UNIWERSYTET PRZYRODNICZY w Lublinie | WYDZIAŁ OGRODNICTWA I ARCHITEKTURY KRAJOBRAZU

Lublin, 06.09.2025 r.

Dr hab. Elżbieta Mielniczuk, prof. uczelni
Katedra Ochrony Roślin
Zakład Fitopatologii i Mykologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

RECENZJA
rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Stałanowskiej
pt. „Nanocząstki srebra w ochronie nasion i siewek grochu (*Pisum sativum* L.) przed patogennymi grzybami"

wykonanej w Katedrze Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie
pod kierunkiem naukowym prof. dr. hab. inż. Lesława Bernarda Lahuty
oraz prof. dr. hab. inż. Adama Okorskiego

Podstawą formalną do wykonania niniejszej recenzji jest pismo Pani prof. dr hab. Niny Smolińskiej Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie z dnia 27.06.2025 r. informujące, o powołaniu mnie przez Wysoką Radę w dniu 26.06.2025 r. na recenzenta w przewodzie doktorskim mgr inż. Karoliny Stałanowskiej dotyczącym nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Karoliny Stałanowskiej została oparta na cyklu trzech monotematycznych prac naukowych, dwie z nich zostały wydane w 2024 r. i jedna w 2025 r. Publikacje stanowią spójny tematycznie zbiór, który jest wnikliwym opracowaniem dotyczącym możliwości wykorzystania nanocząstek srebra w ochronie nasion i siewek grochu przed porażeniem przez ważne gospodarczo patogeny grzybowe, z uwzględnieniem określenia wpływu sposobu aplikacji oraz stężenia nanocząstek srebra na skuteczność ochrony siewek grochu przed *Didymella pinodes* (Berk. & A. Bloxam) Petr. i *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. Ponadto przebadany został wpływ nanocząstek srebra i wymienionych gatunków grzybów na zmiany w profilu metabolitów pierwotnych oraz na aktywność systemu antyoksydacyjnego w siewkach grochu. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w wysoko punktowanych czasopismach znajdujących się na liście Journal Citation Reports – International Journal of Molecular Sciences oraz Plants. Sumaryczny współczynnik wpływu - Impact Factor (IF) wymienionych powyżej czasopism z roku publikacji artykułów wynosi 13,8, zaś łączna liczba punktów MNiSW ustalona wg Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie wykazu czasopism naukowych z dnia 5 stycznia 2024 r. wynosi 350. W każdej z publikacji Doktorantka jest pierwszym autorem, a jej wkład w przygotowanie prac naukowych był znaczący, dotyczył wszystkich etapów ich powstania i polegał na wiodącej roli w opracowaniu koncepcji badań i metodologii, wykonaniu doświadczeń i analiz laboratoryjnych, wykonaniu obliczeń statystycznych uzyskanych wyników badań i ich wizualizacji,

napisaniu manuskryptu, opracowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu po recenzji, co zostało potwierdzone oświadczeniami współautorów publikacji.

Ponadto, jak informuje Autorka w rozprawie doktorskiej, wyniki przedstawione w publikacji nr 3 [Stałanowska, K., Railean, V., Pomastowski, P., Pszczółkowska, A., Okorski, A., & Lahuta, L. B. (2024). Seeds Priming with Bio-Silver Nanoparticles Protects Pea (*Pisum sativum* L.) Seedlings Against Selected Fungal Pathogens. International Journal of Molecular Sciences, 25(21), 11402], dotyczące zastosowania nanocząstek srebra (pozyskanych za pomocą bakterii kwasu mlekowego) jako środka fungistatycznego w postaci wodnej zawiesiny do zaprawiania nasion dla ochrony roślin bobowatych (Fabaceae), szczególnie grochu siewnego (*Pisum sativum* L.), przed *Didymella pinodes*, są przedmiotem zgłoszenia patentowego o numerze P.445104.

Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej zostały zrealizowane w ramach projektu Biog-NET (POIR.04.04.00-00-1792/18-00), zadania badawczego „Zastosowanie nanomateriałów i biokompozytów w produkcji roślinnej".

