

Prof. dr hab. Lucyna Śliwa
Instytut Botaniki im. W. Szafera
Polskiej Akademii Nauk
ul. Lubicz 46
31-512 Kraków

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr. Łukasza Furmanka
pt. *Wpływ kompleksu substancji porostowych na wybrane grzyby glebowe*

W tradycji badań lichenologicznych w naszym kraju, sięgającej wielu dziesiątek lat wstecz, zapisały się i są kontynuowane różnorakie kierunki badawcze. Nurt badań nad potencjałem substancji porostowych w aspekcie ich aktywności biologicznej jest jednym z najśląbiej reprezentowanych. Podjęcie tej problematyki było zatem dla Doktoranta dużym wyzwaniem, do którego starał się rzetelnie przygotować. Świadczy o tym cykl czterech opublikowanych we współautorstwie artykułów o w/w tematyce, w tym trzech o charakterze przeglądowym (Furmanek 2019; Furmanek i in. 2019, 2022; Tekiela i in. 2021)¹. Takie podejście jest niezwykle trafione i wyraźnie zaowocowało przy przygotowywaniu rozprawy doktorskiej.

Rozprawa doktorska mgr. Łukasza Furmanka to obszerne opracowanie o charakterze monografii. Obejmuje 306 stron tekstu, w tym 124 ryciny i 43 tabele. Tekst pracy składa się ze „Wstępu”, w którym określone zostały cele pracy oraz postawione hipotezy badawcze. Rozdział pierwszy pracy stanowi „Przegląd literatury”, w którym Autor prezentuje stan wiedzy co do porostów jako producentów substancji porostowych oraz roli i aktywności biologicznej porostowych metabolitów wtórnych. Krótko odnosi się także do grzybów jako obiektu swoich badań, przytaczając ich rolę i znaczenie w ekosystemie leśnym oraz w procesach glebowych. Na część badawczą pracy składają się trzy eksperymenty: 1) doświadczenia optymalizujące warunki hodowli grzybów *in vitro* (rozd. II) – testowane gatunki grzybów to: *Armillaria ostoyae*, *A. borelais*, *Hebeloma crustuliniforme* oraz *Heterobasidion parviporum* (grzyby o różnym charakterze troficznym); 2) analizy spektrofotometryczne ekstraktów uzyskanych na kilka różnych sposobów, m. in. na gorąco przez zaparzenie lub poprzez stopniowe nagrzewanie wody deszczowej żarówką, z plech 6 gatunków porostów: *Cladonia arbuscula*, *C. rangiferina*, *C. digitata*, *C. uncialis*, *Cetraria islandica*, *Pseudevernia furfuracea* (w mieszaninie pojawia się także *C. mitis*, przy czym przy optymalizacji testowano także dodatkowe gatunki w różnej licznie np. 14 w przypadku ekstrakcji acetonem, czy od 3 do 11 w przypadku ekstrakcji wodnej z podgrzewaniem żarówką, w zależności od czasu nagrzewania – stosownie 10 i 60 min. oraz 120 min.; rozdz. III); 3) hodowla kultur

¹ Furmanek Ł. 2019, *Aura* 2/19:8-11; Furmanek Ł. i in. 2019, *Journal of Applied Microbiology*, 127:308-325; Furmanek Ł. i in. 2022, *Archives of Microbiology*, 204:100; Tekiela i in. 2021, *Folia Cryptog. Estonica*, 58:165-181.

grzybowych w obecności ekstraktów wodnych z plech porostów o różnym składzie substancji i aplikowanych na dwa różne sposoby: włąbnie do podłoża lub na jego powierzchnię (rozdz. IV). Każdy z rozdziałów od II do IV oddzielnie zawiera podrozdziały: „Materiały i metody” oraz „Wyniki”, a w przypadku rozdz. III, także „Dyskusję”, co wydaje się uzasadnione (wymuszone) wobec złożoności eksperymentów, mnogości analizowanych czynników i to w różnych kombinacjach. Rozdział V stanowi końcowa dyskusja, wykazująca osiągnięcie postawionych w pracy celów. W rozdziale tym Autor odnosi się także do hipotez badawczych i danych publikowanych oraz przedstawia analizę możliwych następstw (implikacji) wyników badań. Rozprawę kończy zredagowany w formie zwięzłych, logicznie zestawionych punktów rozdział VI „Podsumowanie”, który stanowi syntezę odzwierciedlającą główne tezy pracy. Niezwykle obszerny spis literatury obejmuje 365 pozycji (rozdz. VII) i świadczy o wnikliwych studiach Doktoranta w zakresie bibliografii przedmiotu, w trakcie badań i podczas opracowania rozprawy doktorskiej. Odrębną, część opracowania stanowi Aneks obejmujący zestawienie: 1) analiz statystycznych pomiarów dynamiki wzrostu grzybni przy zastosowaniu różnych wyciągów, w postaci 58 tabel, oraz 2) dokumentację analiz chromatograficznych UPLC-PDA-ESI-MS poszczególnych ekstraktów, w postaci 28 rycin z od 2 do 7 chromatografami; w sumie dodatkowe 215 stron opracowania. Praca napisana jest fachowym, a zarazem ładnym językiem i dopracowana pod względem edytorskim. Zwraca uwagę bardzo staranne udokumentowanie wszystkich przeprowadzonych obserwacji i analiz.

