

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. inż. Jacka Olchowika
„Zastosowanie nanocząstek miedzi i srebra w ochronie i hodowli sadzonek
dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.)”**

Recenzowana praca zawiera 99 stron paginowanych, w tym 28 tabel i 36 rycin. Wykaz literatury zawiera 171 pozycji, w tym 152 w języku angielskim i 19 w polskim oraz 4 materiały źródłowe. Praca podzielona jest na 9 rozdziałów (Wstęp, Przegląd literatury, Problem badawczy, Cel i zakres pracy, Metodyka, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie i wnioski, Literatura oraz Załączniki). Jest to poprawny układ treści, a wyniki i ich dyskusja zajmują około 35% objętości pracy, a po włączeniu załączników 41%. Podobnie dobór metod badawczych dla zrealizowania postawionych celów nie budzi zastrzeżeń.

Głównym celem pracy była próba zastosowania nanocząstek srebra i miedzi jako stymulatora wzrostu sadzonek dębu szypułkowego, a także jako fungicydu w ochronie przed mączniakiem prawdziwym dębu. Celem szczegółowym pracy była ocena wpływu nanocząstek na kondycję zdrowotną sadzonek dębu. Autor postawił trzy hipotezy badawcze, mianowicie:

1. nanocząstki powodują inhibicje wzrostu badanych grzybów i organizmów grzybobodobnych *in vitro*,
2. nanocząstki aplikowane dolistnie będą miały korzystny wpływ na wzrost i kondycję zdrowotną sadzonek dębu szypułkowego,
3. zastosowane w szkółce nanocząstki wpłyną korzystnie na wzrost sadzonek dębu szypułkowego w uprawie.

Weryfikację postawionych hipotez badawczych Doktorant przeprowadził na podstawie analizy wyników badań uzyskanych na podstawie zaprojektowanych i przeprowadzonych trzech doświadczeń:

1. wpływ nanocząstek srebra i miedzi na wzrost wybranych organizmów: grzybów mykoryzowych, patogenicznych, rozkładających drewno, endotroficznych i patogenu rodzaju *Phytophthora* *in vitro*.

2. wpływ nanocząstek srebra i miedzi na (i) wzrost sadzonek dębu szypułkowego hodowanych w kontenerach, (ii) stopień porażenia liści przez mączniaka prawdziwego dębu, (iii) stan i strukturę mykoryz, (iv) ultrastrukturę liści, łodygi i korzeni sadzonek dębu, (v) stan aparatu fotosyntetycznego,
3. wpływ nanocząstek srebra i miedzi aplikowanych w szkółce na wzrost sadzonek w kolejnych latach po wysadzeniu na uprawie.

Tematyka badawcza jaką podjął mgr inż. Jacek Olchowika jest nowatorska jeżeli chodzi o leśnictwo. W sytuacji zwrócenia się, w ochronie przed chorobami roślin, w kierunku prośrodowiskowych i niechemicznych metod, między innymi w promowaniu integrowanej ochrony roślin przed chorobami (IPM), poszukiwania nowych rozwiązań w ochronie lasu są bardzo cenne i ważne. Tym bardziej, że w literaturze dotyczącej zastosowania nanocząsteczek w ochronie i hodowli drzew leśnych jest bardzo uboga. Na podkreślenie zasługuje znakomicie zaprojektowana część doświadczalna oraz przedstawiona w rozdziale Metodyka. Świadczy to o bardzo dobrym opanowaniu przez Doktoranta warsztatu naukowego. Pragnę także wyróżnić, doskonale napisany i o logicznej strukturze, rozdział Dyskusja. Na szczególną uwagę zasługuje sposób interpretacji wyników oparty na bardzo dobrej znajomości światowej literatury, co świadczy o dojrzałości naukowej mgr. inż. Jacka Olchowika. Zastosowanie nowoczesnych metod między innymi molekularnej do identyfikacji grzybów mikoryzowych, a także badania ultrastruktury liści oraz aktywności fotosyntetycznej liści podnoszą niewątpliwie wartość merytoryczną przedłożonej dysertacji.

Uważam, że ważnym osiągnięciem Doktoranta jest wykazanie wpływu nanocząsteczek na wzrost grzybów, przy jednoczesnym jego braku na rozwój grzybobłytki. To sugeruje, że w stosunku do organizmów powodujących zgorzel siewek z klasy *Oomycetes* należy poszukiwać innych rodzajów nanocząstek lub zwiększać stężenie, co może odbijać się z kolei w sposób negatywny na tworzenie mykoryz oraz przeżywalność sadzonek w przyszłej uprawie. Tym bardziej, że wykorzystane w doświadczeniu izolaty grzybów mikoryzowych *Hebeloma crustuliniforme* i *H. incarnatum* wykazywały negatywne reakcje w obecności obu zastosowanych nanocząsteczek, a grzyby endotroficzne w stosunku do nanocząsteczek srebra, niezależnie od stężenia.

