

Dr hab. inż. Joanna Puła, prof. URK

Kraków, 20.08.2025r.

Katedra Agroekologii i Produkcji Roślinnej

Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

RECENZCJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgra inż. Wojciecha Biszczaka

nt. „Biotyczne i abiotyczne elicytory indukujące mechanizmy obronne roślin jako
sposób biofortyfikacji żywności pochodzenia roślinnego”

wykonanej w Katedrze Herbologii i Technik Uprawy Roślin

Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

pod kierunkiem dr hab. Krzysztofa Różyło, profesora uczelni.

Podstawą formalną wykonania recenzji jest pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Pani dr hab. Sylwii Andruszczak, prof. uczelni, gdzie na posiedzeniu Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo w dniu 2.07.2025 roku zostałam wyznaczona na recenzenta wyżej wymienionej rozprawy doktorskiej (pismo NE.5200.1.2.2025 z dnia 7 lipca 2025r.)

1. Ocena podjętej tematyki badawczej

Zastosowanie elicytorów (biostymulatorów), substancji indukujących naturalne mechanizmy odpornościowe roślin, we współczesnym rolnictwie stanowi ważny element w agrotechnice roślin uprawnych. Związane jest to przede wszystkim z poszukiwaniem nowych niechemicznych metod ochrony roślin, a tym samym poprawie odporności roślin na stresy środowiskowe. Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgra inż. Wojciecha Biszczaka przedstawia wyniki z 2-letniego doświadczenia polowego, gdzie elicytory stosowano w okresie wegetacji, w uprawie pszenicy jarej i kukurydzy. Temat dysertacji jest aktualny i ważny z naukowego i praktycznego punktu widzenia. Tematyka wpisuje się w dziedzinę nauk rolniczych i dyscyplinę rolnictwo i ogrodnictwo.

2. Ocena struktury rozprawy doktorskiej

Rozprawa obejmuje 123 strony. Częścią wstępną jest 1-stronicowe streszczenie w języku polskim i angielskim, w którym wyróżniono 4 akapity tekstu, wprowadzające czytelnika w tematykę rozprawy. Maszynopis składa się z 7 rozdziałów głównych, są to: 1)

Wstęp - 21 stron, 2) Cel i hipoteza badań - 1 strona, 3) Metodyka badań - 21 stron, 4) Wyniki badań - 36 stron, 5) Dyskusja - 18 stron, 6) Wnioski - 2 strony, 7) Literatura - 22 strony. Ponadto rozdziały 1, 3, 4, 5 zostały podzielone na podrozdziały pierwszego i kolejnych rzędów. Taki układ pracy jest czytelnym i logicznie ułożonym opracowaniem, co świadczy o opanowaniu przez Pana mgr inż. techniki pisanie prac naukowych. Praca napisana jest poprawnym językiem i zawiera bardzo dużo nowych określeń naukowych, co dowodzi, że Pan mgr inż. zna zakres tematyczny literatury z przedmiotu przeprowadzonych badań.

3. Merytoryczna ocena pracy

Tytuł rozprawy „Biotyczne i abiotyczne elicytory indukujące mechanizmy obronne roślin jako sposób biofortyfikacji żywności pochodzenia roślinnego” sugeruje, że w pracy będą omówione elicytory i ich wpływ na plon i parametry plonowania roślin oraz oceniana będzie jakość żywności. Pierwsza część tytułu – „Biotyczne i abiotyczne elicytory indukujące mechanizmy obronne roślin...” jest zgodna z treścią, natomiast druga część ... jako sposób biofortyfikacji żywności pochodzenia roślinnego” jest pośrednio związana z treścią, ponieważ Autor na podstawie przeprowadzonych badań skupił się na ocenie jakościowej surowca do produkcji żywności jakim jest ziarno pszenicy jarej i kukurydzy. Zatem bardziej zasadny byłby tytuł „Biotyczne i abiotyczne elicytory indukujące mechanizmy obronne roślin oraz ich wpływ na plonowanie i parametry jakościowe ziarna”. Jest to moja propozycja jako recenzenta i wskazówka co do późniejszego opublikowania wyników badań.

