



Prof. dr hab. inż. Marcin Kozak

Wrocław, 12.02.2024 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Smytkiewicz-Buzak

pt. „Wpływ czynników Nod i molibdenu na usprawnienie procesu symbiotycznego wiązania azotu i plonowanie grochu siewnego w zróżnicowanych warunkach wilgotności gleby”

wykonanej w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach pod kierunkiem promotora prof. dr. hab. inż. Janusza Podleśnego

1. Podstawa formalna wykonania recenzji rozprawy doktorskiej

Recenzję opracowano w odpowiedzi na pismo z dnia 3 stycznia 2024 roku RN.470.23.2019.DM dr hab. Beaty Feledyn-Szewczyk prof. IUNG-PIB – Zastępcy Przewodniczącego Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach informujące, że uchwałą nr 82/IUNG-PIB/2023 Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach z dnia 20 grudnia 2023 roku zostałem wyznaczony na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Smytkiewicz-Buzak pt. „Wpływ czynników Nod i molibdenu na usprawnienie procesu symbiotycznego wiązania azotu i plonowanie grochu siewnego w zróżnicowanych warunkach wilgotności gleby”. Recenzję wykonano w oparciu o obowiązujące przepisy prawa Dz.U.2023.742 t.j. Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dział V Stopnie i tytuł w systemie szkolnictwa wyższego i nauki, Rozdział 2 Stopień doktora, Art. 186 [Warunki nadania stopnia doktora].

2. Ocena wyboru problematyki badawczej rozprawy doktorskiej

W szeroko rozumianej produkcji rolniczej biologiczne wiązanie azotu atmosferycznego jest jednym z najważniejszych procesów fizjologicznych wpływających na rozwój i plonowanie wielu gatunków roślin. Z praktycznego punktu widzenia proces ten jest najbardziej istotny w odniesieniu do roślin bobowatych grubonasiennych (strączkowych), wykorzystywanych jako źródło białka konsumpcyjnego i/lub paszowego. Stąd zwiększenie wydajności biologicznego wiązania azotu, przykładowo przez groch siewny, ma swoje uzasadnienie naukowe, utylitarne i ekonomiczne. W związku z tym, jako Recenzent, uważam, że podjęte przez Doktorantkę badania dotyczące wpływu czynników Nod i molibdenu na usprawnienie procesu symbiotycznego wiązania azotu i plonowanie grochu siewnego w zróżnicowanych warunkach wilgotności gleby mają istotnie znaczenie dla optymalizacji produkcji tego gatunku zarówno w skali kraju jak i świata.



3. Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Mgr inż. Karolina Smytkiewicz-Buzak jest autorką rozprawy doktorskiej pt. „Wpływ czynników Nod i molibdenu na usprawnienie procesu symbiotycznego wiązania azotu i plonowanie grochu siewnego w zróżnicowanych warunkach wilgotności gleby”. Praca została wykonana w IUNG-PIB w Puławach, pod kierunkiem prof. dr. hab. inż. Janusza Podleśnego. Maszynopis pracy obejmuje 108 stron, w tym 19 tabel oraz 21 rysunków. Tytuł rozprawy został sformułowany poprawnie i właściwie oddaje treści w niej zaprezentowane. Doktorantka redagując rozprawę zastosowała typowy układ rozdziałów, przyjęty powszechnie dla opracowań z dziedziny nauk rolniczych. Spis treści został zestawiony prawidłowo. Recenzowana dysertacja jest obszerna. Doktorantka podzieliła pracę na 7 rozdziałów głównych: *Wstęp i cel badań*, *Przegląd literatury*, *Metodyka badań*, *Wyniki*, *Dyskusja*, *Podsumowanie i wnioski*, *Literatura*. Dodatkowo zamieściła streszczenie pracy oraz słowa kluczowe w języku polskim i angielskim.

