

Kraków, 15 grudnia 2022

Dr hab. Maciej T. Grzesiak, profesor IFR PAN  
Instytut Fizjologii Roślin PAN  
ul. Niezapominajek 21  
30-239 Kraków

Wpłynęło dnia:

20. 12. 2022

Dziekanat Wydziału  
Biotechnologii i Ogrodnictwa URK

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Jakuba Pastuszaka pt.  
„Tolerancja wybranych form pszenicy twardej (*Triticum durum* Desf.) na zasolenie  
gleby, jony kadmu oraz porażenie *Fusarium culmorum*” wykonanej w Katedrze  
Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Uniwersytetu Rolniczego im. *Hugona  
Kollątaja* w Krakowie, pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Agnieszki Płażek oraz  
promotora pomocniczego dr Przemysława Kopcia**

Podstawą wykonania recenzji jest pismo prof. dr hab. Marcina Rapacza, przewodniczącego Rady dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. *Hugona Kollątaja* w Krakowie z dnia 27 października 2022 informujące o uchwale nr RD-86/2022 powołującej mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr inż. Jakuba Pastuszaka.

Podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora jest cykl czterech powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports:

**Pastuszek J.**, Kopeć P.\*, Płażek A., Gondek K., Szczerba A., Hornyák M., Dubert F. (2020). Cadmium accumulation in the grain of durum wheat is associated with salinity resistance degree. *Plant Soil Environment*, 66(6), 257-263

**Pastuszek J.\***, Kopeć P., Płażek A., Gondek K., Szczerba A., Hornyák M., Dubert, F. (2020). Antioxidant activity as a response to cadmium pollution in three durum wheat genotypes differing in salt-tolerance. *Open Chemistry*, 18, 1230–1241.

**Pastuszek J.\***, Dziurka M., Hornyák M., Szczerba A., Kopeć P., Płażek A.\* (2022). Physiological and biochemical parameters of salinity resistance of three durum wheat genotypes. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022; 23(15):8397.

**Pastuszek J.\***, Szczerba A., Dziurka M., Hornyák M., Kopeć P., Szklarczyk M., Płażek A. (2021). Physiological and biochemical response to *Fusarium culmorum* infection in three durum wheat genotypes at seedling and full anthesis stage. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7433.

Praca doktorska mgr inż. Jakuba Pastuszaka została przedstawiona w formie manuskryptu, który podzielono na rozdziały zgodnie z przyjętym schematem dla dysertacji doktorskich opartych na opublikowanych wynikach badań. Manuskrypt obejmuje rozdziały: Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, Streszczenie, Summary, Wprowadzenie, Przegląd literatury. Hipotezy badawcze i cel pracy, Materiał i metody, Najważniejsze wyniki, Wnioski oraz Spis literatury. W manuskrypcie zamieszczono odbitki 4 opublikowanych prac, oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz informacje o dotychczasowym dorobku naukowym Autora.

Podjęta przez Autora tematyka badań jest aktualna i niewątpliwie wynika z problematyki naukowej, która jest obecnie realizowana w Katedrze Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie w ramach projektów badawczych. Należy podkreślić, że manuskrypt rozprawy doktorskiej został pod względem edytorskim bardzo starannie przygotowany a Autor biegle wykorzystał dostępne programy komputerowe. Język w mojej ocenie jest poprawny, a na podkreślenie zasługuje fakt, że Autor ustrzegł się neologizmów i określeń anglojęzycznych. Pewne drobne uwagi zaznaczyłem w tekście do późniejszego wykorzystania.

Uwagi szczegółowe do manuskryptu rozprawy doktorskiej.

W rozdziale zatytułowanym „Wprowadzenie” Autor wykazuje, że panujące obecnie w Polsce warunki klimatyczne stworzyły możliwość uprawy pszenicy twardej, która w porównaniu z pszenicą zwyczajną cechuje się korzystniejszymi cechami jakościowymi mąki. Zasięg jej uprawy znacznie się zwiększył, gdyż dotychczas uprawy obejmowały tylko południowe rejony Europy. Ze względu na fakt, że pszenica twarda charakteryzuje się dużą podatnością na infekcje grzybowe oraz większą zdolnością akumulowania metali ciężkich odmiany pszenicy twardej dopuszczone do uprawy muszą spełniać wymagania dotyczące określonych norm zawartości toksyn grzybowych produkowanych przez grzyby z rodzaju *Fusarium* oraz zawartości kadmu.

Autor podkreśla, że w wyniku nawiązanej współpracy z CSIRO otrzymano z Australii ziarniaki 2 dwóch genotypów różniących się wrażliwością na zasolenie tj. linii BC<sub>5</sub>Nax<sub>2</sub> (odporna) i Tamaroi (wrażliwa). W badaniach wykorzystano również pierwszą polską jarą linię pszenicy twardej (SMH87) w celu jej porównania z australijskimi genotypami poprzez wyznaczenie cech różnicujących badane genotypy pod kątem tolerancji na badane stropy środowiskowe.

