prac związanych z przeprowadzaniem niniejszych badań oraz ich publikacja była wykonana przez Habilitantkę. Udział współautorów ograniczał się do współpracowaniu analiz biochemicznych, konsultacji uzyskanych wyników oraz tworzenia manuskryptu.

Trzecim kierunkiem badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego dr inż. Anny Filipiak były badania dotyczące wykrycia i scharakteryzowanie pierwszej spontanicznej mutacji Roller u węgorka sosnowca oraz jej wykorzystanie, jako markera umożliwiającego śledzenie procesów wewnątrz- i międzygatunkowego krzyżowania się osobników tego gatunku z niepatogenicznym nicieniem *B. mucronatus*. Wyniki tych badań zaprezentowane zostały w dwóch, dwuautorskich pracach, w których Habilitantka wskazana jest jako drugi autor. W pierwszej zatytułowanej „A spontaneous Roller mutation in *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer, 1934) Nickle, 1970 (Nematoda: Aphelenchoididae)”, autorzy prezentują wyniki badań dotyczące odkrycia w kulturze płytkowej izolatu pochodzącego z Portugalii, osobników o spiralnym skręcie wokół osi podłużnej ciała. Wykorzystując techniki molekularne potwierdzili, że nietypowy wygląd tych osobników jest efektem mutacji. Ponadto scharakteryzowali mutanty pod względem morfologiczno-anatomicznym oraz behawioralnym, a także określili ich potencjał reprodukcyjny w stosunku do naturalnej populacji rodzicielskiej. Podobne mutacje obserwowane były u innych

bakteriożernych oraz entomopatogenicznych nicieni, jednak ta została odnotowana po raz pierwszy u węgorka sosnowca. Za istotny wkład w rozwój nauki należy ponadto uznać stwierdzenie, że fenotyp mutantów związany jest ze zmianami w jednym genie, a mutacja ta nie ma negatywnych skutków na reprodukcję i żywotność nicieni. Bardzo istotne było również wykazanie, że jest to mutacja recesywna, a allele *Bxy-rol(tom3)*, powodujące zmiany morfologiczne, są łatwo przenoszone do innych odległych geograficznie izolatów węgorka sosnowca, co może być istotne dla przyszłych badań populacyjnych. Autorzy wskazują ponadto, że mutanty były dobrze przystosowane do życia i rozwoju w drewnie sosny, gdzie przemieszczały się wewnątrz rośliny i tworzyły pokolenia potomne, patogeniczne dla roślin żywicielskich.

Druga z prac prezentująca doniesienia dotyczące wykrytej mutacji, pt.: „Effects of interspecific crossbreeding between invasive pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* and native *B. mucronatus* on morphology and reproduction of hybrid offspring”, wskazuje na możliwość wykorzystania mutacji *Bxy-rol(tom3)*, jako morfologicznego markera w badaniach dotyczących hybrydyzacji wewnątrz- i międzygatunkowej między inwazyjnym węgorkiem sosnowcem i rodzimym dla Eurazji, gatunkiem *B. mucronatus*. Zdolność krzyżowania się tych dwóch gatunków została wcześniej opisana, jednak doniesienia literaturowe nie potwierdzają jednoznacznie takiej możliwości. W zależności od źródła, podawane są informacje o pełnej zgodności do krzyżowania się bez uzyskiwania płodnego potomstwa w pokoleniu F1, do całkowitego braku możliwości krzyżowania się tych dwóch gatunków. W celu zbadania tego zjawiska autorzy wykorzystali mutanty węgorka sosnowca, które krzyżowane były z rodzimym gatunkiem. Stworzyli oni schemat krzyżowań grupowych, który pozwalał na łatwe wykrywanie, wśród wielotysięcznych populacji osobników pokolenia F1 prezentujących fenotyp rodzicielski samicy (Roller), stosunkowo rzadkich hybryd międzygatunkowych o fenotypie non-Roller. Ponadto, stosując wcześniej opracowaną metodę, bazującą na technice multipleks PCR, w łatwy sposób byli oni w stanie identyfikować genom pojedynczych osobników potomstwa krzyżówek. Pozwoliło to na jednoznacznie potwierdzenie obecności hybryd międzygatunkowych w kolejnych pokoleniach krzyżówek *B. xylophilus* i *B. mucronatus*. Bardzo istotne z punktu wiedzy zjawiska hybrydyzacji tych nicieni było zidentyfikowanie mechanizmów, które wpływały na płodność i ogólny potencjał reprodukcyjny międzygatunkowych hybryd. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że te dwa gatunki nicieni tworzą żywotne hybrydy międzygatunkowe, jednak żywotność i potencjał reprodukcyjny większości osobników potomnych był znacznie ograniczony. Sugerują