„Wstęp” – rozdział logicznie podzielony na 6 podrozdziałów, obejmujący 21 stron maszynopisu. Zawarte treści nawiązują do tematyki badań. Jest to rozdział poparty liczną literaturą, szczególnie tą z ostatnich lat, co świadczy o szerokim rozpoznaniu tematu badań przez Doktoranta oraz o ich ważności we współczesnym zrównoważonym rolnictwie. Najpierw przedstawione są zagadnienia dotyczące stosowania chemicznej ochrony roślin, poparte danymi statystycznymi a dalej opisane jest zjawisko pojawiającej się odporności i związane z tym problemy w ochronie roślin. Jako przeciwdziałanie tym skutkom można stosować elicytory, które są bardzo istotnym ogniwem biorącym udział w regulacji procesów zachodzących w komórkach w zależności od zewnętrznych zagrożeń. Autor podaje przykłady elicytorów biotycznych i abiotycznych, wyjaśnia ich mechanizm działania oraz podaje na podstawie literatury ich zastosowanie w biotechnologii i rolnictwie. Rozwija to problem badawczy, wprowadza czytelnika w tematykę badań oraz wyjaśnia potrzebę prowadzenia doświadczeń z tego zakresu. W podrozdziale 1.6. jest wyjaśnienie dotyczące wyboru do badań 8 elicytorów tj.: nadtlenek wodoru, chityna, mikronizowany proszek ze świerszczy,

jodek potasu, kwas salicylowy, L-feniloalanina, podchloryn sodu i chlorowodorek chitozanu. Autor wyjaśnia, że wybór preparatów do badań oraz dawki określił na podstawie literatury oraz badań laboratoryjnych przeprowadzonych na siewkach pszenicy.

Tu nasuwa się pytanie: dlaczego badania przeprowadzono tylko dla pszenicy? Co było powodem że ich nie przeprowadzono także dla kukurydzy?. Czy testowano różne dawki elicytorów i zaobserwowano skutki ich działania na siewkach testowanej pszenicy? W jakich warunkach i jak długo prowadzono badania laboratoryjne?

Cel i hipoteza badań (rozdział 2) – nadrzędny cel badań, jak Autor podaje, skupiał się na wielopoziomowej ocenie skuteczności oddziaływania wybranych elicytorów indukujących mechanizmy obronne roślin uprawnych, a dokładnie pszenicy jarej i kukurydzy w uprawie polowej w kontekście biofortyfikacji żywności i zwiększenia odporności roślin na patogeny. Następne sformułowane przez Autora dalsze cele, dotyczące jakości ziarna, stopnia porażenia przez patogeny oraz analiz biochemicznych ziarna można było przedstawić jako cele szczegółowe, co dałoby całościowy, uporządkowany obraz prowadzonych badań.

W tym rozdziale Autor przedstawia także hipotezę badań, że zastosowanie elicytorów poprawi parametry jakościowe ziarna bez istotnego ograniczenia plonu oraz zwiększy naturalną odporność roślin na patogeny. Doktorant uzasadnił treść hipotezy, że w założeniu powinno to skutkować ograniczeniem działalności patogenów i zwiększeniem wartości żywieniowej i funkcyjnej ziarna bez istotnego negatywnego wpływu na ilość plonu użytkowego. Jest to poprawne sformułowanie.

Metodyka badań (rozdział 3) - w tym rozdziale Autor dokładnie opisał warunki prowadzenia doświadczenia polowego w latach 2020-2021 oraz agrotechnikę uprawianych roślin i metodykę analiz laboratoryjnych. Doświadczenie założono w układzie dzielonych poletek (split-plot) w trzech powtórzeniach, co jest zgodne z metodyką stosowaną w doświadczalnictwie polowym i stanowi wystarczający materiał źródłowy. Głównym czynnikiem badawczym było zastosowanie różnych elicytorów (2 krotnie w okresie wegetacji pszenicy jarej i kukurydzy) tj.: nadtlenek wodoru, chlorowodorek chitozanu, odbiałczona chityna ze świerszczy, mączka ze świerszczy, kwas salicylowy, podchloryn sodu, jodek potasu oraz feniloalanina. Głównym zadaniem była ocena ich wpływu na rozwój roślin i jakość plonu na tle obiektu kontrolnego (bez zastosowania elicytorów). Rozdział został podzielony na 11 podrozdziałów a w niektórych z nich wyodrębniono dalsze podrozdziały (podrozdział 3.9, 3.10) opisujące dokładne postępowanie przy analizach wartości odżywczych i prozdrowotnych ziarna pszenicy jarej i kukurydzy oraz ocenie ekspresji genowej enzymów antyoksydacyjnych. Przeprowadzone obserwacje w trakcie wegetacji roślin oraz sposób

wykonania analiz laboratoryjnych są poparte właściwą literaturą, co dowodzi znajomości przez Autora tematyki badań.

