

Wpłynęło dnia:

24. 08. 2023

**Dziekanał Wydziału
Biotechnologii i Ogrodnictwa URK**

dr hab. inż. Ewa Szpunar-Krok, prof. UR
Uniwersytet Rzeszowski
Kolegium Nauk Przyrodniczych
Instytut Nauk Rolniczych, Ochrony i Kształtowania Środowiska

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. **Anny Marii Ślizowskiej**
pt. „**Wpływ szczepionki bakteryjnej i rodzaju nawozu azotowego na plonowanie,
architekturę łanu i wybrane wskaźniki wegetacyjne soi**”
wykonanej w: Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie, Wydział Biotechnologii
i Ogrodnictwa, Katedra Agroekologii i Produkcji Roślinnej

Promotor: prof. dr hab. Bogdan Kulig

Promotor pomocniczy: dr hab. inż. Agnieszka Klimek-Kopyra, prof. URK

Podstawą opinii jest pismo prof. dr hab. inż. Marcina Rapacza Przewodniczącego Rady dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie, z dnia 05.07.2023 r., nr sprawy WBO-D 5100.10.2023.

Ocena ogólna – wybór tematu, teza badawcza, cel i zakres pracy

Według szacunków ONZ, światowa populacja ludności osiągnie prawie 10 miliardów do 2050 r., co spowoduje wzrost popytu na żywność. Prognozy wskazują, że w tym okresie globalny popyt na mięso zwiększy się o ok. 73%, a produkcja mleka o 58%. W związku z tym, w nadchodzących latach globalna produkcja zwierzęca stanie przed wyzwaniem sprostania rosnącemu zapotrzebowaniu na białko roślinne. Soja jest kluczowym elementem światowego bezpieczeństwa żywnościowego jako źródło białka dla ludzi i paszy dla zwierząt, a także oleju wykorzystywanego do celów żywieniowych jak i wielu zastosowań nieżywnościowych, w tym do produkcji biodiesla. W światowej produkcji białka soja zajmuje pierwsze miejsce, a w produkcji i konsumpcji oleju roślinnego drugie miejsce po palmie. W najnowszych strategiach wyznaczających kierunek działania Unii Europejskiej na lata 2023-2027, jako czołową dla bezpieczeństwa żywnościowego wskazano potrzebę zmniejszenia uzależnienia UE od importu białka paszowego. Obserwowane w Polsce w ostatnich latach zwiększenie zainteresowania rolników uprawą roślin bobowatych grubonasiennych, w tym soi (*Glycine max* (L.) Merr.), wynika m.in. z rosnących potrzeb paszowych zwierząt gospodarskich i chęci uniezależnienia się od importowanego źródła białka, jak też włączenia w ramach Wspólnej Polityki Rolnej tej grupy roślin do płatności za praktyki rolnicze korzystne dla klimatu i środowiska. Nie bez znaczenia są także obserwowane zmiany klimatu przejawiające się wzrostem średniej temperatury oraz zmianą dystrybucji opadów, co powoduje, że kraje Europy centralnej i północnej coraz częściej postrzegają soję jako gatunek alternatywny dla rodzimych roślin bobowatych grubonasiennych. Pomimo tego, że w Polsce rolnicy traktują soję jako nowy, mało poznany gatunek, w ostatnich latach powierzchnia jej uprawy wyraźnie wzrasta. Dąży się przy tym do upowszechnienia uprawy soi odmian niemodyfikowanych genetycznie. W 2023 r. soję wysiano w Polsce na powierzchni 13 855 ha (<https://rejestrupraw.arimr.gov.pl/#>), stąd tak ważne jest doskonalenie jej agrotechniki.