Rozdziały *Przegląd literatury*, *Metodyka badań* oraz *Wyniki* rozprawy zostały przez mgr inż. Karolinę Smytkiewicz-Buzak rozdzielone na podrozdziały pierwszego, a nawet drugiego rzędu, co znacznie ułatwia Czytelnikowi zapoznanie się z kolejnymi częściami dysertacji. Ponadto wplecenie w strumień tekstu odpowiednich tabel i rysunków w rozdziale *Wyniki* pozwala na szybką konfrontację zestawionych wyników z ich słownymi opisami. Rozdział *Literatura* jest obszerną bazą materiałów źródłowych, wykorzystanych przez Autorkę przy opracowywaniu rozdziałów *Wstęp*, *Przegląd literatury*, *Metodyka badań* oraz *Dyskusja*. Sumarycznie obejmuje on 250 pozycji, z których 114 to artykuły autorów zagranicznych. Zwracam uwagę na szeroki zakres czasowy i właściwe merytoryczne powiązanie materiałów źródłowych z tematyką realizowanej dysertacji. Biorąc pod uwagę technikę pisania pracy stwierdzam, że jest ona prawidłowa, a tekst rozprawy doktorskiej został napisany poprawną polszczyzną.

Podsumowując stwierdzam, że przyjęty przez Autorkę układ pracy doktorskiej jest właściwy, a przedłożona do recenzji dysertacja spełnia wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim realizowanym w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

4. Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Rozprawę doktorską rozpoczyna rozdział *Wstęp i cel badań*, obejmujący 4 strony maszynopisu, w którym Doktorantka syntetycznie zasygnalizowała problematykę badawczą, sformułowała hipotezy badawcze oraz przedstawiła cele główne i szczegółowe pracy. Autorka wieloaspektowo podeszła do zagadnień związanych z optymalizacją produkcji roślin bobowatych, ze szczególnym uwzględnieniem grochu siewnego. Treść rozdziału jest uporządkowana logicznie i dotyczy m.in. znaczenia gospodarczego roślin bobowatych grubonasiennych (strączkowych), produkcji rodzimych surowców białkowych, bezpieczeństwa białkowego kraju. Postawione hipotezy badawcze wymagała od Autorki potwierdzenia lub



negacji zasadności zastosowania specyficznego preparatu zawierającego czynniki Nod i/lub molibdenu w celu zwiększenia efektywności procesu symbiotycznego wiązania azotu w uprawie grochu siewnego, w zróżnicowanych warunkach wilgotności gleby. Celami głównymi rozprawy doktorskiej były: ocena możliwości zwiększenia plonowania grochu siewnego poprzez polepszenie procesu symbiotycznego wiązania azotu oraz określenie możliwości zmniejszenia oddziaływania warunków stresowych (stres suszy) na przebieg procesu symbiozy grochu z bakteriami brodawkowymi. Z kolei cele szczegółowe obejmowały określenie dynamiki i równomierności wschodów roślin grochu, ocenę wskaźników morfologicznych i fizjologicznych, możliwość zwiększenia liczebności i masy brodawek korzeniowych, a w efekcie końcowym zwiększenie poziomu plonowania roślin grochu siewnego. Sformułowane przez Autorkę cele badawcze były ambitne i nie łatwe do osiągnięcia, biorąc pod uwagę ogrom prac doświadczalnych jaki był konieczny do ich realizacji.

Rozdział *Przegląd literatury* jest wielowątkowy i wystarczająco obszerny (24 strony). Autorka przedstawiła w nim charakterystykę i znaczenie gospodarcze grochu siewnego w świecie i w Polsce, omówiła rolę azotu w kształtowaniu wielkości i jakości plonów różnych gatunków roślin, a także aspekty nawożenia grochu siewnego makro- i mikroelementami. Ponadto w tym rozdziale zawarła wiele cennych informacji dotyczących znaczenia molibdenu i czynników Nod w biologicznej redukcji azotu atmosferycznego. Ta część pracy została przez Doktorantkę opracowana bardzo rzetelnie, z uwzględnieniem wielu materiałów źródłowych. Zamieszczone w niej informacje, oparte najczęściej o prace doświadczalne, pozwoliły Autorce na szerokie zaprezentowanie różnych wątków badawczych, co znalazło następnie odzwierciedlenie w dalszych rozdziałach ocenianej dysertacji. Jako Recenzent podkreślam bardzo dużą pracę włożoną przez Doktorantkę dla prawidłowego opracowania tego rozdziału rozprawy doktorskiej.

