

Dr hab. Marzena Wińska-Krysiak  
Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa,  
Katedra Ochrony Roślin,  
Instytut Nauk Ogródniczych  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
w Warszawie

Warszawa, 10.08.2023r.

## **RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**mgr inż. Daniela Skubija**

**pt.: „Wpływ nawożenia mineralnego na plonowanie oraz skład chemiczny stewii (*Stevia rebaudiana* Bertoni) uprawianej w warunkach polowych i pod osłonami”**

**wykonanej w Zakładzie Żywienia Roślin, Instytucie Produkcji Ogródniczej  
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem naukowym dr hab. Katarzyny  
Dzida, prof. uczelni oraz promotora pomocniczego dr Karoliny Pitura**

### **Podstawa opracowania recenzji**

Podstawą formalną opracowania recenzji jest pismo Pani Prof. dr hab. Barbary Kołodziej Przewodniczącej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 30 czerwca 2023r. (RD RiO 5100/os/2023) z prośbą o przygotowanie oceny wspomnianej wyżej rozprawy i stwierdzenie czy odpowiada ona ustawowym wymogom stawianym rozprawom doktorskim zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 26 czerwca 2023r.

### **Podstawowe informacje dotyczące ocenianej rozprawy doktorskiej**

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest oryginalną pracą naukową, która prezentuje rezultaty pracochłonnych trzyletnich badań. Praca obejmuje 109 stron z 27 tabelami, 8 wykresami oraz 5 fotografiami dokumentującymi wyniki badań. Autor wyróżnia 8 rozdziałów głównych: wstęp (2 strony), cel badań (1 strona), przegląd literatury (29 stron), materiał i metody badań (6 stron), wyniki (22 strony), dyskusję (9 stron), wnioski (1 strona) i bibliografię (33 strony). Zastosowany podział pracy jest prawidłowy i typowy dla tego typu prac. Całość została przejrzysto zredagowana. Wykorzystana literatura obejmuje aż 354 pozycji w tym 329 obcojęzycznych oraz 61 opublikowanych w roku 2020 i później. Wykorzystane źródła zostały dobrane poprawnie i w pełni charakteryzują omówioną problematykę.

### **Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej**

#### ***Ocena podjętej tematyki badawczej***

Wybrany temat i przeprowadzone badania dotyczące wpływu żywienia mineralnego nawozami zawierającymi azot na plonowanie, skład mineralny i wartość biologiczną stewii uważam za trafne i w pełni uzasadnione aktualnym stanem wiedzy i potrzebami praktyki. Badania prowadzone przez wiele lat wskazują na bardzo korzystny wpływ nawozami azotowymi na plon różnych roślin. Nie zawsze jest to jednak równoznaczne z wysoką jakością materiału roślinnego. Przyglądając się wynikom z literatury możemy dostrzec zróżnicowany poziom skuteczności działania różnych rodzajów nawozów. Decyzja o wyborze konkretnego nawozu azotowego wpływa na wysokość plonowania, jakość materiału, a to z kolei przekłada się z jednej strony na zysk producenta, a z drugiej na zadowolenie konsumentów.

Doktorant przedstawił stan wiedzy w oparciu zarówno o starszą jak i najnowszą literaturę. Wyczerpująco przedstawił zagadnienia dotyczące biologii, wymagań klimatyczno-glebowych, wymagań pokarmowych i potrzeb nawozowych stewii. Szczególną uwagę poświęcił znaczeniu gospodarczemu stewii i występującym w niej substancjom bioaktywnym i ich właściwościom.

### ***Cel rozprawy i zastosowane metody badawcze***

Recenzowaną dysertację można umieścić w głównym nurcie badań nad wpływem czynników agrotechnicznych na plony i jakość surowców zielarskich. Z czynników agrotechnicznych największy wpływ na plonowanie roślin wywiera nawożenie mineralne, szczególnie azotem. Makroskładnik ten powoduje największe przyrosty masy roślin. Pochylić się więc trzeba nad optymalizacją nawożenia, tak aby zwiększyć plon surowca zielarskiego nie obniżając w nim zawartości składników mineralnych oraz ich wartości biologicznej.

Hipoteza oraz cel badań został precyzyjnie sformułowany przez Doktoranta. Mgr inż. Daniel Skubij postawił sobie następującą hipotezę badawczą: istnieje taka dawka makroelementów, a wśród nich podstawowego składnika pokarmowego jakim jest azot, która pozytywnie wpływa na plon *Stevia rebaudiana* (Bertoni) w uprawie polowej i szklarniowej oraz jednocześnie przyczynia się do otrzymania surowca o wysokim standardzie jakościowym.

