

Dr hab. inż. Jan Buczek, prof. UR

Rzeszów, 06 sierpnia 2025r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej **mgr. inż. Wojciecha Biszczaka**

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

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobioinżynierii

Katedra Herbologii i Technik Uprawy Roślin

Promotor: Dr hab. inż. Krzysztof Różyło, profesor uczelni

Podstawą opinii jest pismo Pani Dr hab. inż. Sylwii Andruszczak, profesor uczelni, Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 07 lipca 2025 (nr. NE.5200.1.2.2025).

Ocena wyboru problematyki badawczej

Pszenica (*Triticum aestivum* L.) i kukurydza (*Zea mays* L.) są obecnie jednymi z głównych roślin zbożowych uprawianych na świecie, w Europie, a także w naszym kraju. Nie bez znaczenia jest fakt, że pszenica i kukurydza w porównaniu z innymi najważniejszymi zbożami, odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu globalnego bezpieczeństwa żywnościowego. Polska jest znaczącym producentem pszenicy i kukurydzy w Unii Europejskiej, a wszechstronność użytkowana ziarna tych gatunków sprawia, że popularność ich uprawy wzrasta.

Ziarno pszenicy jest wykorzystywane w przemyśle spożywczym do produkcji mąki, kasz, płatków zbożowych, makaronów i wyrobów piekarniczych lub jako dodatek do innych produktów spożywczych. Ziarno pszenicy jest źródłem nie tylko białka, węglowodanów czy tłuszczu lecz również substancji prozdrowotnych takich jak błonnik, witamin z grupy B, kwasu foliowego czy wielu makro i mikroelementów. Z kolei kukurydza odgrywa również istotną rolę w przemyśle spożywczym, ale jest przede wszystkim cenną rośliną pastewną wykorzystywaną w żywieniu wielu gatunków zwierząt hodowlanych oraz rośliną przemysłową coraz częściej wykorzystywaną jako surowiec energetyczny.

Plon i jakość ziarna pszenicy i kukurydzy są uzależnione głównie od wymagań glebowych, klimatycznych, genotypu odmiany ale także od zabiegów agrotechnicznych, spośród których ważną rolę odgrywa ochrona roślin. Ograniczenie ilości stosowania środków ochrony roślin ma uzasadnienie zarówno ekonomiczne, agrotechniczne, jak i ekologiczne, co potwierdzono w niektórych badaniach zarówno w stosunku do gatunków zbóż jak i ich odmian. Jednak obecnie w krajach UE zarówno przepisy prawne zakładające redukcję stosowania lub wycofywanie niektórych chemicznych środków ochrony, lecz także świadomość społeczna zarówno producentów jak i konsumentów żywności, wymuszają wdrażanie nowych rozwiązań w

zakresie ochrony roślin ukierunkowanych na obniżenie kosztów produkcji przy jednoczesnym zapewnieniu stabilności i jakości plonów. Konieczne jest więc poszukiwanie sposobów i metod efektywnych, bezpiecznych dla środowiska i ekonomicznie opłacalnych a jednocześnie spełniających wymogi zrównoważonego rolnictwa, które staje się wyznacznikiem jakości dla rolników i producentów żywności.

Środki wspomagające wzrost roślin (elicytacja, biostymulacja) są obecnie coraz częściej stosowane w celu zwiększenia ilości metabolitów wtórnych, a tym samym odporności roślin na czynniki stresowe. Jednak brak jest wiedzy lub jest ona nie pełna na temat wpływu elicytorów w odniesieniu do wzrostu i poprawy jakości plonów roślin uprawianych polowo w danych warunkach glebowych i klimatycznych. W tym kontekście badania mające na celu weryfikację wybranych elicytorów biotycznych i abiotycznych na parametry plonowania, jakość ziarna oraz odporność pszenicy jarej i kukurydzy na choroby w rejonie Polski południo-wschodniej mają duże znaczenie. Dobór tematu rozprawy doktorskiej oceniam więc pozytywnie, jest on adekwatny do treści zawartych w rozprawie i wskazuje na wielowątkowość zamierzeń badawczych przedstawionych w pracy. Tematyka badawcza przedstawiona w rozprawie doktorskiej jest aktualna i spełnia warunek oryginalności, a poruszany w niej problem badawczy uznaję za ważny pod względem naukowym, jak i aplikacyjnym.