ponadto, że pomimo ograniczonych możliwości rozmnażania się tych osobników, nie można wykluczyć ryzyka skutecznego przekazywania między tymi gatunkami genów umożliwiających adaptację do nowych siedlisk lub wpływających na patogeniczność w stosunku do rośliny żywicielskiej. Opisane przez autorów zjawisko hybrydyzacji u tych dwóch pokrewnych gatunków oraz możliwość wykorzystania mutacji *Bxy-rol(tom3)*, jako markera umożliwiającego identyfikację hybryd zarówno na poziomie morfologicznym, jak i molekularnym, jest istotnym osiągnięciem pozwalającym nie tylko na badanie tego zjawiska, ale może być również wykorzystane w procesie identyfikacji mieszańców międzygatunkowych w środowisku naturalnym.

W przypadku tych dwóch publikacji, Habilitantka wymieniona jest, jako drugi autor. Biorąc jednak pod uwagę deklaracje Habilitantki oraz załączone oświadczenia współautora tych prac stwierdzam, że zaangażowanie dr inż. Anny Filipiak w badania te oraz ich publikację jest znaczące. Habilitantka uczestniczyła w pracach na każdym etapie ich powstawania, a jej udział polegał na współpracowaniu koncepcji badań, planowaniu i bezpośredniej realizacji poszczególnych zadań eksperymentalnych, analizie i opracowaniu danych oraz na przygotowaniu opracowań naukowych i ich publikacji.

Biorąc pod uwagę badania wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, jako najważniejsze osiągnięcia Habilitantki można wskazać:

1. Opracowanie trzech metod wykrywania i identyfikacji kwarantannowego gatunku nicienia, węgorka sosnowca, wykorzystujących techniki real-time PCR – High Resolution Melting, multiplex PCR oraz multiplex real-time PCR. W tym, opracowanie zestawów starterów oraz specyficznych sond, umożliwiających wykrycie i identyfikację trzech podobnych morfologicznie gatunków nicieni, w tym wspomnianego gatunku kwarantannowego.
2. Uznanie przez Europejską Organizację Ochrony Roślin (EPPO) metody wykrywania i identyfikacji węgorka sosnowca, opartej na technice multiplex real-time PCR, jako jednego ze standardów diagnostycznych obowiązujących we wszystkich krajach Europy oraz włączenie jej do protokołu diagnostycznego EPPO.
3. Potwierdzenie zróżnicowania populacji węgorka sosnowca pod względem patogeniczności w stosunku do rodziny żywicielskiej oraz określenie zależności pomiędzy reprodukcją różnych szczepów węgorka sosnowca, a ich zdolnością do powodowania zamierania roślin.

