

Bydgoszcz, 28.11.2019 r.

Dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk, prof. uczelni
Pracownia Fitopatologii i Mykologii Molekularnej
Katedra Biologii i Ochrony Roślin
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Karola Kotlarza pt. „Struktura mikroorganizmów strefy korzeniowej oraz zdrowotność wybranych roślin uprawnych w zależności od nawożenia azotem” wykonanej w Katedrze Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem prof. dr hab. Tomasza P. Kurowskiego

Mikroorganizmy występują niemalże we wszystkich środowiskach, a ich obecność zapewnia ekologiczną stabilność zajmowanych środowisk. Do jednego z najważniejszych miejsc bytowania i rozwoju mikroorganizmów należy gleba, w której występuje ogromna ilość bardzo zróżnicowanych drobnoustrojów, w tym patogenów roślin uprawnych. Mikroorganizmy pełnią istotną rolę w przemianie składników glebowych, udostępnianiu składników pokarmowych roślinom, biorą udział w obiegu pierwiastków w przyrodzie, biologicznej przemianie nawozów, zarówno organicznych jak i mineralnych. Ilość mikroorganizmów jest zmienna i zależy przede wszystkim od jakości gleby, jej właściwości fizykochemicznych, struktury i odczynu, czy zawartości materii organicznej. Rozmieszczenie mikroorganizmów w glebie nie jest jednakowe, im bliżej korzeni roślin tym jest ich więcej. Na zmianę ich liczebności, oprócz samej gleby, wpływają także czynniki ekologiczne, klimatyczne oraz agrotechniczna działalność człowieka, w tym nawożenie mineralne. Jednakże niezrównoważone nawożenie mineralne może wpływać niekorzystnie na niektóre elementy żyzności gleby.

Warto zaznaczyć, iż nawożenie mineralne, w tym nawożenie azotem, może wpływać na zdrowotność roślin. W Polsce z nawozów azotowych głównie stosuje się saletrę amonową i mocznik. W ostatnich latach coraz częściej wykorzystywane są również płynne formy nawozów mineralnych. Z roku na rok wzrasta udział stosowania roztworu saletrzano-mocznikowego (RSM). Nawożenie takie stosowane jest od stosunkowo niedawna i nie wiadomo jeszcze dokładnie jak ta płynna forma nawozu wpływa na zdrowotność roślin, a tym bardziej jak wpływa na skład zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających glebę, ryzosferę i ryzoplanę. Wobec tego Doktorant dokonał słusznego wyboru podejmując się analizy

zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających korzenie i glebę strefy przykorzeniowej trzech najważniejszych gatunków roślin uprawianych w Polsce, tj. pszenicy ozimej, rzepaku ozimego i kukurydzy.

Przedstawiona do oceny rozprawa pana mgr inż. Karola Kotlarza liczy łącznie 142 numerowane strony, w tym zawiera 19 tabel i 2 rysunki. Struktura rozprawy została opracowana w układzie klasycznym dla prac doktorskich, według ogólnie przyjętego schematu, typowego dla wieloaspektowej pracy empirycznej. Całość materiału opisowego podzielono na 9 głównych rozdziałów merytorycznych: 1. Wstęp, 2. Cel, zakres pracy i hipotezy badawcze, 3. Przegląd literatury, 4. Materiał i metody badań, 5. Przebieg pogody, 6. Wyniki badań, 7. Dyskusja wyników, 8. Wnioski, 9. Piśmiennictwo oraz dodatkowo wyodrębniono 3 rozdziały nienumerowane: Spis załączników, Streszczenie i Summary. Ponadto w obrębie rozdziałów 3., 4. i 6. wyodrębniono szereg podrozdziałów oraz mniejszych jednostek redakcyjnych. Taki układ sprawia, iż praca jest czytelna. Stwierdzono jednak pewne rozbieżności pomiędzy spisem treści a tekstem pracy w nazewnictwie podrozdziałów 3.4., 4.1., 4.3., 4.4.1. i „Spis załączników”.