Zasadniczym elementem przedstawionej do oceny dysertacji doktorskiej są scharakteryzowane powyżej trzy spójne tematycznie publikacje naukowe. Ponadto rozprawa obejmuje 60-cio stronicowe (wraz ze spisem literatury) opracowanie (autoreferat), które składa się ze streszczenia w językach polskim i angielskim oraz 6 rozdziałów: Wstęp uwzględniający uzasadnienie podjętej tematyki badawczej, Cel i zakres badań obejmujący hipotezy badawcze, Materiał i metody, Wyniki, Wnioski i Spis literatury, a także spis tabel i rycin. Przedstawione do oceny materiały obejmują także kopie artykułów stanowiących główną część rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia o wkładzie współautorów w opracowanie poszczególnych publikacji.

Rośliny z rodziny bobowatych (Fabaceae Lindl.), w tym *Pisum sativum* L. mają duże znaczenie w rolnictwie, między innymi ze względu na zdolność współżycia z bakteriami asymilującymi wolny azot atmosferyczny. Wykorzystanie tych roślin w płodozmianie wzbogaca glebę w przyswajalny azot, co pozwala na ograniczenie nawożenia mineralnego, poprawia również strukturę gleby i wzbogaca ją w materię organiczną oraz makro- i mikroelementy przez co wpisuje się w koncepcję rolnictwa integrowanego, a także ekologicznego. Ponadto rośliny bobowate charakteryzuje duża zawartość wysokojakościowego białka, cennych minerałów oraz witamin, zwłaszcza z grup B oraz C i K, z tego względu wykorzystywane są w zdrowej diecie człowieka, a także w żywieniu zwierząt. Pomimo, że w Polsce powierzchnia uprawy roślin bobowatych jest wciąż niewielka, dąży się do zwiększenia produkcji surowców wysokobiałkowych do wykorzystania w przemysłach spożywczym i paszowym, a groch zwyczajny jest gatunkiem szczególnie przydatnym do uprawy w warunkach klimatycznych naszego kraju. Uzyskanie wysokiego i dobrej jakości plonu związane jest między innymi ze zdrowotnością roślin w czasie uprawy. Do groźnych patogenów grochu obniżających plon nasion należą mikroorganizmy powodujące zgorzele siewek i podstawy pędu, w tym grzyby rodzaju *Fusarium* oraz *Didymella pinodes*, gatunek wchodzący także w kompleks grzybów powodujących askochytozę grochu (zgorzelową plamistość grochu).

W związku z tym, że rekomendowane do uprawy odmiany *Pisum sativum* nie wykazują zadawalającego poziomu odporności na porażenie przez patogeny, niezbędne jest wykonywanie zabiegów ochronnych.

Ze względu na obowiązek stosowania integrowanej ochrony roślin przez wszystkich profesjonalnych użytkowników środków ochrony roślin wynikający z postanowień art. 14 dyrektywy 2009/128/WE oraz rozporządzenia nr 1107/2009, w myśl której należy ograniczyć wykorzystanie preparatów chemicznych do niezbędnego minimum, celowym jest poszukiwanie metod niechemicznych.

Nanocząstki srebra, ze względu na swoje właściwości ograniczające rozwój drobnoustrojów chorobotwórczych dla roślin, mają ogromny potencjał do wykorzystywania jako nanopestycydy,

ponadto wykazują działanie stymulujące rozwój i plonowanie roślin. Zakres zastosowań nanocząstek jest w znacznym stopniu uzależniony od metody ich syntezy. W ostatnim czasie wiele uwagi poświęca się na badania mające na celu zoptymalizowanie metod biosyntezy nanocząstek metali, w tym srebra, jako metody alternatywnej do tradycyjnej metody chemicznej lub fizycznej oraz poznanie mechanizmów oddziaływania nanocząstek na wzrost i rozwój roślin, a także ich właściwości przeciwdrobnoustrojowych. Badania tego typu, do których zalicza się również analizy przeprowadzone przez mgr inż. K. Stałanowską w ramach pracy doktorskiej, prowadzą do bezpiecznego i efektywnego wprowadzenia nanocząstek do praktyki rolniczej oraz ograniczenia ich negatywnego wpływu na środowisko.