4. Uzyskanie sekwencji genomów jądrowych dla patogenicznych i niepatogenicznych populacji węgorka sosnowca, co pozwoliło na wykazanie genetycznych różnic pomiędzy szczepami tego szkodnika.
5. Pierwsze stwierdzenia spontanicznej mutacji warunkującej powstanie fenotypu Roller u węgorka sosnowca i jej scharakteryzowanie, a także wykorzystanie tej mutacji, jako markera umożliwiającego śledzenie procesów wewnątrz- i międzygatunkowego krzyżowania się inwazyjnego *B. xylophilus* z nieszkodliwym, rodzimym gatunkiem *B. mucronatus*.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że przedstawiony do oceny przez Panią dr. inż. Annę Filipiak jednotematyczny cykl publikacji, stanowiący osiągnięcie naukowe pt. „Doskonalenie molekularnych technik diagnostycznych do identyfikacji kwarantannowego nicienia węgorka sosnowca *Bursaphelenchus xylophilus* na tle innych, występujących w drewnie niepatogenicznych nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*”, spełnia wymagania niezbędne do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Przedłożony do oceny dorobek naukowy dr inż. Anny Filipiak składa się 30 oryginalnych publikacji naukowych (łącznie z siedmioma pracami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego), jednej monografii, jednej pracy opublikowanej, jako rozdział w monografii oraz 34 doniesień konferencyjnych, w tym 12 prezentowanych na konferencjach międzynarodowych. Wśród oryginalnych publikacji naukowych zdecydowana większość (21 prac) zostało opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora. W pięciu pracach Habilitantka jest jedynym autorem, w 12 pracach wieloautorskich jest pierwszym, a w siedmiu drugim autorem. Osiemnaście (w załączonym zestawieniu 17) oryginalnych prac twórczych opublikowanych zostało w czasopiśmie z bazy JCR, w tym 15 po uzyskaniu stopnia doktora. Sumaryczny Impact Factor tych prac wynosi 24,780 (według Habilitantki 24,464, w zestawieniu została jednak pominęta jedna praca) (15,494 bez prac wchodzących w osiągnięcie naukowe), a liczba punktów zgodnie z rokiem opublikowania 895 (480 punktów, bez prac wchodzących w osiągnięcie naukowe). Prace te zostały opublikowane w wielu renomowanych czasopiśmie, takich jak: “Bonn Zoological Bulletin”,

“European Journal of Plant Pathology”, “Forest Pathology”, “Invertebrate Survival Journal”, “Molecular and Cellular Probes”, “Nematology”, “Molecular Genetics and Genomics”, “Organisms Diversity & Evolution”, “Plant Disease”, czy “Systematic Parasitology”. Habilitantka opublikowała ponadto 12 prac w czasopismach nieposiadających współczynnika IF (w zestawieniu podanych jest 13 prac, gdyż błędnie zaliczono tu prace posiadające IF), z których sześć opublikowała po uzyskaniu stopnia doktora. Prace te ukazały się w takich czasopismach jak: „Folia Malacologica”, „Journal of Plant Protection Research” oraz Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin”. Łączna liczba punktów za te prace, zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi 87 (72 bez pracy wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego). Łączna liczba punktów za dorobek naukowy dr inż. Anny Filipiak, z uwzględnieniem osiągnięcia naukowego oraz monografii, wynosi 1005 punktów, natomiast z wyłączeniem osiągnięcia naukowego 575 punktów. Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka uzyskała 906 punktów, a z wyłączeniem osiągnięcia naukowego 476 punktów. Liczba cytowani wg bazy Web of Science wynosi 96 (bez autocytowań – 74), a indeks Hirscha – 6.

Analizując treść oryginalnych prac naukowych można stwierdzić, że działalność dr inż. Anna Filipiak koncentrowała się głównie badaniu występowania, znaczenia i poszukiwania metod umożliwiających wykrywanie i identyfikację nicieni zasiedlających drewno. Bezpośrednio po zatrudnieniu, jako wykonawca w ramach Programów Wieloletnich IOR – PIB, finansowanych przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, prowadziła badania dotyczące charakterystyki morfologicznej i molekularnej populacji *B. mucronatus*, a także określenia patogeniczności różnych jego izolatów w stosunku do siewek sosny, oceny możliwości jego krzyżowania i konkurencji z węgorzkiem sosnowcem. W okresie tym, rozpoczynała również badania związane z opracowaniem skutecznej i czułej molekularnej metody diagnostycznej do identyfikacji gatunki *B. fraudulentus*, który powszechnego występuje w Polsce i jest spokrewnionego z węgorzkiem sosnowcem. Środki uzyskane w ramach grantu promotorskiego finansowanego przez Komitet Badań Naukowych (KBN) pozwoliły jej na wykorzystanie opracowanych molekularnych technik diagnostycznych do identyfikacji nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*, a także charakterystyki molekularnej dwóch nowo opisanych gatunków nicieni, tj. *B. populi* i *B. tryphloei*.