W rozdziale zatytułowanym „Przegląd literatury” Autor szczegółowo omawia: botaniczną charakterystykę pszenicy twardej, jej wymagania klimatyczno-glebowe i znaczenie gospodarcze oraz obecny stan wiedzy dotyczący wpływu zasolenia, zawartości kadmu oraz infekcji wywołanych przez *Fusarium* na wzrost, rozwój i plonowanie. Cytowana w tym rozdziale literatura wskazuje na dobrą znajomość problemów badawczych prowadzonych przez krajowe i zagraniczne ośrodki naukowe. Lektura tego rozdziału wskazuje na usytuowanie podjętej tematyki badawczej w aktualnym stanie wiedzy oraz potwierdza słuszność podjęcia tych badań. Autor zwraca również uwagę na problemy, które obecnie nie są w pełni poznane i wyjaśnione. Lektura tego rozdziału pozwala czytelnikowi wyrobić sobie opinię co do słuszności podjęcia badań i ich znaczenia w aktualnym stanie wiedzy.

W rozdział zatytułowanym "Hipotezy badawcze i cel pracy" Autor omawia postawione hipotezy badawcze będące podstawą podjętej tematyki. Dotyczyły one:

- 1) określenia stopnia odporności pszenicy twardej na zasolenie jonami kadmu,
- 2) akumulacji kadmu w ziarnach pszenicy twardej,
- 3) wyboru fizjologicznych i biochemicznych wskaźników przydatnych do selekcji roślin pod kątem wrażliwości na zasolenie gleby,
- 4) zawartości związków organicznych decydują o stopniu tolerancji pszenicy twardej na *Fusarium culmorum*.

Aby zweryfikować słuszność postawionych hipotez wykonano doświadczenia mające na celu określenie zależności pomiędzy fizjologicznymi i biochemicznymi cechami, a tolerancją na zasolenie gleby i infekcją grzybową.

W rozdziale „Materiał i Metody” Autor podaje niezbędne informacje o badanych odmianach, schematach doświadczeń oraz stosowanych metodach wykorzystanych w laboratoryjnych testach wrażliwości.

W rozdziale „Najważniejsze wyniki z przeprowadzonych badań” Autor wykazał, że założony cel badań był konsekwentnie realizowany, a w załączanych 4 publikacjach prezentuje uzyskane wyniki obserwacji, pomiarów i analiz. Tak jak to wcześniej zaznaczyłem celem badań było określenie zależności pomiędzy fizjologicznymi i biochemicznymi cechami trzech genotypów pszenicy twardej, a ich tolerancją na zasolenie gleby chlorkiem sodu, skażenie jonami kadmu i infekcją grzybową. Autorzy do badań wykorzystali trzy genotypy pszenicy twardej: tj. dwa genotypy australijskie i jeden genotyp z polskiej kolekcji. W trakcie badań przeprowadzono analizy fizjologiczne i biochemiczne w celu określenia stopnia odporności na czynniki stresowe oraz wytypowanie wskaźników wrażliwości mogących

posłużyć do selekcji. Były to fluorescencja chlorofilu *a*, parametry wymiany gazowej liści, wizualna ocena uszkodzeń roślin oraz zawartość związków fenolowych, ogólna pula cukrów, barwników fotosyntetycznych, nadtlenku wodoru, aktywności enzymów antyoksydacyjnych, akumulacja jonów kadmu oraz mykotoksyn w ziarnie.

Uzyskane wyniki wykazały, że stopień odporności badanych genotypów pszenicy na zanieczyszczenie kadmem koreluje ze stopniem tolerancji na zasolenie jonami NaCl, natomiast parametry fluorescencji chlorofilu *a*, z zawartością zakumulowanych jonów kadmu w ziarnie. Wykazano, że stosunek zredukowanej i utlenionej formy glutationu był dobrym wskaźnikiem zdolności akumulowania jonów kadmu w ziarnie, a ponadto stwierdzono, że wysoki poziom zanieczyszczenia gleby kadmem zaburza i ogranicza transport jonów tego metalu z korzeni do pędów, co powoduje, że w wyższych stężeniach kadmu w glebie zmniejsza się akumulacja w ziarnie. W warunkach zasolenia gleby, procent kiełkujących nasion i wigor kiełkowania najbardziej różnicowały stopień tolerancji na ten stres. Natomiast w fazie rozwoju generatywnego parametry fluorescencji chlorofilu: energia wykorzystywana do transportu elektronów poza  $Q_A$  (plastochinon) ( $ET_0/CS_m$ ) oraz rozpraszanie energii fotosystemu II ( $DI_0/CS_m$ ), które mogą być stosowane jako wskaźniki tolerancji na zasolenie. Odporna na zasolenie australijska linia BC<sub>5</sub>NaX<sub>2</sub> przy podwyższonym stężeniu chlorku sodu w podłożu wyróżnia się najwyższym procentem kiełkujących nasion i wigorem kiełkowania oraz najwyższą zawartością chlorofilu *a*, *b* i karotenoidów w liściach flagowych oraz posiada najwyższą masę tysiąca nasion. Wrażliwy na zasolenie australijski genotyp Tamaroi, charakteryzował się znacznie wyższym stężeniem nadtlenku wodoru w liściach w warunkach zasolenia gleby co wskazuje na pojawienie się stresu oksydacyjnego. Wyniki uzyskane podczas działania infekcji *Fusarium culmorum* wskazują, że porażenie tym patogenem zmniejsza zawartość barwników fotosyntetycznych oraz redukuje masę liści i korzeni siewek. Wykazano również, że australijskie genotypy pszenicy twardej są bardziej odporne na infekcje *F. culmorum* niż krajowa linia SMH87. Niwalenol i deoksyniwalenol zmniejszały plon ziarna, a wczesna ocena stopnia infekcji na kłosach pozwalała prognozować stopień akumulacji toksyn w ziarnie.

