

prof. dr hab. Maria Wanic  
Katedra Agroekosystemów i Ogrodnictwa  
Wydział Rolnictwa i Leśnictwa  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

### Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Nowak na temat **”Efekty różnych aplikacji nanocząstek żelaza na rośliny rzepaku (*Brassica napus* var. *oleifera*) we wczesnych fazach wzrostowo-rozwojowych”**

Promotor: prof. dr hab. Anna Wenda-Piesik

#### 1. Uzasadnienie badań

Żelazo jest pierwiastkiem odgrywającym znaczącą rolę w procesach fizjologicznych i biochemicznych roślin. W komórkach roślinnych występuje głównie w chloroplastach i mitochondriach i uczestniczy w podstawowych procesach życiowych roślin, tj. fotosyntezie i oddychaniu. Bierze m.in. udział w transporcie elektronów, syntezie chlorofilu, aktywacji wielu enzymów, czy też syntezie RNA. Decyduje to o wzroście i rozwoju roślin i w ostateczności o wysokości plonu i jego jakości. Poprzez zmianę potencjału redoks może być jednak toksyczne dla roślin. Żelazo, jakkolwiek występuje w glebie w dużych ilościach, nie zawsze jest dostępne w odpowiednich ilościach dla roślin. Niezbędne jest więc nawożenie roślin tym pierwiastkiem. Nanotechnologie, które stosuje się w wielu działach gospodarki, pojawiły się także w rolnictwie, powodując w nim znaczące zmiany w technologii uprawy roślin. Nanotechnologia jest inteligentnym sposobem wytwarzania żywności. Pozwala ona dostarczyć roślinom w kontrolowany sposób nawozy, czy też pestycydy w odpowiednim czasie i ilości. Prowadzi to do wzrostu efektywności produkcji, a jednocześnie chroni środowisko przed skażeniem. Stosowanie nanonawozów jest więc nowoczesną metodą nawożenia roślin. Ważne jest zatem poznanie ich wpływu na funkcjonowanie roślin, w tym na przebieg fotosyntezy i na ich wydajność. Celowym jest również zbadanie, jaka dawka nano żelaza będzie najskuteczniejsza w nawożeniu rzepaku. Podjęty przez Autorkę temat uważam więc za bardzo ważny i innowacyjny, zarówno z punktu widzenia naukowego jak i praktycznego. Dotyczy on wpływu nalistnego stosowania różnych dawek nanocząstek żelaza na parametry wymiany gazowej oraz wzrost części nadziemnych i korzeni roślin rzepaku w początkowym etapie jego wzrostu i rozwoju. Także wybór do badań roślin rzepaku jest w pełni uzasadniony. Jest to bowiem w

strefie klimatu umiarkowanego najważniejsza roślina oleista, dostarczająca oleju mającego zastosowanie zarówno w żywieniu ludzi, jak i w przemyśle.

## **2. Struktura pracy**

Przedłożona do oceny praca jest obszerna, obejmuje bowiem 182 strony, zebrane w formie książkowej. Układ pracy jest standardowy dla tego typu opracowań. Podzielona ona została na 7 rozdziałów (Wstęp, Przegląd literatury, Metodyka badań, Wyniki badań, Dyskusja o wynikach, Wnioski, Spis literatury, Streszczenie), w ramach których wyodrębniono podrozdziały. Struktura pracy przedstawia się następująco: Wstęp – 2 strony (1,2%), Przegląd literatury – 30 stron (17,3%), Metodyka badań – 17 stron (9,8%), Wyniki badań – 63 strony (36,4%), Dyskusja o wynikach – 22 strony (12,7%), Wnioski – 2 strony (1,2%), Spis literatury – 29 stron (16,8%), Streszczenie w języku polskim i angielskim – 4 strony (2,3%).

## **3. Merytoryczna ocena pracy**

### **3.1. Wstęp**

Dobrze wprowadza w tematykę pracy oraz uzasadnia sens i ważność podjętej tematyki. Kończy się on poprawnie sformułowanym celem pracy oraz trafnie postawioną hipotezą badawczą, zebraną w 4 punktach.