Obecność soi w płodozmianie jest pożądana ze względu na jej zdolność do wiązania N atmosferycznego dzięki symbiozie z bakteriami brodawkowymi *Bradyrhizobium japonicum*, co zmniejsza jej zapotrzebowanie na N mineralny i przyczynia się do poprawy żyzności gleby. Ponieważ bakterie te nie występują w glebach na których nie uprawiano dotychczas soi, zaleca się inokulację nasion szczepami *B. japonicum* przed siewem, aby rośliny mogły efektywniej wiązać N i wykorzystać swój potencjał produkcyjny. Obecnie na rynku dostępna jest szeroka gama preparatów bakteryjnych do samodzielnego szczepienia nasion, firmy nasienne oferują także do sprzedaży zaszczerpiony, gotowy do wykorzystania materiał siewny. W literaturze brakuje jednak doniesień wskazujących, który z tych sposobów inokulacji nasion daje lepsze efekty produkcyjne. W powyższym kontekście, wybór przez mgr inż. Marię Ślizowską tematu rozprawy doktorskiej uważam za uzasadniony. Wykonana przez Doktorantkę praca dostarcza nowych, interesujących elementów poznawczych z zakresu wpływu sposobu szczepienia nasion *B. japonicum* i rodzaju nawozu azotowego na plonowanie, wybrane wskaźniki wegetacyjne, brodawkowanie oraz parametry systemu korzeniowego soi. Oceniana dysertacja spełnia warunek oryginalności, a poruszany w niej problem badawczy uznaję za ważny pod względem naukowym, jak i aplikacyjnym.

Brzmienie tytułu rozprawy doktorskiej jest adekwatne do zawartości zamieszczonej w opracowaniu. W pracy przedstawiono ogólny cel badań i cele szczegółowe (4) oraz hipotezy badawcze (4).

Podstawa metodologiczna badań

Przedstawiona do oceny dysertacja prezentuje wyniki ścisłego doświadczenia polowego realizowanego w latach 2016 – 2019 w Stacji Doświadczalnej Katedry Agroekologii i Produkcji Roślinnej Uniwersytetu Rolniczego, w Prusach koło Krakowa. Doświadczenie prowadzono w układzie split-plot, w trzech powtórzeniach. Celem badań była ocena wpływu sposobu szczepienia nasion soi *B. japonicum* (brak inokulacji, inokulacja nasion w technologii Fix-Fertig przez producenta lub bezpośrednio przed siewem - Nitragina) oraz formy azotu (brak nawożenia N, amonowo-azotanowa – Saletra amonowa i amonowo-amidowa – Sulfammo 23 N-Process) na wielkość plonu i skład chemiczny nasion, wybrane wskaźniki wegetacyjne, cechy biometryczne roślin, brodawkowanie i parametry systemu korzeniowego soi. Stosowane metody badawcze zostały odpowiednio dobrane, co wskazuje na dobre przygotowanie Doktorantki do prowadzenia badań naukowych. Przeprowadzona analiza statystyczna wyników badań metodą analizy wariancji (ANOVA) umożliwiła wykazanie wpływu czynników doświadczenia na wielkość plonu nasion, zawartość białka i tłuszczu oraz ich wydajność z 1 ha uprawy, cechy morfologiczne roślin, wielkość wskaźników LAI i SPAD oraz parametry systemu korzeniowego i brodawek korzeniowych soi.

Ocena formalna pracy - struktura pracy oraz dokumentacja tabelaryczna i graficzna

Recenzowana praca obejmuje 126 stron, wraz ze spisem literatury oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim. Dysertacja ma typowy układ dla prac badawczych opartych na doświadczeniach polowych. Składa się z 9 logicznie następujących po sobie rozdziałów: 1. *Wstęp* – 3 strony; 2. *Przegląd literatury* – 10 stron; 3. *Cel pracy* – 1 strona; 4. *Materiał i metody badań* – 12 stron; 5. *Wyniki badań* – 51 stron; 6. *Dyskusja* – 16 stron; 7. *Wnioski* –

2 strony; 8. *Bibliografia* – 12 stron; 9. *Spis tabel i rysunków* – 4 strony. Na końcu maszynopisu dołączono *Streszczenie* w języku polskim – 2 strony i w języku angielskim – 2 strony. Obszerniejsze rozdziały Autorka pracy podzieliła na podrozdziały, niektóre na podrozdziały piątego rzędu. Mankamentem pracy jest pominięcie w *Spisie treści* podrozdziałów czwartego i piątego rzędu.