Zainteresowania dotyczące metod diagnostyki molekularnej nicieni zasiedlających drewno, kontynuowane były również po uzyskaniu stopnia doktora, czego efektem są prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego. Badanie te były finansowane między innymi ze środków uzyskanych

z Narodowe Centrum Nauki, w ramach konkursu MINIATURA, którego Habilitantka była kierownikiem. Za bardzo istotny wkład w rozwój wiedzy dotyczącej nicieni występujących w drewnie, należy uznać badania realizowane przez dr inż. Anne Filipiak w IOR – PIB, które dzięki wykorzystaniu nowoczesnych technik molekularnych, pozwoliły na opisanu pięciu nowych dla wiedzy gatunków szkodliwych nicieni. Ponadto, gatunki opisane z Europy takie jak *B. tryphloeae* i *B. fagi* oraz pochodzący z Ameryki Północnej gatunek *B. masseyi* wyodrębniono, jako nową grupę typologiczną w rodzaju *Bursaphelenchus*. Udział Habilitantki w tych badaniach należy uznać za znaczący, gdyż uczestniczyła ona na wszystkich etapach realizacji tych prac, poczynając od stworzenia ich koncepcji prac, poprzez planowanie i realizację badań oraz opracowywanie wyników, skończywszy na przygotowaniu publikacji. Znajomość technik molekularnych pozwalających na identyfikację nicieni spowodował, że uczestniczyła ona również w pracach zespołu, który po raz pierwszy w Polsce, stwierdził występowanie gatunku nicienia *Longidorus attenuatus* w soi oraz gatunku *L. artemisiae*. Ponadto badania te dostarczyły nowych danych taksonomicznych na temat gatunku *L. juglandicola*.

Drugim kierunkiem badań realizowanych przez Habilitantkę były zagadnienia o charakterze praktycznym dotyczące nicieni owadobójczych. Koncentrowały się na określeniu występowania tych nicieni w środowisku rolniczym, opracowaniu zasad augmentatywnego ich stosowania, a także możliwości ich wykorzystania w zwalczaniu szkodników rolniczych i sadowniczych. Bardzo istotne w praktycznego punktu widzenia, było wykazanie, że wprowadzanie do agrocenoz entomopatogenicznych nicieni uzyskanych na drodze hodowli laboratoryjnej, miało istotny wpływ na ich występowanie w kolejnych miesiącach sezonu wegetacyjnego. Powodowało to większą presję na szkodliwe owady związane ze środowiskiem glebowym. Ponadto, określona została możliwość ich wykorzystania do biologicznego zwalczania szkodników należących do rodziny pryszczarkowatych: pryszczarek kapustnik (*Dasyneura brassicae*) w uprawach rzepaku, pryszczarek gruszożerca (*D. pyri*) na gruszy, gatunku *Mycophila speyeri*, uznanego za szkodnika upraw pieczarek, a także jednego z groźniejszych szkodników jabłek, owocówki jabłkowieczki (*Cydia pomonella*). Badania te prowadzone były w ramach środków uzyskanych na trzy projekty badawcze realizowane na rzecz MRiRW, w których Habilitantka była wykonawcą oraz ośmiu projektów badawczych w ramach działalności statutowej IOR – PIB w Poznaniu, w których również była wykonawcą oraz kierownikiem w przypadku jednego z nich.

Warto podkreślić, że dr inż. Anna Filipiak, w latach 2013-2017, brała udział w międzynarodowym (polsko-norweskim) projekcie badawczym pt.: „Impact of climate change on biodiversity and spread of invasive species - A study on *Arion* slugs”, zatwierdzonym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR), a finansowanym przez Norweskie Mechanizmy Finansowania. Jako lider grupy roboczej WP3: „Impact of climate changes on colonization, genetic variation and parasite diversity of invasive slug”, prowadziła badania dotyczące identyfikacji przy pomocy metod molekularnych pasożytów Europejskich populacji ślimaków nągich z rodzaju *Arion*. W efekcie tych badań zidentyfikowano ponad 500 pasożytów, wśród których były nicienie, przywry oraz tasiemce. Uczestniczyła również w przeprowadzeniu kompleksowej analizy filogeograficznej inwazyjnego gatunku *Arion vulgaris*. Na bazie uzyskanych wyników powstały cztery prace. W przypadku dwóch udział Habilitantki polegał na stworzeniu koncepcji pracy oraz przygotowaniu manuskrypt, natomiast dwóch kolejnych również na prowadzeniu badań i analizie wyników.