Od strony merytorycznej rozprawa doktorska mgr. Łukasza Furmanka stanowi złożone studium eksperymentalne nad wpływem substancji porostowych, szczególnie tych o charakterze metabolitów wtórnych, na wybrane wielkoowocnikowe grzyby glebowe. Autor postawił sobie za cel nie tylko stwierdzenie, czy i w jakim stopniu oraz w jakich warunkach rozpuszczone w wodzie substancje porostowe mogą ograniczyć rozwój grzybów glebowych. Cele dodatkowe obejmowały: przetestowanie pod względem efektywności różnych metod ekstrakcji substancji porostowych; sprawdzenie jako źródła substancji porostowych kilku pospolitych gatunków naziemnych i jednego epifitycznego; przetestowanie czy na grzyby efektywniej oddziałują ekstrakty z jednego, czy z kilku gatunków porostów; i wreszcie wykazanie czy substancje porostowe mogą stanowić naturalny czynnik wpływający na dynamikę procesów glebotwórczych oraz przeciwdziałać grzybom patogenicznym.

W wyniku przeprowadzonych badań Autor stwierdził, iż potencjał substancji porostowych w zakresie oddziaływania na grzyby wielkoowocnikowe jest znacznie szerszy aniżeli zakładany porządkowo w ramach hipotez badawczych. Eksperymenty pozwoliły na wykrycie prawidłowości, które można podsumować następująco:

1. Interakcje pomiędzy ekstrahowanymi wodą kompleksami substancji porostowych i testowanymi gatunkami grzybów są specyficzne.
2. Substancje porostowe mają potencjał inhibicyjny wobec testowanych grzybów ale nie oddziałową grzybobójczo.
3. Małe dawki ekstraktów wodnych z plech porostów wpływają na rozwój grzybni stymulująco; zwiększenie dawki może skutkować zarówno silniejszą inhibicją wzrostu grzybni, jak i jej stymulacją (efekt hormezy).
4. Sposób suplementacji ekstraktów wpływa na dynamikę wzrostu grzybni.
5. Potencjał inhibicyjny kompleksów substancji porostowych uzyskanych z plech kilku gatunków porostów jest słabszy niż ekstraktów jednogatunkowych.
6. Dynamika wzrostu testowanych grzybów pod wpływem kompleksu substancji porostowych wskazuje na możliwość oddziaływania porostów na procesy glebotwórcze.

Niezwykle ważne są powstałe wnioski praktyczne w odniesieniu do gatunków grzybów wybranych do testów w ramach rozprawy doktorskiej. I tak: (1) potwierdzone właściwości inhibicyjne kompleksów substancji porostowych wobec kultur *Heterobasidion parviporum* mogłyby wspomóc prewencyjną walkę z rozprzestrzenianiem się tego pasożyta drzew w kompleksach leśnych; (2) doświadczenia pokazują ograniczone możliwości hamującego oddziaływania większości ekstraktów wodnych uzyskanych z porostów naziemnych na infekcję drzew przez *Armillaria borealis*, niemniej substancje z plech *Pseudevernia furfuracea* wydają się mieć potencjał w tym względzie; (3) oddziaływanie substancji porostowych na ektomikoryzowego grzyba *Hebeloma crustuliniforme* nie ma charakteru grzybobójczego, ale raczej stymulujące jego wzrost, co zwiększa zdolności zawiązywania interakcji symbiotycznych z korzeniami drzew (potencjał promikoryzowy).

Przeprowadzone analizy nie wyjaśniają wszystkich zaobserwowanych zależności. Doktorant, co bardzo istotne, zdaje sobie z tego sprawę i na niektóre z tych zagadnień zwraca uwagę w dyskusji, wskazując potrzebę dalszych pogłębionych badań.

Z pozycji recenzenta w trakcie lektury rozprawy doktorskiej, nasunęło mi się kilka mniej lub bardziej pozytywnych uwag. Zasadnicza dotyczy konstrukcji pracy, szczególnie w odniesieniu do niezwykle rozbudowanego spisu jej treści (obejmuje 8 stron tekstu). Doktorant w sposób detaliczny podzielił treść pracy, szczególnie w części obejmującej wyniki badań, na podrozdziały do czwartego rzędu włącznie, co utrudnia czytelnikowi orientację oraz percepcję najbardziej istotnych treści. Korzystnie bardzo na tym tle wybijają się syntetyczne podejście i profesjonalna narracja w rozdziale „Dyskusja”. W tym ostatnim Autor zwięźle, jednocześnie swobodnie odnosi się do implikacji wyników badań zarówno z punktu widzenia fitofarmakologicznego (farmakognozji) jak i ekologicznego (ekosystemowego); także fitofarmaceutycznego i ekonomicznego. Tym samym

rozprawa doktorska Ł. Furmanka wyróżnia się niezwykle dojrzałym jak na pracę doktorską sposobie przeprowadzenia dyskusji wyników badań.