Mając na uwadze powyższe, stwierdzam że podjęta przez mgr inż. Karolinę Stałanowską tematyka jest uzasadniona, cenna dla nauki i praktyki rolniczej oraz wpisuje się w aktualne trendy badawcze.

W rozdziale **Wstęp** Doktorantka w sposób logiczny i uporządkowany, przedstawiła syntezę aktualnych informacji naukowych, które precyzyjnie wprowadzają w tematykę badań prezentowanych w dysertacji. W tej części opracowania Doktorantka wydzieliła 5 podrozdziałów stanowiących przegląd literatury w zakresie znaczenia gospodarczego roślin bobowatych, w tym grochu zwyczajnego, z uwzględnieniem właściwości żywieniowych oraz korzyści płynących z ich udziału w płodozmianie. Wskazała również na zagrożenie chorobowe grochu ze strony patogenów grzybowych i grzybopodobnych. W kolejnych podrozdziałach Autorka przedstawiła informacje dotyczące właściwości fungistatycznych nanocząstek srebra (AgNPs), a także ich wpływu na rośliny. Omówiła również możliwości i warunki wykorzystania AgNPs w ochronie roślin.

Wiedza zawarta w tym rozdziale jest ściśle związana z tematem rozprawy doktorskiej, oraz świadczy o dobrej znajomości przez Doktorantkę wiedzy ogólnej w zakresie dyscypliny nauki biologiczne.

Przy opracowywaniu tej części autoreferatu mgr inż. K. Stałanowska nie ustrzegła się nielicznych usterek, czy nieprecyzyjnych określeń jak: brak autorów w nazwach gatunkowych grzybów użytych po raz pierwszy w tekście opracowania, np. *Didymella pinodes* (Berk. & A. Bloxam) Petr. i *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc.; przedstawienie fuzariozy jako synonimu dla zgorzeli korzeni i podstawy pędu powodowanej przez różne rodzaje grzybów i patogenów z typu Oomycota, podczas gdy określenie fuzarioza można uznać za właściwe tylko w przypadku gdy przyczyną opisanego schorzenia są jedynie gatunki rodzaju *Fusarium* (str. 10); wskazanie, że *D. pinodes* i *F. avenaceum* przenoszone są „wraz z resztkami pożniwnymi pozostającymi w glebie – w formie zarodników przetrwalnikowych" jest informacją niepełną bowiem grzyby te mogą przeżywać na resztkach pozbiorczych także w formie grzybni; zabrakło również wskazania autora schematów zamieszczonych na stronach 13 i 15, które skądinąd zasługują na pozytywną ocenę i przypuszczalnie są to diagramy autorskie.

W rozdziale **Cel i zakres badań** Doktorantka przedstawiła właściwie sformułowany cel główny oraz postawiła 5 hipotez badawczych, do weryfikacji których adekwatnie wyznaczyła cztery zadania badawcze.

Głównym zamierzeniem Autorki było określenie skuteczności zastosowania nanocząstek srebra w ochronie grochu zwyczajnego (*Pisum sativum* L.) przed wybranymi patogenami grzybowymi – *Didymella pinodes* oraz *Fusarium avenaceum*.

W mojej ocenie hipotezę nr 4 warto uzupełnić o gatunki grzybów uwzględnione w badaniach gdyż tylko ich wpływ na metabolizm pierwotny siewek grochu mógł być zweryfikowany przez Doktorantkę.

Materiał i metody wykorzystane w badaniach zostały dobrze dobrane i umożliwiły weryfikację postawionych hipotez badawczych oraz pozwoliły na realizację założonego celu. Doktorantaka właściwie opisała procedury wykorzystane przy realizacji poszczególnych zadań badawczych odwołując się do stosownych pozycji literatury oraz wcześniejszych badań własnych.