Do weryfikacji postawionej hipotezy badawczej mgr inż. Daniel Skubij wyodrębnił cele szczegółowe, które dotyczyły określenia wpływu zróżnicowanego nawożenia azotem na plonowanie oraz wartość biologiczną i skład chemiczny liści *Stevia rebaudiana* (Bertoni), uprawianej w warunkach polowych (dawka 0; 5; 10; 15 g N·m<sup>-2</sup> i rodzaj nawozu azotowego: saletra amonowa, mocznik) oraz w warunkach kontrolowanych (dawka 0,4; 0,8; 1,6 g N·dm<sup>-3</sup> i rodzaj nawozu azotowego: saletra amonowa, saletra wapniowa).

Dobór materiału roślinnego i zastosowane metody badawcze uważam za odpowiednie, pozwalające zrealizować postawiony cel. Wieloletnie doświadczenia zaplanowano z odpowiednią liczbą powtórzeń. Analizy statystyczne uzyskanych wyników opracowano przy użyciu programu Statistica 13.1. Przeprowadzono analizy wariancji (ANOVA), a najmniejszą istotną różnicę (NIR) dla porównywanych średnich wykazano na podstawie testu t-Tukey'a przy poziomie istotności p=0,05.



### *Osiągnięcia badawcze, dyskusja i wnioski*

Doktorant udowodnił, że:

- wielkość plonu surowca stewii zmieniała się istotnie pod wpływem stosowanych dawek N oraz rodzaju nawozów azotowych. Najwyższy plon świeżej masy uzyskał po zastosowaniu: mocznika w dawce  $15 \text{ g N}\cdot\text{m}^{-2}$  gleby (w uprawie polowej) oraz saletry wapniowej w dawce  $1,6 \text{ g N}\cdot\text{dm}^{-3}$  podłoża (w uprawie szklarniowej). Wraz z zastosowaniem wzrastającej dawki azotu w postaci badanych nawozów azotowych zarówno w uprawie polowej jak i szklarniowej zwiększała się koncentracja N-NO<sub>3</sub> i wapnia w roślinie natomiast zmniejszała zawartość potasu.
- zawartość, zarówno stewiozydu, jak i rebaudiozydu A zmieniała się w zależności od zastosowanej dawki azotu i rodzaju nawozu azotowego. Odnotowano obniżenie sumy glikozydów stewiolowych w stewii względem rosnącej dawki azotu. Najwyższy średni plon rebaudiozydu A w uprawie polowej i w uprawie szklarniowej uzyskano po zastosowaniu najwyższej dawki azotu.
- największą zawartość białka i azotu ogółem w uprawie polowej stwierdzono w stewii nawożonej saletrą amonową w dawce  $10 \text{ g N}\cdot\text{m}^{-2}$  gleby, natomiast w uprawie szklarniowej w roślinach nawożonych saletrą amonową w dawce  $1,6 \text{ g N}\cdot\text{dm}^{-3}$  podłoża.
- w uprawie polowej stewii zastosowana wzrastająca dawka azotu zarówno w postaci saletry amonowej, jak i mocznika powodowała wzrost zawartości kwasu L-askorbinowego w roślinach, natomiast w uprawie szklarniowej nie odnotowano istotnego wpływu dawki azotu oraz rodzaju nawozu azotowego na syntezę tego kwasu.

Uzyskane wyniki badań dotyczące plonowania, wartości biologicznej oraz oceny stanu odżywiania azotem *Stevia rebaudiana* Bertoni mają nie tylko znaczenie poznawcze ale również aplikacyjne dla producentów i firm zajmujących się przetwórstwem tej rośliny. Na podstawie analizy parametrów ilościowych i jakościowych plonu roślin w celu uzyskania najwyższego plonu oraz najlepszej jakości surowca należy w uprawie polowej stosować  $10\text{-}15 \text{ g N}\cdot\text{m}^{-2}$  gleby, a w uprawie szklarniowej stewii  $0,8\text{-}1,6 \text{ g N}\cdot\text{dm}^{-3}$  podłoża.

W dyskusji Doktorant umiejętnie skonfrontowano wyniki badań własnych z wynikami z literatury. Jest to jedna z mocniejszych części pracy. Wnioski zamieszczone w pracy wynikają z jej treści i są potwierdzone badaniami.