Podrozdział 3.11. dotyczy analiz statystycznych wyników, którą wykonano dla średnich z trzech powtórzeń przy użyciu programu AnalWar 5.3. autorstwa prof. F. Rudnickiego oraz Statistica 13.3 (StatSoft Polska). Przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA), a NIR dla średnich oceniano przy użyciu testu Tukeya przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Zaproponowane statystyczne opracowanie wyników jest poprawne i zgodne z metodologią z tego zakresu.

Rozdział 4 „Wyniki badań” - jest to 36 stron maszynopisu, który został podzielony na 2 podrozdziały: 4.1. dotyczy wyników w uprawie pszenicy jarej a 4.2. w kukurydzy. Jest to czytelny układ i pozwala do każdej testowanej rośliny odnieść się z osobna i prześledzić efekty badań polowych i laboratoryjnych.

W uprawie pszenicy jarej przeprowadzono serię obserwacji i analiz, które są omówione w podrozdziałach 4.1.1 do 4.1.6, a w kukurydzy w podrozdziałach 4.2.1 do 4.2.4, jest to mniej o 2 serie, a mianowicie nie wykonano obserwacji porażenia roślin kukurydzy chorobami i ekspresji genowej. Można domniemać, że badania dotyczące ekspresji genowej są kosztowne i dlatego zrezygnowano z nich wykonania w ziarnie kukurydzy, ale dlaczego nie wykonano obserwacji zdrowotności roślin kukurydzy? Proszę Doktoranta o wyjaśnienie tej kwestii.

Omówienie wyników pszenicy jarej to 19 tabel i 8 wykresów, a kukurydzy to 13 tabel. Tabelaryczne i graficzne przedstawienie wyników jest czytelne, ujmuje średnie dla lat badań i testowanego czynnika oraz odchylenia standardowe. W wyniku przeprowadzonej analizy statystycznej w każdej tabel przedstawiono wartości NIR, a dla zawartości aminokwasów w ziarnie pszenicy jarej i kukurydzy zastosowano oznaczenia a-d sugerujące istotne lub nieistotne statystyczne zależności pomiędzy średnimi. Ten sposób (literowy) zastosowano także na wykresach dotyczących ekspresji genów w ziarnie pszenicy (podrozdział 4.1.6.). Omówienie wyników jest obszerne i dokładne.

„Dyskusja” - to 18 stron maszynopisu, prawidłowo nawiązująca do otrzymanych wyników i logicznie podzielona na 2 podrozdziały, dotyczące pszenicy jarej i kukurydzy. Jest to analogiczne z przedstawieniem wyników badań. Autor w tej części rozprawy doktorskiej konfrontuje wyniki własne z danymi z literatury. Uwagę zwraca na elicytory, które były już testowane w uprawie różnych roślin w innych ośrodkach krajowych i zagranicznych. Opisuje efekty naukowe znane w literaturze dotyczące działania testowanych elicytorów podając ich wpływ na wielkość i jakość plonu, szczególnie na skład biochemiczny ziarna. W tej części

rozprawy, Pan mgr inż. Wojciech Biszczak podaje wiele istotnych i znaczących pozycji najnowszej literatury z zakresu prowadzonych badań. Umiejętnie, skrótowo opisuje rezultaty badań własnych i porównuje je z wyniki udokumentowanymi w literaturze. Przedstawia także sugestie kontynuacji prac badawczych, ale już z pewnym planem, a mianowicie wykluczenia obiektów, które według opinii Doktoranta nie są przydatne w dalszych doświadczeniach, bo nie odniesiono sukcesu w ich stosowaniu w uprawie pszenicy jarej i kukurydzy. Jest to właściwe podejście to prowadzenia prac badawczych, gdzie należy dokonać krytycznej oceny prowadzonych badań.