Rozdział *Metodyka badań* obejmuje 11 stron maszynopisu i dotyczy wszystkich metodycznych aspektów prowadzonych badań. Doktorantka w latach 2020-2021 przeprowadziła, w hali wegetacyjnej IUNG-PIB w Puławach, dwuczynnikowe doświadczenie wazonowe, w układzie kompletnie zrandomizowanym, w trzech powtórzeniach wg następującego schematu:

Czynnik I rzędu – preparaty do zaprawiania nasion grochu siewnego:

- woda zdemineralizowana (obiekt kontrolny, H₂O),
- preparat czynników Nod (LCOs) o stężeniu 10⁻¹² M·dm⁻³ H₂O,
- molibden (Mo) w dawce 0,5 mg na 1 wazon aplikowany w formie (NH₄)₆Mo₇O₂₄,
- preparat czynników Nod (LCOs) aplikowany łącznie z molibdenem (Mo).

Czynnik II rzędu – wilgotność gleby:

- 30% ppw (stres suszy),
- 60% ppw (warunki optymalne).

Doktorantka przez cały okres wegetacji roślin dokonała szeregu obserwacji wzrostu i rozwoju grochu siewnego, notując daty początku występowania poszczególnych faz rozwojowych wg skali BBCH. W przeprowadzonych badaniach uwzględniła: ocenę wschodów roślin, pomiary biometryczne roślin, dynamikę przyrostu suchej masy, liczbę i masę wytworzonych brodawek korzeniowych, określenie parametrów wymiany gazowej oraz pomiary fluorescencji chlorofilu, indeksu zieloności liścia, powierzchni liściowej, a także korzeni. W fazie zielonego strąka (BBCH 79) oraz dojrzałości pełnej (BBCH 89) określono masę nasion z rośliny oraz elementy struktury plonu (liczbę strąków na roślinie, liczbę nasion z rośliny, liczbę nasion w strąku oraz masę 1000 nasion). Po zbiorze roślin w fazie dojrzałości pełnej określono plon nasion oraz przeprowadzono analizy jakościowe zebranego materiału roślinnego. W celu weryfikacji uzyskanych danych badawczych przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA) dla układów dwuczynnikowych w odniesieniu do wybranych cech roślin grochu siewnego. Istotność różnic oceniono przy wykorzystaniu testu Tukey'a na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Stwierdzam, że zastosowana przez Doktorantkę metodyka badań została dobrana prawidłowo do zakresu i specyfiki przeprowadzonych doświadczeń wazonowych oraz wykonanych analiz laboratoryjnych.

W rozdziale *Wyniki* Doktorantka (na 30 stronach maszynopisu) zaprezentowała i omówiła efekty stosowania preparatu Nod i/lub molibdenu w uprawie grochu siewnego, prowadzonej w warunkach zróżnicowanej wilgotności gleby. Cały materiał dowodowy został przedstawiony przez Autorkę w przejrzystych tabelach i na rysunkach. Mgr inż. Karolina Smytkiewicz-Buzak w tym rozdziale zwraca, między innymi, uwagę na fakt, że zróżnicowana wilgotność gleby istotnie wpłynęła na liczbę brodawek w fazie kwitnienia grochu (BBCH 65). Wskazuje, iż deficyt wody spowodował spadek ich liczebności o około 19% w odniesieniu do optymalnej wilgotności gleby. Jednocześnie Doktorantka udowodniła, że rośliny wyrosłe z nasion zaprawianych przedsewnie preparatem zawierającym czynniki Nod i molibden odznaczały się istotnie większą liczbą brodawek na korzeniach. Jest to ważna informacja praktyczna w kontekście optymalizacji technologii produkcji grochu siewnego na nasiona oraz jednocześnie spełnienia zasad zrównoważonego rolnictwa i Zielonego Ładu (całkowite zaniechanie nawożenia azotem grochu siewnego). Ponadto Autorka wykazała, że wartość indeksu zieloności liścia (SPAD) była najwyższa gdy groch uprawiano w warunkach optymalnego uwilgotnienia gleby przy jednoczesnym przedsewnym zaprawianiem nasion preparatem zawierającym czynniki Nod oraz molibden. Za najistotniejsze, dla rozwoju dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo, uważam wyniki dotyczące plonowania grochu siewnego. Doktorantka wykazała, że zarówno w warunkach stresu suszy jak i w optymalnych warunkach