Treść pracy odpowiada tematowi określone w prawidłowo zredagowanym tytule. Autor we wstępnej części rozprawy w rzetelny sposób zapoznaje czytelnika ze znaczeniem mikroorganizmów występujących w glebie, wprowadzając w problematykę podjętych badań. Uzasadnia sensowność podjęcia tych badań.

Kolejną częścią pracy jest założenie ambitnego celu, który został odpowiednio sformułowany i w toku badań osiągnięty. Ponadto na podstawie dotychczasowego stanu wiedzy Autor sformułował cztery hipotezy badawcze.

W rozdziale „Przegląd literatury” Autor wyodrębnił 6 podrozdziałów i 4 mniejsze jednostki redakcyjne, wykorzystując liczne pozycje literatury, dobrane odpowiednio do studiowanego zagadnienia i właściwego tematu badawczego. Na początku przybliżył, co rozumie się pod pojęciem gleba i strefę korzeniową roślin, jako środowisko życia licznych mikroorganizmów. Omawiając mikroorganizmy glebowe szczególną uwagę zwrócił na grzyby i bakterie, przy czym skupił się głównie na rodzajach *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* oraz promieniowcach. W dalszej kolejności Doktorant znaczną część przeglądu poświęcił oddziaływaniom nawożenia mineralnego na występowanie mikroorganizmów glebowych oraz zdrowotność roślin. Krótko omówił stosowane w praktyce formy nawozów azotowych. Moim zdaniem nie było jednak potrzeby wyróżniania po jednym podrozdziale w ramach rozdziałów 3.3. i 3.6.

Zweryfikowanie postawionych hipotez badawczych oraz osiągnięcie założonego celu wymagało zgromadzenia i przygotowania odpowiedniego materiału badawczego oraz wielu szczegółowych i wysoce specjalistycznych badań, których wykonanie Doktorant podał

w rozdziale „Materiał i metody badań”. Oceniana rozprawa doktorska obejmuje obserwacje polowe i prace laboratoryjne. Z uwagi na szeroko zakrojone badania i związaną z tym konieczność zastosowania wielorakich metod, Autor wyodrębnił w tym rozdziale 6 podrozdziałów i 5 mniejszych jednostek redakcyjnych. Dzięki takiemu podejściu lokalizacja doświadczeń polowych, materiał badawczy, czynnik doświadczenia, procedur postępowania z próbami pochodzącymi z doświadczeń polowych oraz sposób wykonania ocen zdrowotności roślin i badań laboratoryjnych, zostały odpowiednio przedstawione. Materiał badawczy stanowiły rośliny oraz gleba spod pszenicy ozimej, rzepaku ozimego i kukurydzy, uprawianych w jednoczynnikowych doświadczeniach polowych założonych przez Katedrę Agrotechnologii, Zarządzania Produkcją Rolniczą i Agrobiznesu oraz Katedrę Chemii Rolnej i Ochrony Środowiska UWM w Olsztynie, we współpracy z Zakładami Azotowymi "Puławy" S.A.

W pracy użyto prawidłowych metod badawczych, właściwie dobranych i zastosowanych, nie budzących zastrzeżeń merytorycznych. Autor opisał sposoby przeprowadzania eksperymentów, uwzględniając wszystkie niezbędne metodyki przez ich opisanie bądź podanie źródła literaturowego. W swych badaniach Doktorant stosował metody klasyczne, jak również nowoczesne. Przedstawił sposób izolacji wybranych rodzajów bakterii i grzybów z gleby, ryzosfery i ryzoplany oraz sposób ich identyfikacji. Szczególnie wartościowe jest zastosowanie technik molekularnych, pozwalających na określenie liczby kopii genów grzybów rodzaju *Fusarium* produkujących deoksynivalenol. W celu oszacowania występowania tych grzybów wykonano analizy z wykorzystaniem nowoczesnej techniki real-time PCR. Podjęcie powyższych badań świadczy o rzetelnym rozpoznaniu i dobrym opanowaniu przez Doktoranta nowoczesnych technik badawczych, jak i tych już sprawdzonych. Wskazuje jednoznacznie, iż posiada duże umiejętności praktyczne i szerokie rozeznanie w literaturze światowej, dotyczącej metod badawczych. Ponadto, dla odpowiedniej interpretacji uzyskanych wyników i wnioskowania przeprowadził szereg analiz statystycznych, adekwatnych do uzyskanych wyników.