Doktorant nie uniknął jednak merytorycznych błędów. W mojej opinii mgr inż. Daniel Skubij powinien przed założeniem doświadczeń przeprowadzić pełną analizę gleby włącznie z zawartością azotu, który jest głównym czynnikiem plonotwórczym. Na stronie 39 – 41 gdzie został umieszczony opis doświadczenia polowego takiej informacji nie znalazłam. Proszę Doktoranta o komentarz w tej kwestii.

Na stronie 48 uważam, że Doktorant błędnie interpretuje plon rebaudiozydu A.

„Najniższą średnią zawartość glikozydów stewiolowych ( $101,41 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ s.m}$ ) uzyskano nawożąc rośliny dawką  $10 \text{ g N}\cdot\text{m}^{-2}$  gleby, a najwyższy średni plon rebaudiozydu A odnotowano w obiektach bez nawożenia azotowego. [...] Odnotowano natomiast tendencję wzrostową stosunku rebaudiozydu A do stewiozydu wraz z wzrastającą dawką azotu.”

Najwyższy średni plon rebaudiozydu A zgodnie z tab. 13 odnotowano nie w obiektach bez nawożenia azotowego ( $16,15 \text{ rebaudiozydu A (g}\cdot\text{m}^{-2})$ ) ale w roślinach nawożonych najwyższą dawką azotu ( $26,78 \text{ rebaudiozydu A (g}\cdot\text{m}^{-2})$ ). Nie należałoby również użyć sformułowania o wzrostowej tendencji stosunku rebaudiozydu A do stewiozydu wraz ze wzrastającą dawką azotu. Tendencja wzrostowa jest obserwowana jedynie między roślinami kontrolnymi a roślinami nawożonymi  $5 \text{ g N/m}^2$  oraz między roślinami nawożonymi  $10 \text{ g N/m}^2$  a roślinami nawożonymi  $5 \text{ g N/m}^2$ .

Na stronie 49 Doktorant błędnie przedstawił zawartość azotu ogółem w liściach stewii. Na rycinie 6 (str. 50) zawartość ta waha się od 2,16 do 3,12% s.m. a nie jak przedstawił Doktorant od 2,60 do 3,12% s.m.

Bardzo proszę o wyjaśnienie interpretacji na str. 65 dotyczącej zawartości chloru w podłożu.

„Analiza podłoża po zakończeniu doświadczenia wykazała istotne różnice w zawartości chloru względem zastosowanych czynników badawczych. Przy wzrastającej zawartości azotu mineralnego w podłożu odnotowano wzrost koncentracji chloru w badanym podłożu (średnio od 73,11 do  $87,95 \text{ mg Cl}\cdot\text{dm}^{-3}$ ).”

Według mnie według tabeli 26 tylko dawki (a nie oba czynniki) wpływały w sposób istotny na zawartości chloru w podłożu. Jednak jeżeli do wartości Cl ( $73,11 \text{ mg/dm}^3$ ) w podłożu nawożonym  $0,4 \text{ g N/dm}^3$  dodamy wartość  $\text{NIR}=14,928$  to aby wykazać istotną różnicę powinniśmy odnotować wartość chloru powyżej  $88,038 \text{ mg/dm}^3$ . Doktorant uzyskał najwyższą wartość  $87,95 \text{ mg Cl/dm}^3$ , zatem nie wykazano istotnego wpływu nawożenia azotowego. Proszę o wyjaśnienie własnej interpretacji.

Według Recenzenta należałoby wyliczyć wartości współczynnika korelacji pomiędzy zawartością makroskładników i mikroskładników w liściach stewii a wartościami uzyskanymi dla wskaźników wartości biologicznej. Należy określić istotność tych współczynników. Proszę Doktoranta o komentarz w tej kwestii.

### **Ocena strony edytorskiej rozprawy**

W pracy zanotowałam błędy o mniejszym znaczeniu dotyczące cytowanej literatury, niefortunnych sformułowań i usterek edytorskich, które zostały poczynione z obowiązku recenzenta. Część z nich zamieszczam poniżej. Błędy te nie zmniejszają wartości poznawczej



i aplikacyjnej rozprawy, a poczynione uwagi mają pomóc Autorowi w przygotowaniu pracy do druku w czasopismach naukowych.

Niektóre pozycje literatury nie zostały zacytowane lub zacytowane błędnie.

W tekście brakuje Fyodorov i in. 2018 (w spisie literatury pozycja jest na str. 86).

Zamiast „Balbin-De Luna i in. 2022” powinno być „Balbin-De Luna i Salazar 2022” (str. 22).

Zamiast „Büyük i in. 2018” powinno być „Büyük i in. 2022” (str. 77).