wilgotnościowych gleby istotnie wyższy plon nasion grochu uzyskano z roślin zaprawianych przed siewem preparatem Nod+Mo, w porównaniu do roślin z pozostałych obiektów badawczych. Jako Recenzent i jednocześnie agrotechnik bardzo doceniam uzyskanie wyników badań naukowych, które mogą być następnie wykorzystane przez szeroko rozumianą praktykę rolniczą. Dodatkowo wykonana, przez Doktorantkę, ocena jakościowa zebranego grochu udowodniła, że zawartość białka ogólnego była najwyższa w nasionach uzyskanych z obiektów poddanych stresowi suszy oraz aplikacji czynników Nod lub preparatu Nod + Mo. Jest to również ważna przesłanka użyteczna w kontekście bezpieczeństwa białkowego kraju, opartego o rodzime surowce roślinne.

Autorka w rozdziale *Dyskusja*, obejmującym 10 strony maszynopisu, niezwykle trafnie ustosunkowała się do wyników badań własnych w odniesieniu do wcześniej publikowanych materiałów, zarówno krajowych jak i zagranicznych. Doktoranta już w pierwszym zdaniu tego rozdziału zaznaczyła, że duży potencjał grochu siewnego nie jest w pełni wykorzystywany, a jego plony w dalszym ciągu są niskie i niestabilne na przestrzeni lat. W moim odczuciu, jako Recenzenta, do wspomnianych przesłanek dochodzi jeszcze czynnik ekonomiczny. Jest on często głównym wyznacznikiem ostatecznej decyzji rolnika – producenta o podjęciu lub zaniechaniu uprawy grochu siewnego, czy innych gatunków bobowatych w gospodarstwie. Jakość użytego materiału siewnego ma niebagatelne znaczenie dla uzyskania wysokich plonów nasion grochu. Stąd przedsięwzięcie zaprawianie nasion preparatem zawierającym czynniki Nod i Mo, przez Doktorantkę, uważam za swego rodzaju uszlachetnianie materiału siewnego, co powinno stać się z czasem standardowym zabiegiem w uprawie roślin bobowatych. Ponadto Autorka na podstawie badań własnych wykazała, że największy przyrost plonu nasion grochu siewnego wynikał ze zwiększenia liczby zawiązanych strąków na roślinie oraz większej liczby nasion z rośliny, co wynikało z przedsięwzięcia zastosowania preparatu zawierającego czynniki Nod i Mo. Przedstawiona zależność wkomponowuje się we wcześniejsze doniesienia innych autorów, dotyczące znaczącej roli cech struktury plonu w uzyskaniu końcowego efektu produkcyjnego. Doktorantka wskazała jednocześnie, że w dotychczasowej literaturze przedmiotu panuje pewien niedosyt informacji dotyczących usprawnienia procesu symbiotycznego wiązania azotu przez rośliny bobowate pod wpływem różnorodnych czynników. Stąd w mojej ocenie badania przeprowadzone przez mgr inż. Karolinę Smytkiewicz-Buzak są istotnym uzupełnieniem dotychczasowego stanu wiedzy z tego zakresu.

Merytorycznym zwieńczeniem rozprawy doktorskiej jest rozdział *Podsumowanie i wnioski*, który obejmuje 9 stwierdzeń opartych bezpośrednio o przeprowadzone badania. Pełniąc funkcję Recenzenta za szczególnie ważne z naukowego i praktycznego punktu widzenia oceniam następujące wnioski:



4. Zastosowanie preparatów zwiększyło liczbę oraz masę brodawek korzeniowych grochu rosnącego zarówno w warunkach stresu suszy jak i optymalnych warunkach wilgotności gleby. Istotnie większą liczbę brodawek uzyskano w warunkach optymalnych. Największą masę pojedynczej brodawki odnotowano u roślin z obiektu kontrolnego. Najlepszy efekt brodawkowania uzyskano stosując łącznie preparat Nod (LCOs) i molibden.
8. Preparat czynników Nod oraz Nod + Mo wykazały korzystne działanie na metabolizm, skład chemiczny oraz wzrost, rozwój i plonowanie grochu. Wymienione preparaty mogą także ograniczać negatywny wpływ stresu suszy występujący w okresie wegetacji roślin.