Tutaj, pragnę dodać, że wieloaspektowość to z pewnością atut w podejmowaniu zadań naukowych. Niemniej rozbudowane cele, które sobie Doktorant postawił w połączeniu z Jego drobiazgowością sprawiły, że balansował na granicy możliwości spójnego przeanalizowania wyników swoich badań (wymusiło to konieczność dużego defragmentowania treści pracy). Tym razem sobie z tym poradził. Podejście takie może jednak stanąć na drodze do zakończenia sukcesem podjętych projektów badawczych. Nie odnoszę się tutaj do kwestii rozbudowanych i niezwykle detalicznych fragmentów tekstu, czy opisów tabel i rycin. Nastręczy to wiele trudności w tłumaczeniu pracy na j. angielski ale reguły konstrukcyjne tego języka samoistnie wymuszą pewne uproszczenia. Kwintesencją tej uwagi jest natomiast stwierdzenie, że recenzowana praca jest zbyt obszerna jeśli chodzi o zakres tematyczny. W istocie łączy dwa opracowania; jedno dotyczące sfery metodycznej, zarówno w aspekcie pozyskiwania jak i analizy substancji porostowych i drugie obejmujące eksperyment mający odpowiedzieć na problem postawiony w tytule rozprawy doktorskiej. Mam głęboką nadzieję, że wysiłek jaki Autor musiał włożyć aby wykonać tę wielozadaniową pracę, przeanalizować wszystkie jej efekty i zamknąć całość w ramach dysertacji doktorskiej skłonią Go do refleksji i wyciągnięcia stosownych wniosków na przyszłość.

Nadmienię, że w pracy zdarzają się drobne niedociągnięcia czy skróty myślowe wymagające korekty. Takie określenia jak „metoda herbaciana” (w odniesieniu do ekstrakcji wodą na gorąco), czy „metoda żarówkowa” (w odniesieniu do ekstrakcji wodnej poprzez nagrzewanie żarówką), aczkolwiek bardzo praktyczne poprzez proste skojarzenia, w opracowaniu naukowym rażą swoim bardzo roboczym charakterem. Według Tabeli 17 badaniami objętych zostało 18 gatunków porostów, tymczasem w eksperymencie na możliwość przenikania substancji do gleby pojawia się kolejne dwa *Cladonia coniocraea* i *C. pyxidata* (z nikłym udziałem %). Dla przykładu cytuję także „... Plechy *Ramalina farinacea* i *Usnea dasopoga* zbierano z ziemi, spod drzew-gospodarzy.”, tego ostatniego określenia nie stosujemy w przypadku epifitów, gdyż „gospodarz” kojarzony jest raczej z pasożytniczym trybem odżywiania. Dziwi nieco sformułowanie „pułapki porostowe” czy „przesącz porostowy” w przypadku eksperymentu w kierunku pozyskania naturalnego, wodnego przesączu z plech porostów. Dodam, że Autor wielokrotnie używa także powszechnego, będącego typowym neologizmem, sformułowania „dane literaturowe” zamiast „dane z literatury” lub „dane publikowane”.

Wobec opisanych, oczywistych walorów naukowych recenzowanej rozprawy doktorskiej, wskazane mankamenty nie rzutują na moją bardzo wysoką jej ocenę. Praca wykonana została poprawnie metodycznie, postawione cele zostały w pełni zrealizowane, a weryfikacja hipotez

badawczych wnosi nowe, oryginalne odkrycia naukowe w dyscyplinie nauk biologicznych. Pragnę podkreślić, że praca po znaczącym skróceniu i w podziale na części zasługuje na opublikowanie w dobrym czasopiśmie naukowym. W całości świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu warsztatowym i nieprzeciętnym zacięciu poszukiwawczym Autora. Opanowany przez niego naukowy warsztat pracy, obejmujący różne metody badawcze oraz widoczna pasja, dociekliwość i niezwykła pracowitość bardzo dobrze rokują w kontekście podejmowania przez Niego kolejnych przedsięwzięć naukowo-badawczych.

Z całym przekonaniem stwierdzam, że oceniana rozprawa spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim. W związku z tym wnoszę do Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie **mgr. Łukasza Furmanka** do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie i nagrodzenie tej wartościowej pracy doktorskiej.

Kraków, 31 marca 2022