### **3.2. Przegląd literatury**

Autorka z dużym znawstwem podjętej tematyki, w oparciu o dostępną literaturę naukową, składającą się w przeważającej większości z prac indeksowanych w bazach światowych, szczegółowo naświetla zagadnienia związane z tematem pracy. Zawarte w niniejszym rozdziale informacje dotyczą znaczenia gospodarczego rzepaku, jego potrzeb pokarmowych, roli makro i mikroelementów we wzroście roślin, roli żelaza w roślinach i organizmie ludzi, fotosyntezy, wskaźników wzrostu roślin oraz nanotechnologii i nanonauki. W mojej opinii rozdział ten napisany jest dobrze. Bez szkody dla wartości merytorycznej pracy usunęłam bym jednak z niego informacje dotyczące roli makroelementów we wzroście i rozwoju roślin (treści tam zawarte zajmują 10 stron i nie są związane z tematem pracy) oraz roli żelaza w organizmie ludzi (to nie jest przedmiot badań), a informacje dotyczące mikroelementów znacznie bym skróciła. Proponuję również, aby z rozdziału tego fragment dotyczący badanych wskaźników wzrostu i rozwoju roślin przenieść do rozdziału „Metodyka badań”. Unikałabym też takich określeń jak: „Najintensywniejszą uprawę rzepaku (...)” (str 11, 4 wiersz od dołu). Intensywność uprawy dotyczy poziomu zastosowanego czynnika agrotechnicznego (np. nawożenia) a nie powierzchni; sformułowanie „wielkie znaczenie” proponuje zastąpić „duże znaczenie” (str 13, 5 wiersz od góry). Należy także poprawić styl zdania na stronie 32 w wierszu 21 oraz nie powoływać się na publikacje starsze – sprzed 2000 roku, (chyba, że jest to konieczne).

### 3.3. Metodyka badań

Zaprezentowane w pracy wyniki Autorka uzyskała w latach 2014-2017 w wyniku przeprowadzenia 3 serii doświadczeń (laboratoryjnych i wazonowych), zrealizowanych w Laboratorium Analiz Biofizycznych Roślin i w szklarni w Politechnice Bydgoskiej. Oparte one zostały o 3 serie doświadczeń. Doświadczenie serii I przeprowadzone było jako ściśle laboratoryjne, jednoczynnikowe w kulturach *in vitro* na eksplantatach rzepaku jarego, doświadczenie serii II – jako ściśle, wazonowe, 3 czynnikowe, w perlicie na roślinach rzepaku jarego i doświadczenie serii III – jako ściśle, wazonowe, jednoczynnikowe, w ziemi ogrodniczo-uprawnej na roślinach rzepaku jarego i ozimego.

W rozdziale tym Autorka pracy dokładnie opisuje eksperymenty, wraz z wyszczególnieniem i opisem badań szczegółowych. Uwagę zwraca zastosowanie nowoczesnej aparatury służącej zarówno do przeprowadzania doświadczeń (komora klimatyczna, nowoczesna zautomatyzowana szklarnia) jak i aparatury pomiarowej, za pomocą której wykonano szczegółowe badania liściowej wymiany gazowej, fluorescencji, zawartości chlorofilu, czy też systemu analiz obrazu w połączeniu ze skanerem (za pomocą których przeprowadzono pomiary cech morfologicznych korzeni). Należy nadmienić, że parametry korzeni są bardzo rzadko badane w eksperymentach rolniczych (z uwagi na trudność, pracochłonność, a przede wszystkim brak stosownej aparatury). Zastosowanie nowoczesnego sprzętu było gwarancją uzyskania dokładnych, a w związku z czym wiarygodnych wyników. Uwagę zwraca również bardzo szeroki (wręcz imponujący) zakres przeprowadzonych badań szczegółowych, począwszy od pomiarów parametrów fotosyntezy (przewodność szparkowa, międzykomórkowe CO<sub>2</sub>, asymilacja, transpiracja, wskaźniki wykorzystania wody w procesie fotosyntezy), fluorescencji chlorofilu, cech liści (powierzchnia, masa, zawartość chlorofilu, Fe i Mg), wskaźników wzrostu (NAR, RGR, SLA, LWR, LAR) oraz parametrów korzeni (Len, SA, PA, Vol, AVgD, Ntips, NForksa, NCross). Tak szczegółowe pomiary pozwoliły na zgromadzenie bardzo bogatego materiału dowodowego, który stanowił rzetelne podstawy do odpowiedzi na postawiony cel pracy i weryfikację hipotez badawczych. Wyniki poddano analizie statystycznej (analiza wariancji, korelacji, regresji wielokrotnej), co pozwoliło na poprawne wnioskowanie o uzyskanych rezultatach badań. Drobne uwagi które się nasuwają po analizie niniejszego rozdziału są następujące: 1) wyjaśnienia wymaga (opisowo, bądź poprzez powołanie się na literaturę) wagowy sposób mierzenia powierzchni liści (jest to metoda pośrednia i niezbyt często stosowana w tego rodzaju pomiarach); 2) opisując pomiary wymiany gazowej nie napisano ile liści analizowano; 3) stężenie międzykomórkowego CO<sub>2</sub> na stronie 53 podano w ppm, a w opisie wyników jest jednostka  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ; 4) proponuję, aby (bez

