

Warszawa, 9.05. 2018 r.

dr hab. Tomasz Oszako
Zakład Ochrony Lasu
Instytut Badawczy Leśnictwa
w Sękocinie Starym

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

Doktorant podjął innowacyjne badania nad zastosowaniem nanocząstek różnych metali w ochronie i hodowli roślin. Postawił sobie za cel sprawdzenie możliwości ich zastosowania jako stymulatorów wzrostu sadzonek dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.), a także jako środka ochronnego m.in. przed patogenicznym gatunkiem grzyba *Erysiphe alphitoides* powodującego pospolitą chorobę liści - mączniaka prawdziwego dębu. Z tego względu założono zarówno doświadczenia laboratoryjne (*in vitro*) nad wpływem nanocząstek na wzrost grzybów jak i terenowe (*in vivo*) nad ich wpływem na wzrost i stopień porażenia dębów przez mączniaka, mykoryzy, ultrastrukturę liści (TEM), łodygi i korzeni, a także efektywność aparatu fotosyntetycznego. Poza tym, obserwowano wpływ zastosowanych w szkółce nanocząstek na wzrost sadzonek dębu w uprawie.

Przyjęte metody badawcze dobrano adekwatnie dla zrealizowania postawionych hipotez badawczych zakładających, że nanocząstki w testach *in vitro* hamować będą wzrost badanych grzybów i patogenicznych lęgniowców, a zaaplikowane dolistnie (*in vivo*) poprawią wzrost i kondycję fizjologiczną sadzonek dębu szypułkowego, zarówno w szkółce jak i później w uprawie.

Uzyskane wyniki pozwoliły Doktorantowi przeprowadzić weryfikację postawionych hipotez badawczych, a w szczególności dowiódł, że nanocząstki srebra posiadały silniejsze właściwości hamowania grzybni w testach *in vitro*.

W testach *in vivo*, wprowadzenie nanocząstki srebra i miedzi u jednorocznych sadzonek dębu szypułkowego nie wpłynęły na średnią suchą masę pędu, długość pędu i korzenia, grubość w szyjce korzeniowej, to jednak okazały się nieskuteczne w ochronie przed mączniakiem dębu.

U sadzonek potraktowanych najwyższym stężeniem nanocząstek miedzi i srebra zaobserwowano zmiany w ultrastrukturze chloroplastów w liściach. Ponadto, sadzonki potraktowane nanocząstkami miedzi w stężeniu 50 ppm cechowały się najniższym stopniem mykoryzacji.

Wpływ zastosowanych w szkółce nanocząstek nie ujawnił się w kolejnych latach wzrostu sadzonek na uprawie.

Recenzowana rozprawa doktorska podzielona została na 9 rozdziałów, w układzie charakterystycznym dla prac naukowych (Wstęp, Przegląd literatury, Problem badawczy, Cel i zakres pracy, Metodyka, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie i wnioski, Literatura oraz Załączniki). Łącznie praca zawiera 99 stron, 10 tabel, 30 rycin oraz 6 załączników. Spis literatury zawiera 171 pozycji, zarówno zagranicznych (152) jak i krajowych (19), z których najstarsza jest z 1982 roku, a najnowsza z 2016.

Tematyka badawcza jaką podjął mgr inż. Jacek Olchowik wpisuje się w obecne trendy poszukiwania alternatywnych rozwiązań w ochronie roślin. Dyrektywa Komisji Europejskiej o konieczności przeprowadzania bardzo kosztownych badań wpływu substancji czynnych na środowisko naturalne spowodowała zmniejszenie dostępności na rynku pestycydów, w tym fungicydów. Poza tym, obowiązująca od 2013 roku Dyrektywa KE o Integrowanej Ochronie Roślin kładzie nacisk na stosowanie oprócz środków chemicznych innych metod fizycznych i biologicznych.

Część doświadczalna zasługuje na wyróżnienie, co świadczy o umiejętności prowadzenia pracy naukowej. Zastosowanie nowoczesnych metod biologii molekularnej do identyfikacji grzybów mykoryzowych (podczas stażu naukowego na Uniwersytecie Wiedeńskim), badania ultrastruktury liści oraz aktywności fotosyntetycznej liści niewątpliwie zasługują na wyróżnienie.