Materiał badawczy stanowiły komercyjnie dostępne nanocząstki srebra syntetyzowane chemicznie i stabilizowane poliwinylopirolidonem (AgNPs-PVP) oraz nanocząstki srebra uzyskane metodą biologiczną (bio-AgNPs), które zostały wytworzone z wykorzystaniem medium pohodowlanego po hodowli bakterii *Lactobacillus paracasei*, szczep LPC20. W tym miejscu chcę podkreślić, ze Doktorantka dokładnie scharakteryzowała cechy fizyczno-chemiczne uwzględnionych w badaniach nanoczastek srebra, które wpływają na ich właściwości przeciwgrzybicze oraz na fitotoksyczność. W doświadczeniach opisanych w publikacji 1 uwzględniono również fungicydy Amistar 250 SC, Toledo Extra 430 SC, zaś w publikacji 3 zaprawę nasienną Maxim 025 FS.

Materiał roślinny uwzględniony w badaniach obejmował nasiona i siewki grochu zwyczajnego (*Pisum sativum* L.) odmiany Nemo, a w badaniach opisanych w publikacji nr 2, dotyczących określenia zakresu stężeń nanocząstek srebra bezpiecznych dla kiełkujących nasion i siewek, w celach porównawczych wykorzystane zostały również dwie inne odmiany grochu – Trachalska oraz Sześciotygodniowy TOR, a także pszenica zwyczajna (*Triticum aestivum* L.) odm. Ostka Smolicka, rzeżucha (*Lepidium sativum* L.) i rzodkiewka (*Raphanus sativus* L.). Informacje dotyczące pochodzenia materiału roślinnego, a także sposobu i warunków kiełkowania nasion oraz hodowli siewek przedstawione zostały w formie czytelnej tabeli.

W badaniach wykorzystano również dwa szczepy grzybów *Didymella pinodes* i *Fusarium avenaceum*, które zastosowano w formie zawiesin infekcyjnych o określonej gęstości zarodników (CFU/ ml).

W ramach pracy doktorskiej przeanalizowane zostały właściwości fungistatyczne nanocząstek srebra AgNPs – PVP i bio-AgNPs wykorzystując test z resazuryną, w którym określono minimalne stężenia hamujące rozwój zarodników grzybów *D. pinodes* i *F. avenaceum* (MIC), sprawdzono także wpływ bio-AgNPs na zahamowanie wzrostu grzybni (MGI) obu patogenów metodą zatrutych podłoży. Jako kontrolę w badaniu tym wykorzystano kolonie grzybów wzrastające na pożywce PDA bez dodatków oraz z dodatkiem fungicydów Amistar 250 SC lub Toledo Extra 430 SC.

Wykonano także badania mające na celu określenie zakresu stężeń nanocząstek srebra bezpiecznych dla kiełkujących nasion i rozwijających się siewek grochu. Przeprowadzone zostały również porównawcze badania wpływu bio-AgNPs na kiełkowanie i początkowy wzrost siewek innych gatunków roślin – pszenicy zwyczajnej, rzeżuchy i rzodkiewki.

W epikotylach, korzeniach i liścieniach siewek grochu odm. Nemo, po 4 dniach kiełkowania w wodzie lub zawiesinach bio-AgNPs (50 i 200 mg/L), oznaczona została aktywność enzymów antyoksydacyjnych na podstawie spektrofotometrycznego określenia aktywności katalazy (CAT), peroksydazy askorbinianowej (APX), peroksydazy gwajakolowej (GPOX) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD). Przeanalizowana została także całkowita zdolność antyoksydacyjna tkanek siewek grochu odm. Nemo, po 4 dniach kiełkowania w przedstawionych powyżej warunkach. Histochemiczną lokalizację reaktywnych form tlenu i analizy żywotności komórek w wierzchołkach korzeni siewek kiełkujących w bio-AgNPs wykonano na drodze barwienia fluorescencyjnego i obserwacji w świetle mikroskopu konfokalnego oraz klasycznego barwienia histochemicznego TTC, DAB i NBT i obserwacji zmian zabarwienia.