Jako Recenzent doceniam fakt, że badania podjęte w ramach opracowanej przez mgr inż. Karolinę Smytkiewicz-Buzak rozprawy doktorskiej mają zarówno wymiar naukowy jak i praktyczny. Szczególny potencjał dostrzegam w możliwości komercjalizacji uzyskanych wyników poprzez opracowanie nowatorskiej technologii uprawy grochu siewnego na nasiona z wykorzystaniem czynników Nod i molibdenu. Biorąc pod uwagę innowacyjny charakter przeprowadzonych badań, ich szeroki zakres, mnogość przeprowadzonych analiz oraz uzyskanie wyników o charakterze użytkowym, wnioskuję do Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach o wyróżnienie niniejszej rozprawy stosowną nagrodą.

W manuskrypcie rozprawy doktorskiej dostrzegłem pewne nieścisłości i uchybienia, które można stosunkowo łatwo wyeliminować przed publikowaniem wyników w czasopiśmie naukowym:

Uwagi:

str. 10 i dalsze; zastosowano zapis: g/kg, t/ha – proponuję $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$

str. 23, tabela 4. zastosowano zapis: $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$ – proponuję $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ N (zgodnie z zapisem w układzie SI).

str. 33. podano, że w badaniach wykorzystano wazony Mitscherlicha zawierające mieszaninę ziemi ogrodowej i piasku, w stosunku 5 kg ziemi i 2 kg piasku. Jednocześnie na tej samej stronie znajduje się informacja, że do eksperymentu wykorzystano glebę płową o składzie granulometrycznym piasku gliniastego mocnego, należąca do kompleksu żytznego bardzo dobrego, klasa bonitacyjna: IIIa – IVa. W związku z tym proszę o doprecyzowanie czy wskazana w opisie gleba płowa stanowiła jeden z komponentów do uzyskania mieszaniny użytej w wazonach Mitscherlicha?

str. 35 i dalsze; zastosowano zamiennie zapis Nod/LCOs – proponuję ujednotwić zapis w tekście całej pracy np. Nod zgodnie z tytułem dysertacji.

str. 42, tabela 8. podano metody analiz dla określenia zawartości białka ogółem i zawartości azotu w nasionach. Ponieważ zawartość białka ogółem jest uzależniona bezpośrednio



od zastosowanego współczynnika przeliczeniowego w kontekście zawartości azotu proponuję pozostawić tylko jeden parametr i podać wartość współczynnika przeliczeniowego (np. 6,25).

Proszę rozważyć możliwość wprowadzenia w tekście rozdziału *Podsumowanie i wnioski* informacji uzupełniających dotyczących potwierdzenia lub negacji postawionych hipotez badawczych (*vidi* strona 7 i 43).

Podczas analizy rozprawy doktorskiej nasunęły mi się następujące pytania:

1. Czy Pani zdaniem realne jest w Polsce spełnienie zakazu stosowania pasz zawierających w swym składzie GMO od 1 stycznia 2025 roku?
2. Poprzez jakie działania postrzega Pani możliwość zwiększenia/stabilizacji produkcji nasion roślin bobowatych, jako krajowego źródła białka konsumpcyjnego i/lub paszowego?

5. Wniosek końcowy

Podsumowując stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Karoliny Smytkiewicz-Buzak pt. „Wpływ czynników Nod i molibdenu na usprawnienie procesu symbiotycznego wiązania azotu i plonowanie grochu siewnego w zróżnicowanych warunkach wilgotności gleby” spełnia wymagania formalne i merytoryczne stawiane tego typu opracowaniom naukowym, a zawartymi w Dz.U.2023.742 t.j. Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dział V Stopnie i tytuł w systemie szkolnictwa wyższego i nauki, Rozdział 2 Stopień doktora, Art. 186 [Warunki nadania stopnia doktora].

Jednocześnie potwierdzam, że tematyka przeprowadzonych badań, ich zakres oraz uzyskane wyniki i sformułowane wnioski w pełni wpisują się w dziedzinę nauk rolniczych, dyscyplinę naukową rolnictwo i ogrodnictwo, tym samym stanowiąc oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Konkludując stawiam wniosek do Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach o dopuszczenie mgr inż. Karoliny Smytkiewicz-Buzak do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Prof. dr hab. inż. Marcin Kozak