W dyskusji szeroko omówiono wyniki uzyskane na świecie, oraz skonfrontowano z nimi rezultaty otrzymane w badaniach własnych. Świadczy to o bardzo szerokiej wiedzy teoretycznej Doktoranta.

Stwierdzony brak wpływu badanych nanocząstek na rozwój lęgniowców jest według mnie bardzo ważną informacją. Różnice w morfologii pomiędzy patogenami z rodzaju *Phytophthora* i grzybami mogą mieć zasadnicze znaczenie w skuteczności testowanych środków. Brak u lęgniowców (*Oomycetes*) chityny w ścianie komórkowej, brak wrażliwości na antybiotyki oraz podwójna zawartość chromosomów w jądrach komórkowych

(diploidalność), a także budowa strzępek z komórek wielojądrowych prawdopodobnie są przyczyną innej reakcji gatunku *P. cactorum* na zastosowane nanocząstki. Wskazuje to na konieczność przyjęcia zupełnie innej strategii ochrony roślin przed organizmami grzybobopodobnymi.

Nie wiadomo też czy zauważone w wyniku stosowania nanocząstek większe plastoglobule oraz ziarna skrobi mają charakter długotrwały, stąd też potrzeba obserwacji w kolejnych latach po ich zastosowaniu. Przypuszczam, że Doktorant planuje w ramach pozyskania nowych grantów badawczych kontynuację badań w dłuższej perspektywie czasowej.

Uwagi szczegółowe:

Doktorant rozszerzył badania poza zakres ochrony sadzonek dębu i dodatkowo wykonał testy z rzadkimi grzybami jak ozorek dębowy czy żagwica listkowata występującymi na starszych okazach drzew, często uznanych za pomniki przyrody. Rozwijają się one w drewnie stąd pomysł, aby poprzez oprysk dolistny próbować je wyeliminować wydaje się trudny do realizacji, nawet gdyby testy *in vitro* wypadły pomyślnie.

Poza tym, znajdują się one na Czerwonej liście roślin i grzybów Polski.

Natomiast, bocznik ostrygowaty jest zarówno saprotrofem (saprobem) rosnącym na martwym drewnie, jak również pasożytem atakującym jeszcze żywe drzewa, zazwyczaj jednak stare, osłabione lub uszkodzone, co proponuję zaznaczyć w tabeli 2 na stronie 23.

Zabrakło podania referencji dla sposobu obliczenia wskaźnika inhibicji wzrostu grzybni podanego wzoru na stronie 26. Z reguły do obliczenia powyższego wskaźnika używana jest formuła Prashara i.in. (2013).

Proponuję również dodać polskie nazwy grzybów takich jak włośnianka rosista, ozorek dębowy, żagwica listkowata, soplówka bukowa czy bocznik ostrygowaty (odpowiednio na stronach 39, 43, 44 i 45).

Przedstawione powyżej uwagi nie umniejszają merytorycznej wartości pracy, lecz stanowią jedynie propozycje ulepszenia przygotowywanej publikacji.

Reasumując stwierdzam, że:

1. Przeprowadzone badania mają charakter innowacyjny i wpisują się w poszukiwanie nowych, alternatywnych rozwiązań w ochronie roślin.
2. Doktorant poprawnie postawił hipotezy, a następnie je zweryfikował wykazując się przy tym poprawnym warsztatem badawczym.
3. Interpretacja i dyskusja wyników są oparte na dobrej wiedzy teoretycznej Doktoranta, częściowo zdobytej podczas zagranicznego stażu naukowego.
4. Rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o dobrze przygotowaną metodykę i samodzielnie przeprowadzone doświadczenia z zastosowaniem wielu nowoczesnych technik badawczych.

Wniosek:

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. 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. Jednocześnie ze względu na wysoki poziom merytoryczny prezentowanej dysertacji stawiam wniosek o jej wyróżnienie.


dr. hab. inż. Tomasz Oszako