W celu oceny skuteczności różnych stężeń i dwóch sposobów aplikacji bio-AgNPs (nalistne i nanokondycjonowanie nasion) w ochronie siewek grochu przed porażeniem przez

D. pinodes oraz *F. avenaceum* w komorze klimatycznej przeprowadzone zostały doświadczenia z inokulacją siewek przez analizowane patogeny. Oceny skuteczności bio-AgNPs oraz fungicydów w odniesieniu do kombinacji kontrolnych (siewki grochu zanurzone w wodzie i nieinfekowane oraz siewki grochu zanurzone w wodzie i infekowane) dokonano na podstawie analizy długości siewek, ich świeżej i suchej masy (FW i DW), indeksu porażenia siewek oraz poziomu infekcji określonej metodą qPCR i wyrażonej ilością gDNA grzybów *D. pinodes* i *F. avenaceum* obecnych w tkankach siewek grochu.

Do określenia wpływu bio-AgNPs, fungicydów oraz infekcji patogenów na skład jakościowy i ilościowy metabolitów pierwotnych w siewkach grochu wykonane zostało profilowanie metaboliczne tkanek z poszczególnych kombinacji doświadczenia z wykorzystaniem chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID) oraz chromatografii gazowej z kwadrupolowym spektrometrem mas (GC-MS). Oznaczanie metabolitów pierwotnych w siewkach z poszczególnych kombinacji doświadczenia wykonano oddzielnie dla korzeni, epikotyla/pędu i liścieni. W badaniach tych określano całkowitą zawartość zidentyfikowanych metabolitów polarnych w tkankach siewek (TIPMs) oraz poszczególne frakcje: cukrowce rozpuszczalne (TSCs), aminokwasy (TAAs) i kwasy organiczne (TOAs), w obrębie których ustalono profile jakościowe i ilościowe.

Wiarygodność uzyskanych wyników badań została potwierdzona analizami statystycznymi.

Poszczególne etapy badań zostały bardzo dobrze zaplanowane, a procedury i metody badawcze dokładnie opisane. Szeroki i interdyscyplinarny zakres badań wskazuje na duży nakład pracy włożony przez Doktorantkę w przeprowadzenie opisanych doświadczeń, włączając w to doświadczenia wstępne przeprowadzone w celu optymalizacji warunków kondycjonowania nasion grochu. Wymagało to od Niej głębokiej wiedzy, systematyczności oraz opanowania różnych metod i technik badawczych z zakresu fitopatologii, fizjologii i biochemii, które umiejętnie zastosowała w swojej pracy.

Rezultaty kompleksowych i pracochłonnych badań zostały przedstawione w rozdziale **Wyniki** podzielonym na 4 podrozdziały odpowiadające wyznaczonym zadaniom badawczym oraz podrozdziały drugiego rzędu, co czyni tę część opracowania przejrzystą i czytelną. Doktorantka w sposób syntetyczny opisała wyniki przeprowadzonych badań odwołując się do danych zamieszczonych w publikacjach stanowiących zasadniczą część rozprawy doktorskiej. Artykuły te zostały już zrecenzowane w procesie publikacyjnym przez ekspertów w podjętej tematyce badawczej i nie budzą wątpliwości. W tym miejscu należy podkreślić wkład Doktorantki włożony w opracowanie czytelnej formy prezentacji wyników w autoreferacie, co z pewnością nie było łatwym wyzwaniem ze względu na dużą ilość uzyskanych danych w poszczególnych etapach badań.

Kończąc opracowanie Doktorantka dobrze sformułowała 8 wniosków podsumowujących zrealizowane zadania badawcze, przy czym we wniosku nr 4 warto zaznaczyć w jakim zakresie stężeń kiełkujące nasiona grochu są odporne na bio-AgNPs.