Ciekawym aspektem byłoby także zbadanie ultrastruktury liści, łodyg i korzeni w drugim roku stosowania nanocząstek, a także po wysadzeniu ich w uprawie. Jeżeli stosowanie nanocząstek wpływa na tworzenie mykoryz, a Autor sugeruje, że nanocząstki są transportowane do tkanek całej rośliny, to interesującym byłaby odpowiedź na pytanie, czy

zmiany w strukturze pojawiają się wyłącznie po bezpośrednim stosowaniu nanocząstek na liście, czy może ten efekt jest trwalszy. Ale przypuszczam, że ze względu na ramy czasowe rozprawy doktorskiej i znaczne koszty takich analiz zdecydowano się na rozwiązanie zaprezentowane w pracy.

Uwagi szczegółowe:

Uwagi zawarte poniżej nie umniejszają merytorycznej wartości pracy, a stanowią sugestie recenzenta przed przygotowaniem rozprawy do druku.

W zasadzie mam wątpliwości tylko do części pierwszego doświadczenia, co do zasadności testowania nanocząstek na rozwój grzybów rozkładających drewno, w sytuacji kiedy praca dotyczy produkcji sadzonek w szkółce i dwóch sezonów ich wzrostu w uprawie. Na dodatek Autor wybrał grzyby rzadkie, występujące w drzewostanach starszych klas wieku, może za wyjątkiem *Pleurotus ostreatus*. Ta część pracy powinna być przedmiotem odrębnego opracowania i sugeruję, aby uzupełnić badania o wpływ nanocząstek na grzyby powszechnie występujące na dębach np. *Fomitiporia robusta* czy *Daedalea quercina*, a wyniki opublikować w osobnej pracy.

W treści podrozdziału 5.2.6 Analiza ultrastruktury liści, łodygi i korzeni (str. 53, tytuł zgodny z założeniami metodycznymi) przedstawiono wyłącznie informacje o zmianach ultrastruktury liści. Dopiero w dyskusji (na 69 stronie) czytający dowiaduje się o braku takich zmian w łodygach i korzeniach. To zdanie powinno znaleźć się w wynikach.

Str. 23, tabela 2 – grzyby występujące w tkankach roślinnych, które nie wywołują procesu chorobowego, a ich rola i znaczenie jest najczęściej jeszcze nie poznana określamy mianem endotrofów, a nie endofitów. W tej samej tabeli wyróżniono grzyba *Pleurotus ostreatus* jako organizm saprotroficzny, a tymczasem może powodować zgniliznę drewna żywych drzew, stąd lepiej byłoby go określić mianem patogena słabości, podobnie jak inne grzyby, które w zależności od sytuacji mogą przechodzić z formy patogenicznej w saprotroficzną.

Str. 38-45, w opisie rycin od 9 do 18 znalazł się K – wariant kontrolny, natomiast wykres przedstawia procentową wielkość grzybni w stosunku do kontroli i takiego wariantu nie ma.

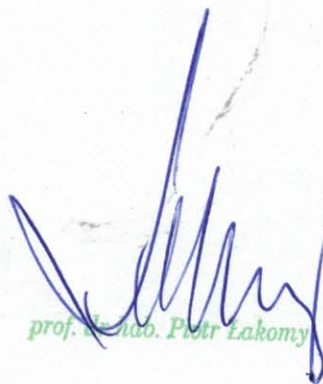
Str 61. „Na podstawie powyższych spostrzeżeń można wnioskować, że nanocząstki srebra i miedzi wpływają na wzrost grzybów mykoryzowych, endofitycznych, rozkładających drewno i patogenu z rodzaju *Phytophthora*”. Rodzaj *Phytophthora* powinien z tego zdania zostać usunięty, bo Doktorant wykazał brak wpływu nanocząstek srebra i miedzi niezależnie od ich stężenia na ten organizm.

Reasumując stwierdzam, że:

1. Praca podejmuje temat ambitny i ważny poszukiwania alternatywnych metod ochrony produkcji szkółkarskiej przed chorobami.
2. Z uznaniem pragnę podkreślić wysoki poziom merytoryczny prezentowanej rozprawy.
3. Doktorant zrealizował założone cele badawcze, wykazując się znakomitą znajomością warsztatu metodycznego.
4. Interpretacja i dyskusja wyników są oparte na dobrej znajomości zagadnienia. Świadczy o tym liczna i trafnie dobrana literatura.
5. Rozprawa została przygotowana bardzo dobrze, z punktu widzenia edytorskiego.

Wniosek:

Z pełnym przekonaniem stawiam wniosek do Rady Wydziału Leśnego Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie mgr. inż. Jacka Olchowika do dalszych etapów przewodu doktorskiego, ponieważ Jego rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r., o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595) z późniejszymi zmianami.



prof. dr hab. Piotr Łakomy

Posmi 10-05-2018r.