Praca jest uporządkowana i przejrzysta. Układ pracy jest właściwy. Ułatwia to czytelnikowi orientację w treści i materiale wynikowym. W strukturze pracy zachowano właściwe proporcje, przeznaczając zasadniczą jej część na prezentację wyników badań. W dysertacji zamieszczono 34 tabele, 49 rysunków i 27 fotografii, jednak w treści pracy Autorka odnosi się tylko do tabel i rysunków. Zestawienia tabelaryczne i rysunki są czytelne, starannie przygotowane. Autorka uniknęła w pracy błędów stylistycznych, a błędy literowe są nieliczne. Opracowanie spełnia wymagania formalne stawiane rozprawom doktorskim.

Dobór i wykorzystanie piśmiennictwa

Dobór literatury jest bogaty, nie budzi zastrzeżeń i wskazuje na przygotowanie Autorki do prowadzenia prac badawczych. Rozdział *Bibliografia* obejmuje 167 pozycji piśmiennictwa, w tym 127 prac w języku angielskim (76,0 %). Spośród cytowanej literatury 55 pozycji (32,9%) zostało opublikowanych w ciągu 5 ostatnich lat, a pochodzi 89 pozycji (53,3 %) z ostatnich 10 lat. Starsze publikacje są jednak kluczowe dla problematyki badań i świadczą o chęci poznania i wykorzystania wszelkich danych naukowych ściśle związanych z prezentowaną tematyką.

Ocena merytorycznej strony pracy

W rozdziale 1. *Wstęp* mgr inż. Anna Ślizowska nakreśliła zagadnienia związane z treścią rozprawy, wprowadzając tym samym stopniowo w problem badawczy i uzasadniła celowość podjęcia badań.

Rozdział 2. *Przegląd literatury* jest tematycznie powiązany z zakresem badań. Doktorantka przedstawiła znaczenie gospodarcze soi, stan i perspektywy uprawy tego gatunku w Polsce. Wskazała czynniki biotyczne i abiotyczne wpływające na wzrost i rozwój soi, a w efekcie na wielkość i jakość plonu nasion. Naświetliła zagadnienia dotyczące nawożenia roślin azotem. Wskazała okresy krytyczne zapotrzebowania soi na azot. Podkreśliła także duże znaczenie inokulacji roślin bakteriami symbiotycznymi. Zaprezentowała niedestrukcyjne metody określenia stanu odżywienia roślin azotem. Przedstawiony przegląd literatury daje należyłą podbudowę teoretyczną pracy i uzasadnia podjęcie badań. Rozdział ten oceniam pozytywnie.

W rozdziale 3. *Cel pracy* Autorka przedstawiła główny cel badań i wyodrębniła cele szczegółowe (4). W ocenie merytorycznej pracy warto zwrócić uwagę na słuszność przyjętych hipotez badawczych (4). Doktorantka założyła, że nawożenie azotem i jego forma chemiczna jak też szczepienie bakteryjne nasion *Bradyrhizobium japonicum* w uprawie soi może kształtować cechy biometryczne roślin i wskaźniki wegetacyjne (LAI, SPAD) oraz oddziaływać korzystnie na wielkość plonu i skład chemiczny nasion. Słusznie zauważyła, że przebieg pogody może modyfikować wielkość wpływu powyższych czynników badawczych na plonowanie i cechy roślin soi. Rozdział ten nie budzi zastrzeżeń.