Podsumowując ocenę pozostałego dorobku naukowego dr. inż. Anny Filipiak stwierdzam, że ma on dużą wartość naukową oraz poznawczą, istotną dla rozwoju dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Tym samym, Habilitantka spełnia wymagania stawiane, w tym zakresie, osobom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, a jej dorobek naukowy zasługuje na pozytywną ocenę.

Ocena istotnej aktywności badawczej, współpracy międzynarodowej, osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę

Habilitantka wykazała się dużą aktywnością w zdobywaniu finansowania badań naukowych. Pani dr inż. Anna Filipiak była liderem grupy roboczej w ramach międzynarodowego projektu Core, finansowanego w ramach Norweskich Mechanizmów Finansowania. Ponadto była kierownikiem projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu Miniatura. W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora była również głównym wykonawcą grantu promotorskiego finansowanego przez Komitet Badań Naukowych. Pani Doktor, jako wykonawca realizowała również trzy zadania badawcze w ramach Programu Wieloletniego na lata 2006-2010, 2011-2015 oraz 2016-2020. Realizowała również projekty badawcze w ramach działalności statutowej Instytutu Ochrony Roślin – PIB w Poznaniu, w sześciu była wykonawcą, natomiast w

jednym kierownikiem. Obecnie jest wykonawcą w projekcie realizowanym w latach 2021-2023, w ramach działalności statutowej IOR – PIB, pt. „Rozszerzenie zakresu wykorzystania czynników biologicznych w biologicznej i integrowanej ochronie roślin, w kontekście strategii Europejskiego Zielonego Ładu i Unijnej Strategii na Rzecz Bioróżnorodności 2030 w rolnictwie”, a także jest głównym wykonawcą w projekcie finansowanym przez Dyрекcję Generalną Lasów Państwowych, pt.: „Opracowanie skutecznych strategii monitorowania drzewostanów sosnowych pod kątem wczesnego wykrywania kwarantannowego nicienia - węgorka sosnowca (*Bursaphelenchus xylophilus*), w warunkach aktualnie zachodzących zmian klimatycznych” przyznany na lata 2021-2023.

Pani dr inż. Anna Filipiak prowadziła ponadto badania poza Instytutem Ochrony Roślin – PIB w Poznaniu. W 2013 roku odbyła krótkoterminowy staż w Instytucie Mikrobiologii Stosowanej (Institute of Applied Microbiology of Xinjiang Academy of Agricultural Sciences – XAAS), Urumqi, Chiny, którego celem było przeprowadzenie badań w ramach projektu “Application of biological control technology in greenhouse agriculture and mushroom production”, zatwierdzonego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach realizacji umowy dwustronnej pomiędzy IOR – PIB w Poznaniu a tamtejszym Instytutem. Jeszcze w tym samym roku, w ramach stypendium otrzymanego z Uniwersytetu w Kioto dla naukowców zagranicznych, odbyła dwutygodniowy staż badawczy na tym uniwersytecie. W jego trakcie prowadziła badania dotyczące projektu "QTL analysis of plant pathogenesis traits of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* using recombinant inbred lines". Dzięki uzyskaniu finansowania z funduszy Norweskich Mechanizmów Finansowych, Habilitantka w roku 2014 odbyła krótkoterminowy staż na Uniwersytecie w Bergen i Norwegian Institute of Bioeconomy Research (NIBIO) w Ås, Norwegia. Odbyła również czterodniową wizytę w Narodowym Instytucie Badań Rolniczych i Weterynaryjnych (The National Institute for Agrarian and Veterinarian Research – INIAV) w Oeiras, Portugalia. Dotyczyła ona konsultacji naukowych finansowanych z Programu Wieloletniego.