Podstawa metodologiczna badań

Przedstawiona do oceny praca prezentuje wyniki badań uzyskane w dwuletnim (2020-2021) ścisłym doświadczeniu polowym zlokalizowanym w Gospodarstwie Doświadczalnym w Czesławicach (rejon Polski południowo-wschodniej), a należącym do Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Było to doświadczenie 1-czynnikowe w którym czynnikiem była aplikacja ośmiu różnych elicytorów w odpowiednich dawkach i stężeniach: C - kontrola (brak stosowania induktorów), CH - chlorowoderek chitozanu ($250 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$), DC - chityna wyizolowana z mikronizowanej mąki ze świerszczy ($250 \text{ g sm} \cdot \text{ha}^{-1}$), CP - ekstrakt z mikronizowanej mąki ze świerszczy (*Acheta domestica*) ($250 \text{ g sm} \cdot \text{ha}^{-1}$), HP - woda utleniona w stężeniu 1,5% ($15 \text{ l } 30\% \text{ H}_2\text{O}_2 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$), KI - jodek potasu ($150 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$), SA - kwas salicylowy ($41,4 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$), PA - L – fenyloalanina ($10 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$) i SH - podchloryn sodu w stężeniu 1,8% ($40 \text{ l } 15\% \text{ NaClO l} \cdot \text{ha}^{-1}$). Roślinami testowymi były pszenica jara odmiany Goplana oraz kukurydza odmiany Lokata. Doświadczenie założono w układzie dzielonych poletek (split-plot) w trzech powtórzeniach.

W pszenicy jarej elicytory zaaplikowano w 2 terminach: koniec krzewienia – początek strzelania w źdźbło (29-30 skali BBCH) oraz dojrzałość mleczno-woskowa ziarna (77-80 skali BBCH). W kukurydzy elicytory zaaplikowano również w 2 terminach: faza 6 liści (16 skali BBCH) i faza 3 kolanka (33 skali BBCH).

Doświadczenie zaplanowano i zrealizowano więc zgodnie z przyjętymi standardami, a metody badawcze zostały odpowiednio dobrane.

Komplementarna analiza statystyczna wyników badań metodą analizy wariancji (ANOVA) umożliwiła wykazanie wpływu czynnika doświadczenia oraz lat badań i ich wzajemnych

interakcji na analizowane cechy. Wskazuje to na dobre przygotowanie Doktoranta do prowadzenia badań naukowych.

Ocena formalna pracy, struktura pracy oraz dokumentacja tabelaryczna i graficzna

Recenzowana praca doktorska napisana jest w języku polskim i obejmuje 123 stron wydruku komputerowego z 35 tabelami i 9 wykresami do których Autor odnosi się w treści pracy. Ponadto praca zawiera 9 rysunków spośród których 5 rysunków jest w postaci fotografii stanowiących dokumentację przeprowadzonych badań. Na początku pracy zamieszczono oświadczenie Promotora rozprawy doktorskiej o spełnieniu warunków do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego oraz oświadczenie Autora o samodzielnym napisaniu rozprawy doktorskiej. Następnie umieszczono streszczenia w języku polskim (1 strona) i angielskim (1 strona).

W zasadniczej części pracy wydzielono 7 logicznie następujących po sobie rozdziałów głównych: 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). Rozdziały obszerniejsze zostały podzielone na podrozdziały pierwszego rzędu i kolejnych rzędów co powoduje uprządkowanie treści pracy.

Praca napisana jest poprawną polszczyzną. Tabele i rysunki są czytelne i korespondują z treścią pracy. Praca edytorsko jest zredagowana poprawnie. Układ pracy jest właściwy i spełnia wymagania formalne stawiane rozprawom doktorskim.

Dobór oraz wykorzystanie piśmiennictwa

W rozdziale 7. **Literatura** Autor rozprawy zamieścił 235 pozycje piśmiennictwa w znaczącej większości obcojęzycznego, prezentowanego w renomowanych czasopismach naukowych. Spośród cytowanej literatury 110 pozycji (ok. 47%) zostało opublikowanych w ciągu 10 ostatnich lat, w tym 50 pozycji (ok. 21%) pochodzi z ostatnich 5 lat. Starsze publikacje są kluczowe i świadczą o poszukiwaniu przez Autora możliwie dostępnych danych literaturowych związanych z problematyką prowadzonych badań.