„Wnioski” (rozdział 6) - jest ich 10 i zostały sformułowane w oparciu o uzyskane wyniki. Korespondują z tematem rozprawy oraz hipotezą badawczą i celem pracy. W ich treści znalazły się nie tylko rezultaty badań ale także wskazówki co do dalszych prac naukowych w tym zakresie. We wniosku 5, sformulowano wykluczenie jodku potasu i podchlorynu sodu z dalszych badań, ze względu na negatywny wpływ na badane parametry pszenicy jarej i kukurydzy, a w treści wniosku 10 znalazło się stwierdzenie o konieczności kontynuowania badań w celu poznania mechanizmów działania elicytorów na rośliny przy zastosowaniu innych dawek, terminów stosowania oraz form aplikacji innych niż w przeprowadzonym przez Doktoranta dwuletnim doświadczeniu.

Najważniejsze osiągnięcia, które Doktorant ujmuje we wnioskach to:

1. Wyniki wskazują na potencjał wybranych elicytorów w poprawie parametrów jakościowych pszenicy jarej i kukurydzy bez negatywnego wpływu na plonowanie.
2. Szczególnie pozytywne rezultaty osiągnięto po zastosowaniu nadtlenku wodoru. Substancja ta istotnie zwiększała plon ziarna, korzystnie wpływała na zawartość fenoli oraz aktywność antyoksydacyjną, a także poprawiała profil aminokwasowy ziarna.
3. Odbiałczona chityna ze świerszczy oraz chlorowodorek chitozanu wykazały pozytywny wpływ na cechy jakościowe ziarna, istotnie zwiększając zawartość związków fenolowych oraz poprawiając aktywność antyoksydacyjną. Substancje te nie powodowały istotnego statystycznie zmniejszenia wielkości plonu pszenicy jarej i kukurydzy w stosunku do kontroli.
4. Analizowane elicytory istotnie różniły się skutecznością w ograniczaniu porażenia pszenicy jarej przez patogeny. Najwyższą efektywność ochronną wykazał nadtlenek wodoru.
5. Jodek potasu oraz podchloryn sodu wykazały negatywny wpływ na plonowanie oraz parametry jakości żywieniowej i funkcyjnej ziarna.

6. Zastosowanie elicytorów poprawiało parametry struktury plonu, takie jak: masa słomy, współczynnik zbioru (HI) oraz masa tysiąca ziaren. Szczególnie efektywne pod tym względem były: mączka ze świerszczy, fenyloalanina oraz chlorowodorek chitozanu.
7. Nadtlenek wodoru, chlorowodorek chitozanu, odbiałczona chityna oraz kwas salicylowy, istotnie zwiększały zawartość substancji bioaktywnych, takich jak związki fenolowe oraz poprawiały aktywność antyoksydacyjną ziarna.
8. Profil aminokwasowy ziarna ulegał wyraźnej poprawie pod wpływem działania wybranych elicytorów (HP, PA i CH) zwiększając zawartość aminokwasów egzogennych, takich jak lizyna czy leucyna.

„Literatura” przedstawiona została w rozdziale 7. Cała lista bibliografii to 234 pozycje, w tym 33 to prace z polskich ośrodków. Ponad 91% pozycji literaturowych to prace anglojęzyczne, a pozostałe 21 prac jest cytowanych w języku polskim, stanowi to tylko 9% całości literatury, co świadczyć może o dobrej znajomości języka obcego i umiejętności wyszukiwania tematycznych źródeł literatury przez Pana mgr inż. Wojciecha Biszczaka. Na uwagę zasługuje wykorzystanie w manuskrypcie najnowszych pozycji; 17 prac to publikacje przed 2000 rokiem, pozostałe to lata 2000 do 2025 roku. Te najczęściej cytowane prace to: z zakresu rolnictwa, np.: *Agronomy*, *Crop Science*, *Agriculture*, z technologii żywności: *Food chemistry*, *Foods*, a z zakresu fizjologii, biochemii i ochrony roślin oraz medycyny: *Molecules*, *Journal of biotechnology*, *Plant biology*, *Crop protection*, *Medicine*. Dobór literatury jest zgodny z zakresem badań przeprowadzonych przez Doktoranta i odzwierciedla stan wiedzy dotyczącej podjętej tematyki. W tym rozdziale są drobne niedociągnięcia, a mianowicie brak jest niektórych pozycji w spisie które są cytowane w tekście i odwrotnie, są pozycje w spisie, których nie ma w tekście. Ponadto są też błędy w nazwiskach lub datach opublikowania zacytowanych prac, niepotrzebne imiona autorów, i inne drobne błędy edytorskie.