Rozdział 4. *Material i metody badań* prezentuje wykorzystywany w pracy materiał i metody badawcze. Rozdział ten składa się z 6 podrozdziałów. Autorka podała lokalizację doświadczenia, układ i czynniki doświadczenia, zakres i metody badań, scharakteryzowała warunki glebowo – klimatyczne i agrotechniczne, przedstawiła także metody statystycznego opracowania wyników. Dane meteorologiczne w okresie wegetacji soi scharakteryzowała w oparciu o średnie dekadowe i miesięczne temperatury powietrza oraz sumy opadów, a do charakterystyki warunków hydrotermicznych wykorzystwała wskaźnik Sielianinov'a, zwany także współczynnikiem zabezpieczenia roślin w wodę. Zastosowana metodyka prac polowych i laboratoryjnych świadczy o opanowaniu warsztatu badawczego. Analizy laboratoryjne wykonano powszechnie przyjętymi metodami. Należy podkreślić, iż badania wymagały znacznego nakładu pracy i zaangażowania Doktorantki.

Rozdział 5. *Wyniki badań* stanowi trzon pracy. Bogaty materiał wynikowy zaprezentowano w 27 tabelach i na 46 czytelnych wykresach. Doktorantka przedstawiła oryginalne wyniki badań własnych nad wpływem zastosowania doglebowo różnych form nawozu azotowego (amonowo-azotanowa i amonowo-amidowa) i sposobu inokulacji nasion (w technologii Fix-Fertig i bezpośrednio przed siewem) na plon nasion, zawartość i wydajność tłuszczu i białka, cech kształtujących plon (liczba roślin przed zbiorem, liczba strąków i nasion z rośliny, masa 1000 nasion), fizjologicznych cech plonotwórczych (LAI, SPAD) oraz cech morfologicznych roślin, odrębnie dla części nadziemnej i podziemnej. W nadziemnej części roślin określono wpływ badanych czynników na: wysokość roślin i osadzenia najniższego strąka, suchą masę rośliny, masę strąków i nasion z rośliny, masę łodyg, liczbę pędów z rośliny i węzłów na roślinie. Pomiarzy części podziemnej roślin obejmowały parametry systemu korzeniowego (sucha masa korzenia z rośliny, gęstość długości korzeni, gęstość suchej masy korzeni, średnica korzeni, powierzchnia korzeni) oraz brodawek korzeniowych (liczba i sucha masa brodawek z rośliny, średnia powierzchnia brodawek wyznaczona przy użyciu skanera Epson Perfection 4870 Photo). Wyniki badań w ocenianej dysertacji przedstawione są czytelnie w tabelach i na wykresach, a ich wiarygodność została potwierdzona poprzez analizę statystyczną. Interpretacja uzyskanych wyników badań jest właściwa. W przypadku wykazania istotnych różnic pomiędzy średnimi obiektowymi, z naukową precyzją je opisała. Świadczy to o znajomości zagadnienia i bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia badań naukowych.

Na podstawie analizy wyników badań prezentowanych w pracy proszę o udzielenie odpowiedzi na następujące pytania:

1. Wysoka zawartość dostępnego N mineralnego w glebie, w szczególności NO_3^- , ogranicza biologiczne wiązanie tego pierwiastka przez soję. Z tego względu, w praktyce w uprawie tego gatunku azot stosuje się w niewielkich ilościach przedsięwzięcie traktując jako "dawkę startową" $20\text{-}30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ N}$. W tym kontekście proszę o wyjaśnienie, jaki był cel stosowania w doświadczeniu dawki $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ N}$.
2. Czym można tłumaczyć brak efektu nawożenia azotem w dawce $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ N}$ (w obu formach) w porównaniu do kontroli bez nawożenia N (Kontrola_N) i szczepienia nasion (Kontrola_s) na plon nasion, zawartość tłuszczu i białka w nasionach oraz ich wydajność z 1 hektara uprawy.