szkody dla walorów pracy) usunąć z tego rozdziału treści dotyczące faz rozwojowych rzepaku (są to informacje ogólnie dostępne); 5) wzory dotyczące wskaźników wzrostu liści wraz z ich opisem proponuję przenieść z rozdziału „Przegląd piśmiennictwa” i zamieścić w tym rozdziale (wspomniano o tym wcześniej).

### 3.4. Wyniki badań

Jest to najważniejszy rozdział pracy. Generalnie jest on napisany dobrze. Wyniki uzyskane w trakcie realizacji serii doświadczeń (*in vitro* i wazonowych) zostały przedstawione na przejrzystych i czytelnych 46 rysunkach i w 26 tabelach i w sposób nie budzący zastrzeżeń opisane. Podział tego rozdziału na podrozdziały sprawia, że zawarte w nim treści są uporządkowane i łącznie tworzą jedną, logiczną, zwartą całość. Opisu uzyskanych wyników Autorka dokonała w oparciu o prawidłowo przeprowadzoną analizę statystyczną. Należy nadmienić, że z uwagi na obfitość uzyskanych danych liczbowych, złożoność przeprowadzonych badań, dodatkowo wykonanych w różnych fazach rozwojowych rzepaku i przy zastosowaniu różnych dawek nanoFe ich opis nie był sprawą łatwą. Jednakże Autorka poradziła sobie z tym bardzo dobrze. Na szczególne podkreślenie zasługuje przedstawienie na rysunkach 32, 33 i 34 modeli regresji wielokrotnej, które wskazują na istotną zależność między powierzchnią korzeni a innymi badanymi parametrami korzeni. Interesujące wyniki otrzymano także na temat wpływu nanocząstek żelaza na intensywność procesu fotosyntezy.

Uwagi dotyczące tego rozdziału są następujące. 1) Zarówno pod rysunkami jak i pod tabelami brak jest wyjaśnienia, co oznaczają znajdujące się przy liczbach litery a, b, c... 2) Na rys. 5 (str 63, faza F1) na osi x brakuje dawki nanoFe 500 ppm. 3) Dlaczego na rys. 7 (str. 65) brakuje faz F1 i F3? 4) Na stronie 77 w drugim wierszu od góry powinno być dopisane „500 ppm”. Nie należy stosować określenia „rośliny kontrolne” (np. str. 78, 4 wiersz od dołu). 5) Zamiast „liście” używać poprawnej nazwy „blaszki liściowe”. (np. tabela 8 i 20). 6) Należy wyjaśnić, co w tabeli 21 oznaczają symbole „F<sub>A</sub>” i F<sub>B</sub>”. 7) Trzeba zachować dużą ostrożność w interpretacji danych zamieszczonych na rysunkach 40 i 41, z uwagi na to, że rozrzut uzyskanych wyników był bardzo duży. 8) Należy pisać tylko o istotnych różnicach (pominąć tendencje). Tendencje należy skwitować jednym zdaniem: „Nie było istotnych różnic (...)”.