Literatura - Doktorantka do przygotowania opracowania wykorzystała 108 dobrze dobranych i właściwie cytowanych pozycji literatury, w tym 6 cytowań internetowych dokumentów Komisji Europejskiej, Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej, Organizacji Narodów Zjednoczonych i Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Spośród zacytowanych prac naukowych 70% stanowią artykuły z ostatnich 10 lat.

Za najważniejsze osiągnięcia przedstawionej rozprawy doktorskiej należy uznać:

- potwierdzenie właściwości fungistatycznych testowanych nanocząstek srebra wobec *D. pinodes* i *F. avenaceum* w warunkach *in vitro*,

- udowodnienie wysokiej (porównywalnej z obecnie dostępnymi fungicydami) skuteczności bio-AgNPs w zapobieganiu rozwojowi chorób siewek grochu powodowanych przez *D. pinodes* i *F. avenaceum* w warunkach kontrolowanych, oraz wykazanie ich przydatności do ochrony grochu zarówno w formie aplikacji nalistnej, jak i nanokondycjonowania nasion, ze wskazaniem wyższej skuteczności drugiego z wymienionych sposobów stosowania środków ochronny roślin. Uzyskanie tych rezultatów stanowi ważny etap w pracach nad wprowadzeniem bio-nanocząstek srebra do ochrony roślin przed badanymi patogenami w warunkach polowych,
- udokumentowanie możliwości ograniczenia negatywnych skutków kondycjonowania nasion z wykorzystaniem bio-AgNPs na wzrost siewek przez dobór odpowiedniego stężenia nanocząstek oraz czasu ich oddziaływania na nasiona,
- określenie zakresu stężeń nanoczastek srebra bezpiecznych dla kiełkujących nasion i rozwijających się siewek grochu oraz wykazanie specyficznej gatunkowo reakcji siewek na działanie tych samych nanoczastek srebra,
- scharakteryzowanie zmian zachodzących w profilu metabolitów pierwotnych obecnych w korzeniu, epikotylu/pędzie i liścieniach wraz ze wzrostem i rozwojem siewek grochu,
- ustalenie, że zakażenie patogenami i traktowanie siewek bio-AgNPs a także współoddziaływanie obu czynników wpływa na skład i zawartość metabolitów polarnych w badanych organach siewek grochu,
- ustalenie różnic w profilach metabolicznych siewek poddanych działaniu bio-AgNPs lub porażonych grzybami oraz udokumentowanie, że zróżnicowanie to wynika ze zmian ilościowych, zwłaszcza w obrębie występujących w największych ilościach metabolitów polarnych - sacharozy, homoseryny, asparaginy, kwasu jabłkowego lub cytrynowego.
- wskazanie na możliwość udziału proliny w reakcji grochu na porażenie przez grzyby na podstawie nagromadzenia się tego metabolitu w korzeniach siewek inokulowanych fitopatogenami.

W trakcie analizowania kolejnych rozdziałów rozprawy doktorskiej nasuwają się pewne spostrzeżenia i pytania:

- w niektórych fragmentach pracy, a także w tytule podrozdziału 3.2.7 niewłaściwie zostało użyte określenie „infekcja siewek" zamiennie z „inokulacja siewek", właściwym określeniem dla nanoszenia materiału infekcyjnego na rośliny celem ich zakażenia jest inokulacja,

- na str. 21 Doktorantka wskazuje, że reizolowano grzyby z tkanek roślin wykazujących objawy chorobowe w celu potwierdzenia infekcji, co jest jak najbardziej zasadne w przypadku badań fitopatologicznych, nie odnalazłam jednak informacji dotyczących metody reizolacji oraz wyników tych badań,

- brakuje informacji: z jakich gatunków roślin zostały wyizolowane szczepy badanych grzybów – *D. pinodes* i *F. avenaceum*, jakie zarodniki grzybów zostały wykorzystane w badaniach (najprawdopodobniej były to zarodniki konidialne), na jakiej podstawie dobrano gęstość zarodników grzybów w zawiesinie infekcyjnej oraz jaka była technika inokulacji siewek,