Prawidłowe zaplanowanie i staranne wykonanie bardzo pracochłonnych badań, umożliwiło uzyskanie wielu interesujących, a zarazem cennych danych. Opis wyników Autor przedstawił w 2 podrozdziałach (badania polowe; prace laboratoryjne) i 9 mniejszych jednostkach redakcyjnych. Dane wynikowe uzyskane z przeprowadzonych obserwacji i analiz zamieścił w 18 tabelach i na 2 rysunkach. Taki układ pozwolił na dokładne i zrozumiałe przedstawienie dużej ilości danych wynikowych.

Na podstawie czteroletnich obserwacji Doktorant nie stwierdził dużego zróżnicowania w zdrowotności roślin pszenicy, rzepaku i kukurydzy w zależności od formy zastosowanego nawożenia azotem. Nasilenie chorób w większym stopniu zależało od przebiegu pogody. Istotny

wpływ badanego czynnika obserwowano jedynie w poszczególnych latach badań, natomiast dla całego cyklu badań efekt ten nie był zbyt wyraźny. Dało się jednak zauważyć, że nawożenie roztworem saletrzano-mocznikowym (RSM) wpłynęło korzystnie na ograniczenie nasilenia występowania zgorzeli korzeni, brunatnej plamistości liści i fuzariozy kłosów w uprawie pszenicy, suchej zgnilizny kapustnych na rzepaku oraz zgorzeli korzeni kukurydzy. Jednak z drugiej strony nawożenie tą formą azotu sprzyjało występowaniu fuzaryjnej zgorzeli podstawy źdźbła na pszenicy, szarej pleśni na rzepaku i żółtej plamistości liści kukurydzy.

Na podstawie przeprowadzonych analiz laboratoryjnych stwierdzono, iż zarówno nawożenie saletrą amonową i mocznikiem w formie stałej, jak i nawożenie azotem w formie płynnej (RSM) wpłynęło korzystnie na liczebność uzyskanych izolatów grzybów ze strefy korzeniowej wszystkich trzech gatunków roślin. Z gleby spod uprawy pszenicy i strefy korzeniowej rzepaku, grzyby częściej izolowano po zastosowaniu saletry amonowej i mocznika w formie stałej. Natomiast nawożenie RSM korzystnie wpływało na liczebność kolonii grzybów zasiedlających ryzoplano pszenicy i strefę korzeniową kukurydzy. Najczęściej izolowanymi patogenami były grzyby rodzajów *Fusarium*, *Botrytis*, *Gaeumannomyces*, *Rhizoctonia* i *Verticillium*. Jednak częściej izolowano grzyby uznawane za saprotrofy, należące do rodzajów *Penicillium*, *Mucor*, *Arthrinium*, *Microascus*, *Rhizopus* i *Juxtiphoma*.

Doktorant odnotował również wyraźny wpływ formy nawożenia azotem na występowanie bakterii w strefie korzeniowej badanych roślin. Stosowanie RSM korzystnie wpływało na ilość kolonii bakterii rodzaju *Azotobacter* w strefie korzeniowej pszenicy i kukurydzy oraz ilość bakterii posiadających zdolność do rozpuszczania fosforanów w strefie korzeniowej kukurydzy. Natomiast zastosowanie saletry amonowej i mocznika w formie stałej wpływało niekorzystnie na ilość bakterii rodzaju *Azotobacter* w strefie korzeniowej kukurydzy. Ilość analizowanych grup bakterii wyizolowanych ze strefy korzeniowej rzepaku nie różniła się znacząco, niezależnie od zastosowanego wariantu nawożenia azotem. Forma nawożenia azotem nie różnicowała również ilości bakterii rodzajów *Bacillus*, *Pseudomonas* i promieniowców w glebie i strefie korzeniowej badanych roślin uprawnych.