### 3.5. Dyskusja

Bardzo obszerna, 22 stronicowa Dyskusja przeprowadzona została profesjonalnie, z dużym znawstwem tematyki, w oparciu o wyniki własne i liczne, prawidłowo dobrane pozycje piśmiennictwa naukowego. W moim odczuciu jest to najlepszy rozdział pracy. Autorka uzyskane wyniki konfrontuje z najnowszymi (światowymi) pozycjami piśmiennictwa naukowego. Nie tylko stwierdza ich zgodność (czy też brak zgodności) z pracami innych

autorów, ale podejmuje próbę wyjaśnienia przyczyn otrzymanych efektów. Godnym podkreślenia jest to, że dyskusję wyników Autorka prowadzi w sposób obiektywny, akcentując nie tylko pozytywne skutki wynikające ze stosowania nanocząstek Fe, ale wskazując również na zagrożenia wynikające z ich stosowania dla roślin i środowiska. Stąd też niezmiernie ważna jest dawka stosowanego nanoFe oraz odpowiedni etap jego aplikacji dolistnej, co Autorka podkreśla w tym rozdziale. Drobne uwagi dotyczące tego rozdziału są tylko natury formalnej. Na stronie 131 powinno być odwrotnie: liść 1 – najstarszy, liść 3 – najmłodszy (tak jest w pracy). Należy też poprawić styl zdania zamieszczonego na stronie 139 w 14 wierszu.

### **3.6. Wnioski**

Wnioski, w liczbie 12 sformułowane są poprawnie i stanowią odpowiedź na cel pracy.

### **3.7. Spis literatury**

Spis literatury jest bardzo obszerny. Zawiera on aż 393 pozycje piśmiennictwa oraz 18 adresów stron internetowych. Jestem zdania, że bez szkody dla walorów rozprawy można usunąć z niego pozycje starsze, wydane przed 2000 rokiem (o czym pisałam wcześniej) oraz pozycje książkowe i popularnonaukowe.

### **3.8. Stwierdzenia końcowe**

Wyżej wymienione uwagi nie podważają wartości merytorycznej pracy, którą uważam za dużą. Wszystkie poczynione przeze mnie uwagi są natury formalnej. Abstrahując od nich, z całym przekonaniem stwierdzam, że przedłożona do oceny praca jest bardzo wartościowa i nowatorska.

Najważniejszymi oryginalnymi osiągnięciami naukowymi, które Autorka uzyskała w wyniku realizacji niniejszej pracy, wg mnie są:

- Wykazanie, że wpływ nanoFe na przebieg procesów fizjologicznych oraz wzrost i rozwój rzepaku zależy od wielkości jego dawki oraz od etapu rozwoju rzepaku.
- Fotosynteza najsprawniej przebiega przy dawkach nanoFe 25 i 50 ppm, a dawka wynosząca 500 ppm powoduje upośledzenie tego procesu.
- Efekt nanoFe wzmocniony jest stosowaniem mikroelementów.
- Każda dawka nanoFe (niezależnie od etapu rozwojowego) obniża wielkość fluorescencji początkowej.
- Nanocząstki żelaza wpływają korzystnie na parametry liści rzepaku.
- Dla rzepaku najlepszą dawką nanoFe w początkowym okresie rozwoju jest stosowanie jej w ilości 25 ppm, a w późniejszych etapach wzrostu wegetatywnego w ilości 50 ppm.

## Podsumowanie

Na podstawie przedłożonej do oceny rozprawy stwierdzam, że Autorka wykazała się rozległą, specjalistyczną wiedzą, bardzo dobrą znajomością światowego piśmiennictwa naukowego i metod badawczych, poprawną interpretacją wyników i ich dyskusją. Uważam podjęty temat za niezwykle ważny, wartościowy i ciekawy. Wnosi on wiele cennych, nowych informacji dla nauki i w całości mieści się w dziedzinie nauk rolniczych i dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Na podkreślenie zasługuje bardzo staranne przygotowanie pracy pod względem edytorskim. Praca jest przejrzysta, poprawna stylistycznie i łatwa w odbiorze.

## Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Nowak pt. „Efekty różnych aplikacji nanocząstek żelaza na rośliny rzepaku (*Brassica napus* var. *oleifera*) we wczesnych fazach wzrostowo-rozwojowych” została napisana w oparciu o bogaty materiał dowodowy i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Autorka pracy zaprezentowała umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa doktorska spełnia tym samym warunki określone w rozdziale 2, art. 14 ust. 5. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2015 r., poz. 249). Składam więc wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo w Politechnice Bydgoskiej o dopuszczenie mgr inż. Agnieszki Nowak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Olsztyn, 14.07.2023 r.

prof. dr hab. Maria Wanic