W rozdziale „Wnioski” Autor podsumowuje najważniejsze wyniki badań w postaci 12 sformułowanych wniosków. Moja drobna uwaga dotycząca tego rozdziału dotyczy faktu, że Autor ponownie odwołuje się do uzyskanych wyników, a moim zdaniem wnioski powinny być sformułowane bardziej ogólnie.

W rozdziale „Spis literatury” Autor cytuje 90 pozycji i są to głównie oryginalne prace naukowe opublikowane w ostatnich latach.

Przedstawiony w manuskrypcie rozprawy doktorskiej dorobek naukowy mgr inż. Jakuba Pastuszaka jest w mojej ocenie bardzo znaczący i ukazuje go jako zdolnego i samodzielnego pracownika naukowego o skryształizowanych zainteresowaniach. Obok publikacji 4 prac wchodzących w skład przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej jest współautorem w 12 publikacjach, które ukazały się w bardzo dobrych czasopiśmie naukowych o wysokim IF i punktacji Ministerstwa Edukacji i Nauki. Aktywnie uczestniczył w 12 konferencjach naukowych w trakcie których przedstawiał wyniki badań. Ponadto był wykonawcą w 4 projektach badawczych finansowanych ze środków m. in. Narodowego Centrum Nauki. W okresie wykonywania badań wchodzących w skład pracy doktorskiej Autor odbył staż naukowy w Instytucie Fizjologii Roślin PAN w Krakowie

W badaniach Autor w pełni wykorzystał możliwości warsztatu badawczego jakie miał do dyspozycji, a przede wszystkim dostęp do nowoczesnych i powszechnie stosowanych metod badawczych porównywalnych z metodami stosowanymi w badaniach prowadzonych w laboratoriach zagranicznych. Autor miał do dyspozycji nowoczesną aparaturę analityczno-pomiarową o wysokim standardzie co niewątpliwie miało wpływ na rzetelność uzyskanych wyników pomiarów i analiz. Niewątpliwie dobrą podstawą do sformułowania tematu pracy i celów badawczych był fakt, że badania były wykonane w zespole o wysokiej pozycji zarówno w krajowym jak i europejskim środowisku naukowym.

Przedstawiony manuskrypt rozprawy doktorskiej zawiera nowe elementy poznawcze i praktyczne, a pod względem formalnym i merytorycznym spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Jest przykładem zamkniętego cyklu badawczego od koncepcji przez staranny dobór materiału roślinnego, właściwe metody oraz przedyskutowanie wyników własnych i ich konfrontację z poglądami innych autorów. Na podkreślenie zasługuje fakt dużej praco- i czasochłonności wykonanych badań. Prowadzone doświadczenia były wielomiesięczne i obejmowały cały okres wzrostu i rozwoju roślin.

Na koniec chciałbym zadać kilka pytań, które nasunęły mi się podczas pracy nad recenzją:

1. Czy linia BC<sub>5</sub>Nax<sub>2</sub>, czyli odporna na zasolenie, miałaby zastosowanie w uprawach w Polsce i jak mogłaby być wykorzystywana w pracach hodowlanych?
2. Czy przeprowadzone badania pod kątem tych trzech wybranych stresów mogą mieć lub mają zastosowanie w uprawach pszenicy twardej w Polsce?
3. Czy planowana jest kontynuacja przedstawionych badań i ich szersze zastosowanie w uprawie lub hodowli roślin?

Podsumowując moją opinię stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Jakuba Pastuszaka spełnia wszystkie wymagania określone w ustawie z dnia 14 marca 2004 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr. 65 poz. 595) z późniejszymi zmianami. Stawiam wniosek do Rady dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. *Hugona Kollątaja* w Krakowie o dopuszczenie mgr inż. Jakuba Pastuszaka do następnych etapów publicznej obrony. Równocześnie, uwzględniając wartość i znaczenie publikacji, zaangażowanie autora i podjęcie bardzo złożonego problemu zgłaszam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



(dr hab. Maciej T. Grzesiak)