Przeprowadzona analiza real-time PCR wykazała niewielkie zróżnicowanie w występowaniu toksynotwórczych grzybów rodzaju *Fusarium*, które nie zależało od zastosowanych form nawożenia azotem. W glebie spod uprawy pszenicy i kukurydzy obecność genu TRI5, świadczącego o obecności toksynotwórczych grzybów tego rodzaju, stwierdzono tylko w 2015 i 2017 roku, nie odnotowano go w glebie pochodzącej spod uprawy rzepaku. Natomiast obecność genu TRI5 w glebie ryzosferowej stwierdzono dla wszystkich badanych roślin, choć liczba kopii genu nie była zbyt duża.

W „Dyskusja wyników”, liczącej aż 17 stron, Autor wyniki własne umiejętnie konfrontuje z rezultatami badań innych autorów, zawartych w przytoczonych pozycjach

piśmiennictwa. Z rozdziału tego wynika, iż posiada on szerokie rozeznanie w literaturze naukowej, a jednocześnie umiejętność krytycznego podejścia do uzyskanych rezultatów własnych badań. Niewątpliwie rozdział ten jest jednym z najwartościowszych elementów dysertacji.

Osiągnięcia wynikające z przeprowadzonych oryginalnych badań podsumowane zostały piętnastoma wnioskami, które wypływają bezpośrednio z dyskusji i są trafnie osadzone w wynikach badań. Wnioski te są poprawnie sformułowane, warto jednak zastanowić się nad ograniczeniem ich liczby, między innymi poprzez połączenie niektórych z nich, np. wniosek 2. z 3., 5. z 6. i 7. oraz 14. z 15. Wniosek 8. wydaje się być zbyt ogólnikowy, tym bardziej iż kolejne wnioski uściślają wpływ formy nawożenia azotem na badane mikroorganizmy.

Cytowana przez Doktoranta literatura stanowi aż 285 pozycji piśmiennictwa i 5 opracowań zamieszczonych na stronach internetowych, związanych tematycznie z rozprawą. Dobór literatury jest właściwy, zawierający dobrze wyselekcjonowane pozycje, odzwierciedlające aktualny stan wiedzy dotyczący problematyki podjętej w pracy. Stwierdzono jednak pewne nieścisłości w cytowanej literaturze

- W spisie literatury brak pozycji Szulc 2012, są jedynie pozycje Szulc 2013 a i b.
- W tekście pracy (str. 15) podane jest Solecka i in. 2012 a w spisie jest jedynie Solecka i in. 2013; w tekście (str. 19, 21) jest Korbas i in. 2008 a w spisie Korbas i in. 2008 a lub b; w tekście (str. 24) podano Edwards i in. 2004 a w spisie jest jedynie Edwards 2004 i Edwards i in. 2002; w tekście (str. 56) jest Krupinsky i in. 2001 a w spisie jest Krupinsky i Tanaka 2001; w tekście (str. 62) jest Aydogdu i Boraz 2011 a w spisie jest Aydogdu i Boyraz 2011.
- W spisie przy pozycji Torsvik i in. 1990 po roku niepotrzebna jest literka „a”, gdyż jest tylko jedna pozycja literaturowa tego autora.

Zważywszy na tak dużą liczbę cytowanej literatury, należy zaznaczyć, iż te drobne nieścisłości nie umniejszają wartości ocenianej pracy.