Należy podkreślić, że Habilitantka jest pracownikiem jednostki naukowej, która nie prowadzi zajęć dydaktycznych. Brak dorobku w tym zakresie należy, więc uznać za w pełni usprawiedliwiony. Warto jednak podkreślić jej duże zaangażowanie we współpracę z Państwową Inspekcją Ochrony Roślin i Nasiennictw, dla pracowników, której współorganizowała i prowadziła szkolenia dotyczące identyfikacji nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*. Ponadto przeprowadziła

wykład dla studentów Studiów Doktoranckich pt.: „Identyfikacja molekularna nicieni”, praktyki dla uczennicy Liceum Ogólnokształcącego z Konina w ramach organizowanego ogólnopolskiego projektu „Dzień Przedsiębiorczości”, a także sprawowała opiekę nad studentami zagranicznymi, w tym opiekę nad studentem z Institute of Applied Microbiology of Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, który odbył roczny staż badawczy w IOR – PIB w Poznaniu. Warto podkreślić, że w 2020 roku Habilitantka była promotorem pracy dyplomowej realizowanej w ramach studiów podyplomowych w zakresie integrowanej produkcji ze szczególnym uwzględnieniem ochrony roślin i rolnictwa ekologicznego prowadzonych przez IOR – PIB w Poznaniu. Wyniki swoich badań prezentowała ponadto na seminariach odbywających się w trakcie staży zagranicznych, a także międzynarodowych i krajowych konferencjach.

W ramach osiągnięć dotyczących popularyzacji nauki należy wskazać na cztery publikacje popularno-naukowe, które ukazały się w czasopismach Ochrona Roślin oraz Warzywa. Na uwagę zasługuje ponadto fakt odbycia przez Habilitantkę blisko 20 szkoleń, na których doskonaliła warsztat badawczy oraz podnosiła kwalifikacje zawodowe.

Pani dr inż. Anna Filipia od 2010 roku pełni funkcję sekretarza Polskiego Towarzystwa Ochrony Roślin – Oddział Poznański oraz od 2013 roku jest członkiem Europejskiego Towarzystwa Nematologicznego (European Society of Nematologists). W 2018 roku wybrana została na czteroletnią kadencję do Rady Młodych Naukowców Instytutu Ochrony Roślin – PIB w Poznaniu. W ramach tej działalności zajmuje się przygotowywaniem własnych propozycji zmian sprzyjających rozwojowi kariery młodych naukowców i osób rozpoczynających karierę naukową. Pełni również funkcję redaktora działowego w Journal of Plant Protection Research oraz Progress in Plant Protection. Ponadto, wykonała 18 recenzji artykułów naukowych, z których zdecydowana większość to recenzje artykułów w wysoko punktowanych czasopismach z bazy JCR. Za swoją działalność związaną z nauką otrzymała 11 nagród i wyróżnień od Dyrektora IOR-PIB, a także Odznakę Honorową Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi „Zasłużony dla rolnictwa”.

W podsumowaniu należy podkreślić, że Pani dr inż. Anna Filipiak legitymuje się dużą aktywnością naukową oraz organizacyjną, za którą była wielokrotnie nagradzana. Na uwagę zasługują działalność szkoleniowa na rzecz jednostek administracji rządowej. Ponadto bardzo istotnym aspektem jej pracy naukowej jest umiejętność pozyskiwania środków na prowadzenie badań oraz współpraca międzynarodowa, która pozwoliła jej na prowadzenie badań w zagranicznych jednostkach naukowych.

Wniosek końcowy

Oceniając osiągnięcie naukowe stanowiące jednotematyczny cykl publikacji pod wspólnym tytułem: „Doskonalenie molekularnych technik diagnostycznych do identyfikacji kwarantannowego nicienia węgorka sosnowca *Bursaphelenchus xylophilus* na tle innych, występujących w drewnie niepatogenicznych nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*” oraz oceniając istotną aktywność naukową realizowaną w więcej niż jednej instytucji naukowej, w tym zagranicznych, a także dodatkową aktywności naukową, organizacyjną i dydaktyczną dr inż. Anny Filipiak można uznać, że Habilitantka wnosząc znaczący wkład rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo, spełnia wszystkie kryteria stawiane osobie ubiegającym się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. W związku z powyższym stwierdzam, że zgodnie z ustawą dnia 20 lipca 2020 roku (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, osiągnięcie dr inż. Anny Filipiak odpowiada wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 1, 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2020 roku (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). Popieram wniosek dr inż. Anny Filipiak, o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Marłusz Lewandowski