Dobór literatury cytowanej w treści pracy jest wyczerpujący, nie budzi zastrzeżeń i wskazuje na dobre przygotowanie Doktoranta do prowadzenia prac badawczych w zakresie realizowanej problematyki.

Merytoryczna ocena pracy

Rozprawę doktorską rozpoczynają rozdział 1. **Wstęp** w którym Autor wyodrębnił sześć podrozdziałów wprowadzając tym samym w problem badawczy i uzasadniając podjętą tematykę badań. W podrozdziale 1.1. Współczesna ochrona roślin, przedstawił jakie są wyzwania prawne i skutki ich zmian we współczesnej ochronie roślin oraz zwrócił uwagę na rolę indukcji odporności systemicznej roślin jako alternatywy tradycyjnych środków ochrony roślin. Następnie w kolejnym podrozdziale 1.2. Typy odporności rośliny na infekcje patogenne

i ich mechanizmy, scharakteryzował typy odporności roślin, podkreślając że są one kluczowym elementem długoterminowej strategii ochrony roślin przeciwko patogenom. W podrozdziale 1.3. Elicytacja, omówił zagadnienie elicytacji jako metody indukcji metabolizmu roślin uaktywniającej mechanizmy odporności systemicznej roślin, podkreślając znaczenie elicytorów biotycznych i abiotycznych w kontekście ich wykorzystania we współczesnym rolnictwie. W podrozdziałach 1.4. Pszenica jara i 1.5. Kukurydza, dokonał przeglądu problematyki badawczej związanej z dwoma testowanymi gatunkami w zakresie znaczenia ich uprawy, kierunku użytkowania, poziomu plonowania i jakości ziarna. W ostatnim podrozdziale 1.6. Uzasadnienie wyboru elicytorów, Doktorant przedstawił, że decydującym czynnikiem selekcji elicytorów do badań było określenie efektywności preparatów z różnych grup (abiotyczne, biotyczne, endogenne i egzogenne) w identycznych warunkach. Ponadto charakteryzując wybrane elicytory wskazał na ich rolę w mechanizmach obronnych roślin na stresy biotyczne i abiotyczne.

Podsumowując należy podkreślić, że treść rozdziału jest zredagowana zwięźle, a zawarte w jego podrozdziałach informacje są zwięzłym i jednocześnie wyczerpującym przeglądem piśmiennictwa, prezentującym problematykę pracy i uzasadniającym podjęcie badań. Rozdział ten oceniam pozytywnie.

W rozdziale 2. **Cel i hipoteza badań**, Doktorant przedstawił cel główny badań jako wielopoziomową ocenę skuteczności oddziaływania wybranych elicytorów indukujących mechanizmy obronne pszenicy jarej i kukurydzy w kontekście biofortyfikacji żywności na etapie produkcji polowej oraz zwiększania odporności tych gatunków na patogeny.

Aby osiągnąć zakładany cel badawczy, dokonał oceny wpływ badanych elicytorów na:

- na parametry ilościowe i jakościowe plonowania pszenicy jarej i kukurydzy,
- reakcje wybranych roślin na zastosowane elicytory w czasie wegetacji oraz ich wpływ na materiał generatywny po zakończeniu okresu wegetacyjnego,
- stopień porażenia patogenami oraz poziom ekspresji genów kodujących kluczowe enzymy biorące udział w mechanizmach odporności rośliny,
- aktywność antyoksydacyjną i antyrodnikową, zawartość fenoli oraz kompozycję aminokwasów.

W postawionej głównej hipotezie badawczej Autor przyjął założenie, że aplikacja elicytorów będzie indukować mechanizmy obronne u testowanych roślin, jakimi są pszenica jara i kukurydza w warunkach uprawy polowej. Pozwoli to na ograniczanie występowania patogenów i zwiększenie wartości żywieniowej i funkcyjnej ziarna bez istotnego negatywnego wpływu na ilość plonu ziarna. Rozdział ten nie budzi zastrzeżeń.

W rozdziale 3. **Metodyka badań**, Doktorant dokonał opisu eksperymentu i wykorzystanych metod badań. W badaniach uwzględnił osiem różnych elicytorów w pszenicy jarej i kukurydzy. Szczegółowy opis problematyki i zakresu badań przedstawiłem w rozdziale recenzji Podstawy metodologiczne badań.