Oceniając pracę stwierdzam, że jest ona spójna, dobrze zredagowana, niebudząca zastrzeżeń pod względem stylistycznym i językowym. Pomimo niewątpliwych walorów jakie praca ta posiada, jej lektura skłania do kilku uwag i sugestii:

- Stwierdzono rozbieżności dotyczące powierzchni zasiewu analizowanych w pracy roślin uprawnych. Przykładowo we Wstępie na str. 6 według danych GUS (2019) podano: pszenica ozima - 1,88 mln ha; rzepak wraz z rzepikiem - 0,82 mln ha; kukurydza - 1,19 mln ha, z czego 0,594 mln ha z przeznaczeniem na ziarno i 0,597 mln ha z przeznaczeniem na pasze. Natomiast już w Przeglądzie literatury wg GUS (2019) dla danych z 2018 roku podane jest: pszenica ozima - 1,95 mln ha (str. 19); rzepak wraz

z rzepikiem - 0,91 mln ha (str. 21); kukurydza - 1,15 mln ha, z czego z przeznaczeniem na ziarno 0,56 mln ha a na paszę 0,59 mln ha (str. 22). Dane te warto zweryfikować.

- W pracy zastosowano stwierdzenie, iż porażenie roślin powodują choroby (str. 24, 27, 37), co jest niewłaściwe gdyż porażenia dokonuje patogen a nie choroba. Choroba jest wynikiem porażenia dokonanego przez patogena. Dlatego pisząc o porażeniu należy podawać gatunek grzybów, bądź patogenów z innych jednostek taksonomicznych, a nie nazwy chorób powodowanych przez te patogeny. Ponadto należy podawać poprawne, pełne nazwy chorób, zgodnie z opracowaniem „Polskie nazwy chorób roślin uprawnych” wydanym w 2017 r. Przykładowo na str. 19. i 101. podane jest „łamlliwość podstawy źdźbła” a powinno być łamlliwość źdźbła zbóż i traw; na str. 27. jest „mączniak” a powinno być mączniak prawdziwy zbóż i traw. Ponadto spotyka się różne nazwy sprawców tych samych chorób, np. na str. 20 dla septoriozy plew pszenicy podane jest „*Phaeosphaeria* (syn. *Stenogospora*) *nodorum*” a na str. 30 jest już „*Parastagonospora nodorum*”.
- W rozdziałach „Materiał i metody badań” oraz „Wyniki badań”, nie ma potrzeby ciągłego podawania opisowych nazw faz rozwojowych, w których wykonywano obserwacje, i faz wg skali BBCH. Moim zdaniem wystarczy za pierwszym razem podać obie formy a następnie podawać już fazę wg skali BBCH, jako precyzyjniejszej.
- Podając łacińskie nazwy gatunków mikroorganizmów/roślin stosuje się pełne ich nazwy, pisane kursywą, a już przy kolejnym stosuje się ich skrócone nazwy. Zasady pisowni Doktorantowi są znane, jednak nie zawsze były stosowane.
- Warto doprecyzować stwierdzenia dotyczące liczebności/ilości bakterii i grzybów (np. str. 71, 72).
- Warto ujednoczyć zapisy jednostek, np. na str. 29, jest „kg·ha⁻¹” a nieco niżej już „kg N/ha”.

Powyżej wymienione drobne uwagi/sugestie, często edytorskie, nie umniejszają wartości ocenianej pracy. Wskazanie kilku, niekiedy dyskusyjnych uwag lub sugestii, mogących być uwzględnionych przy redagowaniu pracy do opublikowania, nie kwestionuje niewątpliwych wartości jakie wnosi rozprawa do nauki. Należy wyraźnie stwierdzić, że rozprawa doktorska ma charakter pełnego opracowania, zwiera wiele cennych i nowych dla nauki wyników, mających dużą wartość poznawczą, a także praktyczną.

Opinia końcowa

Podsumowując stwierdzam, że **pod względem formalnym, metodycznym i merytorycznym przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Karola Kotlarza spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określonym w Ustawie z dnia**

14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r., nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora. **W związku z powyższym przedkładam wniosek do Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie pana mgr inż. Karola Kotlarza do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.**



.....
dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk, prof. uczelni