Bibliografię należy uporządkować alfabetycznie: pozycja 313 w spisie literatury powinna być na 135 pozycji. Pozycja „IMARC GROUP, 2022. Stevia Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2023-2028. Report ID: SR112023A573. <https://www.imarcgroup.com/stevia-market>” nie powinna być po pozycji „Starratt A.N., Kirby C.W., Pocs R., Brandle J.E., 2002. Rebaudioside F, a diterpene glycoside from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*, 59, 367–370.

Bibliografii należy nadać jednolity styl. Ponadto w tytułach artykułów nazwy gatunków w języku łacińskim należy pisać kursywą (pozycja 4, 6, 123, 134, 145, 173, 238).

W streszczeniu w języku angielskim należy w zapisie liczb typu 0,4; 0,8; 1,6 użyć kropki zamiast przecinka (str. 6).

Błędna nazwa *Stevia rebaudiana* (Bertroni) (str. 5, 6, 10, 76). Powinno być *Stevia rebaudiana* (Bertoni).

Pod ryciną 3 i 4 brakuje wyjaśnienia użytych skrótów (str. 29 i 31).

We wszystkich tabelach 10-27 jest  $NIR_{\alpha=0,05}$  powinno być  $NIR_{\alpha=0,05}$

W kilku miejscach tekst wymaga stylistycznej lub technicznej korekty:

- str. 32 – „(27,51-29,5 g·100 g<sup>-1</sup>)” zapis ten powinien być w jednym wierszu, liczba jeden w indeksie górnym nie powinna być w kolejnym wierszu.

- str. 35 – „Spożycie niskokalorycznych substytutów cukru takich jak glikozydy stewiolowe może odgrywać dużą rolę w utracie wagi, ponieważ nie stymulują apetytu i nie zwiększa spożycia kalorii. Przeprowadzone badania na hiperlipidemicznych szczurach, którym podawano ekstrakt z stewii w określonych dawkach, wykazały zmniejszenie ich masy ciała.” Sugeruję sformułowanie:

„Spożycie niskokalorycznych substytutów cukru takich jak glikozydy stewiolowe może odgrywać dużą rolę w utracie wagi, ponieważ nie stymulują apetytu i nie zwiększają spożycia kalorii. Przeprowadzone badania na hiperlipidemicznych szczurach, którym podawano

ekstrakt ze stewii w określonych dawkach, wykazały zmniejszenie ich masy ciała.” Poprawka ze stewii - dotyczy całej pracy.

- str. 52 – „Istotnie więcej manganu zawierały rośliny nawożone mocznikiem (średnio 722,72 mg·kg<sup>-1</sup>) w porównaniu do obiektów nawożonych saletrą amonową (średnio 636,17 mg·kg<sup>-1</sup>).”

Sugeruję sformułowanie:

„Istotnie więcej manganu zawierały rośliny nawożone mocznikiem (średnio 722,72 mg·kg<sup>-1</sup>) w porównaniu z obiektami nawożonymi saletrą amonową (średnio 636,17 mg·kg<sup>-1</sup>).” Poprawka w porównaniu z - dotyczy całej pracy.

### **Podsumowanie i wnioski końcowe**

Po zapoznaniu się z ocenianą pracą doktorską stwierdzam, że mgr inż. Daniel Skubij posiada niezbędną znajomość warsztatu metodycznego i pracy w laboratorium. Ponadto wykazał się umiejętnościami analizowania i interpretacji wyników swoich badań oraz ich konfrontacji z dostępną literaturą. Przedstawiona do recenzji praca stanowi wartościowe, oryginalne opracowanie naukowe gdyż została zrealizowana przy pomocy dobrze dobranych technik badawczych, co pozwoliło na uzyskanie wartościowych i wiarygodnych wyników. Otrzymane wyniki (z doświadczeń trzyletnich) mają dużą wartość poznawczą i wnoszą oryginalny wkład do rozwoju wiedzy z zakresu uprawy roślin zielarskich i bardzo dobrze wpisują się w obecny nurt badań nad surowcami.

W mojej ocenie przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Daniela Skubija pt.: „Wpływ nawożenia mineralnego na plonowanie oraz skład chemiczny stewii (*Stevia rebaudiana* Bertoni) uprawianej w warunkach polowych i pod osłonami” ma charakter oryginalnej pracy twórczej i spełnia wymagania Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zm.) w zw. z art. 179 ust. 3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z dnia 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669).

W związku z tym wnioskuję do Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie Pana mgr inż. Daniela Skubija do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 10 sierpnia 2023 roku

  
Dr hab. Marzena Wińska-Krysiak