3. Czym można tłumaczyć brak istotnego wpływu szczepienia nasion bakteriami *B. japonicum* (warianty z Fix-Fertig i Nitraginą) na liczbę brodawek na korzeniach soi w porównaniu do wariantu, w którym nie wykonano tego zabiegu (Kontrola_N) (tab. 32).

W rozdziale 6. *Dyskusja* Autorka konfrontuje rezultaty badań własnych z rezultatami badań prezentowanych w literaturze zagranicznej i krajowej. Wykazała się przy tym dobrą znajomością stanu aktualnej wiedzy w zakresie omawianej problematyki badawczej. Nie tylko potwierdziła znane z literatury zależności, ale podjęła się ich wyjaśnienia poprzez dogłębną analizę wyników i dążeniem do uogólniania zjawisk, co ułatwia wyciąganie wniosków. Dyskusja jest rzeczowa i wyczerpująca. Rozdział ten oceniam bardzo wysoko.

Zwieńczeniem rozprawy doktorskiej jest rozdział 7. *Wnioski*. Na podstawie trzyletnich badań polowych Autorka sformułowała 7 wniosków, które nawiązują do celu pracy, ale w większości stanowią one rekapitulację uzyskanych wyników. Wnioski powinny mieć charakter uogólniający, dlatego przygotowując pracę do druku sugeruję ich przeredagowanie. Proszę także o wskazanie, który spośród wariantów doświadczenia w regionie Małopolski można zalecać praktyce rolniczej.

Rozprawa jest przejrzysto zredagowana i dobrze opracowana. W tak obszernym opracowaniu można wskazać jedynie na pewne uchybienia, np.:

- Autorka używa zamiennie określeń „rośliny bobowate” i „rośliny strączkowe”. Przygotowując pracę do druku sugeruję ujednoczyć nazewnictwo i używać określenia „rośliny bobowate grubonasienne”.
- Jakiej szczepionki użyto w wariacie FF? W metodyce badań (str. 20) i *Streszczeniu* pracy (str. 123) jako jeden z poziomów drugiego czynnika podano „FF – szczepienie nasion szczepionką bakteryjną zawierającą bakterie *Bradyrhizobium japonicum* za pomocą preparatu Saatbau Fix-Fertig”, natomiast w opisie tabeli 7 (str. 31) wskazano, iż była to „szczepionka bakteryjna Timac Agro Fix-Fertig”.
- Zakres badań przedstawiony w rozdziale 4. *Materiał i metody badań* obejmuje określenie m. in. średnicy brodawek korzeniowych (str. 21), ale w rozdziale 5. *Wyniki badań* cechy o takim brzmieniu nie przedstawiono. Omówiono natomiast średnią powierzchnię brodawek w cm² (5.6.2.2.3. *Średnia powierzchnia brodawek*, str. 79-81), o której nie wspomniano w metodyce badań.
- W celu oznaczenia suchej masy, korzenie i brodawki poddano procesowi suszenia w temp. 105°C (str. 28), nie podano jednak przez jaki czas je suszono.
- Tabele 7-34 są niewłaściwie skonstruowane. Wartości NIR_I i NIR_{II} służące do porównania efektów głównych czynników doświadczenia odnoszą się także do wartości średniej ogólnej, co jest błędem. Omówienie zależności jest jednak prawidłowe.
- Tabele i rysunki powinny być umieszczone w tekście pracy po omówieniu wyników w nich zawartych.
- Autorka podaje, że przebieg warunków pogodowych w latach miał „nieistotny statystycznie wpływ na wielkość SPAD”, podczas gdy na rysunku 18 podano wartość NIR, co wskazuje na wystąpienie istotnej zależności (str. 48).
- Zastosowanie nawożenia SFM23 skutkowało zwiększeniem średniej powierzchni korzeni, a nie „średniej powierzchni długości korzeni soi” (5.6.2.1.5. *Powierzchnia korzeni*, str. 74).

- W treści pracy brak odniesienia do fotografii 1-27 (str. 100-106) i wskazania ich galerii w *Spisie treści*.