Autor omówił warunki glebowe i pogodowe w okresie prowadzenia badań. Przedstawił przebieg agrotechniki i scharakteryzował odmianę pszenicy jarej i kukurydzy. Podał metodykę aplikacji elicytorów i sposób przygotowywania proszku ze świerszczy (*Acheta domestica*) w celu uzyskania dwóch autorskich elicytorów czyli chityny (DC) i ekstraktu (CP),

wyzolowanych z mikronizowanej mąki ze świerszczy. Opisał metody analizy parametrów plonowania badanych roślin oraz oceny porażenia przez choroby pszenicy jarej. Na szczególne podkreślenie zasługuje liczba i zakres analiz które zawarto w podrozdziale 3.9. Analiza wartości odżywczych i prozdrowotnych ziarna pszenicy i kukurydzy, gdzie wykonano oznaczenia podstawowych parametrów jakościowych ziarna i składu aminokwasów. W tym podrozdziale została dokładnie opisana metodyka dotycząca ekstrakcji wolnych i związanych związków fenolowych, ogólnej zawartości fenoli, aktywności przeciwrodnikowej (ABTS), siły redukcji (RP) i zdolności chelatowania (ChP). Odpowiedzią w jaki sposób rośliny reagują antyoksydacyjnie na ich zastosowanie, była rozbudowana analiza ekspresji genowej enzymów antyoksydacyjnych. Zebrane wyniki badań zostały opracowane statystycznie.

Reasumując, metody badawcze zostały poprawnie dobrane i zastosowane, co świadczy o bardzo dobrym opanowaniu przez Autora warsztatu badawczego. Zastosowana metodyka badań polowych i laboratoryjnych wymagały dużej wiedzy i kwalifikacji naukowych oraz zaangażowania Doktoranta.

Zasadniczą część rozprawy stanowi rozdział 4. **Wyniki badań**, gdzie w dwóch podrozdziałach zaprezentowano obszerny materiał wynikowy w 32 tabelach i na 8 wykresach. W podrozdziałach 4.1. Pszenica jara i 4.2. Kukurydza, Autor dysertacji omówił dla badanych gatunków parametry plonu i jakości ziarna, wartość antyoksydacyjną oraz zawartość aminokwasów w ziarnie. Ponadto w podrozdziale 4.1. określił wpływ elicytorów na wskaźniki porażenia pszenicy jarej przez zgorzel podstawy źdźbła, łamliwość źdźbła zbóż, rdzę brunatną liści, septoriozę liści i mączniak prawdziwy zbóż i traw. Ciekawym zagadnieniem naukowym była ocena przez Doktoranta poziomu ekspresji genowej enzymów antyoksydacyjnych takich jak dysmutaza ponadtlenkowa (Cu/Zn-SOD), katalaza (CAT), peroksydaza askorbinianowa (APX) oraz peroksydaza glutationowa (GPX). W tym celu użyto ziarniaków pszenicy jarej zebranych w fazie mleczno-woskowej (75-80 BBCH).

Podsumowując rozdział 4. stwierdzam że zebrany materiał badawczy został przedstawiony w sposób usystematyzowany w formie tabelarycznej i na wykresach, a także właściwie opisany. Umiejętnie i poprawnie zinterpretowane wyniki badań z wykorzystaniem analizy statystycznej świadczą o tym, że mgr inż. Wojciech Biszczak, jest dobrze przygotowany do prowadzenia badań naukowych.

Rozdział 5. **Dyskusja** stanowi konfrontację uzyskanych własnych wyników badań z wynikami badań innych autorów opublikowanymi w piśmiennictwie naukowym. W rozdziale tym Autor wydzielił dwa podrozdziały 5.1. Pszenica jara i 5.2. Kukurydza, w których w sposób uporządkowany wykorzystał dobrą znajomość badań i literatury w zakresie omawianej problematyki badawczej. Dyskusja jest więc rzeczowa i wyczerpująca. Rozdział ten został napisany rzetelnie.

Podsumowaniem rozprawy jest rozdział 6. **Wnioski**, w którym Doktorant nawiązując do celu pracy sformułował 9 merytorycznych poprawnie wniosków odnoszących się do przeprowadzonych badań. Wniosek 10 wskazuje na potrzebę kontynuowania badań w celu, jak słusznie stwierdza Autor pełnego zrozumienia mechanizmów oddziaływania elicytorów na rośliny oraz dalszej optymalizacji dawek, form aplikacji oraz terminów stosowania.