4. Uwagi i wniosek końcowy

Rozprawa doktorska jest przygotowana starannie pod względem edytorskim. Jako recenzent wskazuję błędy lub nieścisłości, które mogą być pomocne przy przygotowywaniu publikacji z pozyskanych rezultatów badań, są one następujące:

1. Określenie „warunki klimatyczno-pogodowe” (str. 20), jest niepoprawne, powinno być warunki meteorologiczne lub przebieg pogody w danym roku lub w okresie badawczym. Jest to zlepek dwóch słów o różnym znaczeniu.

2. W metodyce Autor pisze (str. 30 podrozdział 3.3.2, str. 34 podrozdział 3.4.2) , że powierzchnia poletek doświadczalnych wynosiła 15 m², i z każdego poletka pszenicy jarej pobrano rośliny z 1 m², oraz 10 roślin i kolb kukurydzy celem określenia parametrów plonowania. Tu nasuwa się pytanie, z jakiej powierzchni określono plon ziarna i słomy testowanych roślin? Proszę o uzupełnienie informacji.
3. Fotografie 5, 6, 7, 8, 9 autorstwa Doktoranta są niepoprawnie podpisane jako rysunki.
4. W spisie literatury pozycje: 69, 90, 107, 109, 110, 118, 145, 146, 161, 172, 189, 198, 203, 224, są brakujące w treści, a pozycje: Steven i Xinnian 2012, Zobayed i in. 2007, są brakujące w spisie.
5. Niektóre pozycje, np. Bendahmane 1999, Bigeard 2015, Byczkowski 2009, Cakmak 2017, González-Neves 2002, Sánchez-Rodríguez 2021, w spisie literatury są to prace wieloautorskie, a w treści są przedstawione jako prace jednego autora.
6. Pozycje 149, 230 i 234, mają inne daty, 149 w spisie z 2019, w treści z 2018, powinno być 2019, 230 - w spisie jest z roku 2017, a w treści z 2007, poprawna data to 2007 rok, 234 z roku 2005 w spisie, w treści z 2007, poprawa data to rok 2005.
7. Pozycja 180 i 181 w spisie literatury to te same publikacje.
8. Pozycja 218 to dwie prace, błędnie zapisane pod jednym numerem.
9. Warto też zwrócić uwagę, że zdarza się, że Doktorant skraca nazwiska podwójne pierwszych zacytowanych autorów prac, np. Correa-Aragunde i współautorzy w spisie, a w treści ta sama praca jest zacytowana jako Correa, Dal Bosco Ducatti, cytowana jest jako Ducatti.

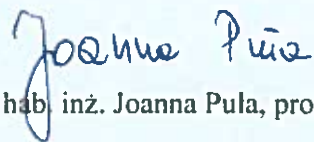
Moje uwagi lub propozycje wyjaśnień zamieszczone w recenzji doktoratu Pana mgr inż. Wojciecha Biszczaka nie ujmują wartości naukowej pracy, ale mogą być pomocne przy przygotowywaniu wyników do druku w czasopismach naukowych.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr inż. Wojciecha Biszczaka ant. **„Biotyczne i abiotyczne elicytory indukujące mechanizmy obronne roślin jako sposób biofortyfikacji żywności pochodzenia roślinnego”** wykonana w Katedrze Herbolgii i Technik Uprawy Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem dr hab. Krzysztofa Różyło, profesora uczelni, stanowi oryginalne osiągnięcie naukowe.

Zgodnie z wymogami określonymi w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2024 r. poz. 1571), biorąc pod uwagę zakres, sposób i opis przeprowadzenia badań będących przedmiotem przedstawionej do oceny pracy

doktorskiej stwierdzam, że spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Na tej podstawie wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie Pana mgra inż. Wojciecha Biszczaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. inż. Joanna Pula, prof. URK