- schematy zamieszczone na rycinach 3 i 4, w podrozdziale 3.2.7 stanowią bardzo dobre uzupełnienie opisu doświadczeń z inokulacją siewek, jednak nie wskazano kto jest ich autorem,

- zastanawiające są różnice w wielkościach indeksu porażenia (DI) zwłaszcza uzyskanych w kombinacjach kontrolnych doświadczeń z inokulacją siewek przez *D. pinodes* i *F. avenaceum* oraz traktowanych wodą (publikacja 1, w przypadku obu patogenów (30%) i z inokulacją siewek rozwijających się z nasion hydrokondycjonowanych (publikacja 3, *D. pinodes* – 80%, *F. avenaceum* 60%), (str. 38). Uwagę zwracają również różnice w ilości gDNA badanych patogenów *D. pinodes* i *F. avenaceum* zarówno w siewkach kontrolnych (inokulowanych bez ochrony), jak i w siewkach

poddanych działaniu bio-AgNPs pomiędzy dwoma sposobami aplikacji bio-AgNPs, a także pomiędzy patogenami,

- w związku z tym, że obiektem badań był groch zwyczajny, nasuwa się pytanie czy nanocząstki srebra wpływają na tworzenie brodawek korzeniowych u roślin z rodziny Fabaceae ? czy Doktorantce znane są doniesienia literaturowe w tym zakresie ?

Reasumując chcę podkreślić, że cel podjętych badań został osiągnięty, a hipotezy zweryfikowane. Rozprawa doktorska stanowi kompendium wiedzy w zakresie możliwości wykorzystania nanoczastek srebra w ochronie grochu przed porażeniem przez *D. pinodes* oraz *F. avenaceum*. Oddziaływanie nanocząstek srebra na patogeny oraz na rośliny zostało przebadane wielokierunkowo, uzyskane wyniki stanowią dobry materiał do wykorzystania w konstruowaniu zaleceń integrowanej ochrony roślin, są także dobrą bazą wyjściową do prowadzenia dalszych badań mających na celu ostateczne wyjaśnienie mechanizmu ochronnego działania nanoczastek srebra, a także ocenę skuteczności działania nanoczastek srebra w ochronie grochu przed porażeniem przez patogeny w warunkach polowych. Ze względu na brak w aktualnej literaturze danych dotyczących wykorzystania nanoczastek srebra w ochronie grochu przed porażeniem przez badane gatunki grzybów w warunkach laboratoryjnych, fitotronowych, czy też polowych poprzez aplikację AgNPs na rośliny lub nasiona oraz deficyt prac dokumentujących zmiany w metabolomie roślin wywołane jednocześnie przez nanocząstki i w wyniku infekcji przez fitopatogeny, badania podjęte przez Doktorantkę należy uznać za nowatorskie.

Przeprowadzone badania stanowią oryginalne rozwiązanie problemu badawczego, a uzyskane wyniki mają aspekt zarówno poznawczy, jak i aplikacyjny, o czym świadczy także zgłoszenie patentowe.

Należy podkreślić, że mgr inż. Karolina Stałanowska wykazała się dużą wiedzą w zakresie podjętej tematyki badawczej, bardzo dobrą znajomością piśmiennictwa i metod badawczych oraz umiejętnością opracowywania i interpretacji wyników, co świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do pracy naukowej.

Wobec szerokiego zakresu prezentowanych badań, interesujących wyników przedstawionych w pracy oraz rzetelnej dokumentacji, zasygnalizowane uwagi w żaden sposób nie umniejszają wartości merytorycznej całej pracy i nie wpływają istotnie na wysoką ocenę rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Stałanowskiej.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Karoliny Stałanowskiej pt. „Nanocząstki srebra w ochronie nasion i siewek grochu (*Pisum sativum* L.) patogennymi grzybami" spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. z 2024 poz. 1571). W związku z powyższym stawiam wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr inż. Karoliny Stałanowskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Jednocześnie, z uwagi na bardzo szeroki zakres badań, ich wartość aplikacyjną i wysoki poziom naukowy wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne o wyróżnienie przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej.

Elżbieta Muleniuk