Pragnę zaznaczyć, że wykazane w niniejszej recenzji uchybienia nie obniżają wartości naukowej przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej. Są to głównie uwagi natury redakcyjnej, które można łatwo skorygować na etapie przygotowywania publikacji.

Podsumowując, należy docenić kompleksowość prezentowanych badań, na co wskazuje specyfika i duża liczba przeanalizowanych cech. Należy podkreślić, że przeprowadzone przez Doktorantkę kompleksowo zaplanowane badania dotyczące efektów sposobu inokulacji i nawożenia soi różnymi formami azotu mają znaczenie poznawcze i aplikacyjne. Praca jest uporządkowana, logicznie spójna. Wnosi oryginalny wkład do rozwoju wiedzy z zakresu optymalizacji produkcji soi. W mojej opinii ważnym osiągnięciem niniejszego opracowania jest wykazanie, że w uprawie soi:

- nawożenie azotem w formie amonowo-amidowej (Sulfammo 23 N-Process) powoduje zwiększenie plonu nasion, wydajności tłuszczu i białka z nasion, liczby strąków i nasion z rośliny, gęstości długości korzeni i ich powierzchni oraz wartości wskaźników LAI i SPAD, zaś stosowanie formy amonowo-azotanowej (Saletra amonowa) skutkuje zwiększeniem suchej masy korzeni i średnicy korzeni, wysokości roślin, masy łodyg, a zmniejszeniem masy nasion z rośliny. Nawożenie mineralne azotem w obu formach nie ma istotnego wpływu na liczbę brodawek korzeniowych, ale prowadzi do obniżenia ich suchej masy;
- zabieg inokulacji nasion *B. japonicum* pozwala na uzyskanie większego plonu nasion soi oraz wydajności tłuszczu i białka w stosunku wariantu bez szczepienia, przy czym szczepienie bezpośrednio przed siewem preparatem Nitragina wywiera istotnie większy wpływ na te cechy niż szczepienie nasion w technologii Fix-Fertig;
- stosowanie szczepionek bakteryjnych w ograniczonym zakresie oddziałuje na wielkość parametrów systemu korzeniowego soi: suchą masę korzeni, gęstość długości korzeni, gęstość suchej masy korzeni i średnicę korzeni, wpływa natomiast istotnie na wielkość powierzchni korzeni. Szczepienie nasion w technologii Fix-Fertig pozwala uzyskać istotnie większą powierzchnię korzeni w porównaniu do preparatu Nitragina stosowanego bezpośrednio przed siewem, ale większą liczbę i suchą masę brodawek na systemie korzeniowym zapewnia użycie Nitraginy.

Wniosek końcowy


Rozprawa doktorska mgr inż. Anny Ślizowskiej pt. „Wpływ szczepionki bakteryjnej i rodzaju nawozu azotowego na plonowanie, architekturę łanu i wybrane wskaźniki vegetacyjne soi” stanowi indywidualny, oryginalny dorobek i jest przyczynkiem do rozwoju badań naukowych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, ma też znaczenie użytkowe.

Stwierdzam, iż przedstawiona do oceny rozprawa doktorska **spełnia wymogi określone w art. 14 ust. 1 pkt 1 i ust. 2 pkt 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jedn. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm.) w zw. z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.)**.

Wnoszę do Rady dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Anny Ślizowskiej ubiegającej się o stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk rolniczych dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo do dalszego etapu, jakim jest publiczna obrona rozprawy doktorskiej.

Z uwagi na duży wkład pracy w przeprowadzone badania, ich duży zakres i kompleksowość, a także aktualność problematyki badawczej, zwracam się z wnioskiem do Rady dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o nagrodzenie rozprawy mgr inż. Anny Ślizowskiej stosownym wyróżnieniem.

Rzeszów, 18 sierpnia 2023 r.


dr hab. inż. Ewa Szpunar-Krok, prof. UR