Rozprawa jest poprawnie zredagowana i opracowana, jednak przygotowując ją Autor nie uchronił się przed pewnymi uchybieniami, które mają charakter dyskusyjny lub redakcyjny:

- w tabelach 1 i 2 zostały podane zawartości makro i mikro składników w warstwie ornej gleby na stanowisku przed siewem pszenicy jarej i kukurydzy, proszę o odpowiedź czy te zawartości są średnią z lat badań, czy tylko z jednego roku badań,
- str. 30, linia 15 w jakiej dawce stosowano preparat Axial Komplet,
- proszę o podanie metodyki oznaczania wskaźnika sedymentacji Zeleny'ego,
- tabela 11, brak jednostki dla wartości wskaźnika sedymentacji Zeleny'ego,
- str. 80, linia 11 - powinno być Hayat i in. (2007); str. 87, linia 8 - powinno być Garcia Del Moral i in. (2007),
- str. 104, poz. 43. należy uzupełnić o nazwę czasopisma czyli J. Sci. Food Agric.,
- str. 115, poz. 218, wykazano 2 pozycje literatury; poz. 224, powinno być Koo, Y.M., Heo, A.Y., Choi, H.W. (2020),
- ujednolicenie zapisu fazy rozwojowej pszenicy jarej (75-80 BBCH), w rozdziałach 3.10.1 i 5.1 podano fazę mleczno-woskową, w rozdziale 4.1.6. wykresy 2-9 podano w okresie dojrzałości mleczej,
- w kontekście oceny plonu i jakości badanych roślin oraz obecnie występujących zmian klimatycznych, proszę o odpowiedź na pytanie jaki wpływ na wielkość plonu oraz jakość ziarna pszenicy i kukurydzy mają warunki stresowe związane z występowaniem suszy i wysokiej temperatury w okresie ich wegetacji.

Podsumowując stwierdzam, iż praca jest uporządkowana, logicznie spójna i wnosi oryginalny wkład do rozwoju wiedzy w zakresie ochrony roślin w zasiewach pszenicy jarej i kukurydzy. Należy podkreślić, że badania przeprowadzone przez mgr inż. Wojciecha Biszczaka są innowacyjne i mogą być wykorzystane w praktyce rolniczej.

W mojej opinii ważnym osiągnięciem aplikacyjnym przedstawionej rozprawy jest wykazanie, że:

1. Zastosowanie nadtlenu wodoru (HP) istotnie zwiększało plon, a odbiałczona chityna ze świerszczy (DC) oraz chlorowoderek chitozanu (CH) nie powodowały istotnego statystycznie zmniejszenia wielkości plonu ziarna. Ponadto substancje te wykazały pozytywny wpływ na cechy jakościowe, istotnie zwiększając zawartość związków fenolowych oraz poprawiając aktywność antyoksydacyjną ziarna.
2. Nadtlenu wodoru (HP) odznaczał się najwyższą efektywnością ochronną, istotnie zmniejszając porażenie zgorzelą podstawy źdźbła, septoriozą paskowaną liści oraz mączniakiem prawdziwym zbóż i traw. Kwas salicylowy (SA) ograniczał porażenia przez zgorzel podstawy źdźbła i septoriozę paskowaną liści, a chlorowoderek chitozanu (CH) skutecznie redukował septoriozę paskowaną liści.
3. Aplikacja nadtlenu wodoru (HP), L-fenylalaniny (PA) i chlorowodoru chitozanu (CH), sprzyjała wyższej wartości odżywczej ziarna poprawiając profil aminokwasowy ziarna i zwiększając zawartość ważnych aminokwasów egzogennych, takich jak lizyna czy leucyna.

Wniosek końcowy

Praca doktorska mgr inż. Wojciecha Biszczaka pt. „Biotyczne i abiotyczne elicytory indukujące mechanizmy obronne roślin jako sposób biofortyfikacji żywności pochodzenia roślinnego” stanowi oryginalny dorobek naukowy i przyczynia się do rozwoju badań naukowych w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 1571). Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Wojciecha Biszczaka ubiegającego się o stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk rolniczych dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo do dalszego etapu, jakim jest publiczna obrona rozprawy doktorskiej.

Ze względu na szeroki zakres i kompleksowość oraz wartość poznawczą i aplikacyjną prezentowanych badań, zwracam się z wnioskiem do Rady Naukowej Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o wyróżnienie niniejszej rozprawy stosowną nagrodą.

Rzeszów, 06 sierpnia 2025r.


dr hab. inż. Jan Buczek, prof. UR