



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
ul. Wojska Polskiego 71f  
60-625 Poznań  
tel. +48 61 848 77 94  
e-mail: renata.gaj@up.poznan.pl

WYDZIAŁ ROLNICTWA  
I BIOINŻYNIERII

Katedra Chemii Rolnej i Biogeochemii Środowiska

Prof. dr hab. inż. Renata Gaj

Poznań, 18 lipca 2023 r.

### Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Nowak  
promotor: Prof. dr hab. inż. Anna Wenda-Piesik

Rozprawa doktorska pt. **Efekty różnych aplikacji nanocząsteczek żelaza na rośliny rzepaku (*Brassica napus var. oleifera*) we wczesnych fazach wzrostowo-rozwojowych** została wykonana na Politechnice Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich, Wydział Biotechnologii i Rolnictwa

### Podstawa opracowania

Recenzja została przygotowana w odpowiedzi na pismo WBiR.530.8.2016.12.2023 z dnia 23 czerwca 2023r. skierowane przez Przewodniczącą Rady Naukowej Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich Pana Prof. dr hab. inż. Mirosława Kobierskiego

### Ocena zasadności podjęcia tematu

Z punktu widzenia produkcji roślinnej najważniejszą funkcją żelaza jest udział tego składnika w procesie fotosyntezy. Ponadto pierwiastek ten jest składnikiem wielu enzymów (oksydazy cytochromowej, katalazy, peroksydazy, leghemoglobiny), które uczestniczą w procesach metabolicznych w roślinie. Zawartość głównych kationów (żelazo, mangan, cynk, miedź) w roztworze glebowym jest niska i z reguły niedostateczna w stosunku do potrzeb roślin uprawnych. Przyjmuje się generalnie, że zawartość krytyczna mikroskładników dla zapewnienia roślinom prawidłowego wzrostu powinna kształtować się co najmniej w zakresie  $10^{-8}$  -  $10^{-9}$  mol  $\cdot$  l $^{-1}$ , zwłaszcza w odniesieniu do żelaza i miedzi. Rośliny, pomimo niskiej dostępności mikroskładników w roztworze glebowym oraz silnej konkurencji o nośnik z kationami makroskładników, wytworzyły specyficzne mechanizmy pobierania. Podstawowym czynnikiem ograniczającym odżywianie roślin żelazem jest odczyn gleby. Niska efektywność wykorzystania żelaza oraz innych mikroelementów aplikowanych doglebowo skłania do



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
ul. Wojska Polskiego 71f  
60-625 Poznań  
tel. +48 61 848 77 94  
e-mail: rena.ta.gaj@up.poznan.pl

poszukiwania alternatywnych innowacyjnych rozwiązań z wykorzystaniem nanotechnologii. Innowacja w nawozach dolistnych polegająca na zastosowaniu tzw. „nanonawozów” polega na możliwości otrzymywania i zastosowania struktur, których jednostką naturalną jest nanometr, czyli  $10^{-9}$  metra. Z uwagi na nanorozmiary, uzyskujemy większą powierzchnię czynną, co oznacza bardzo szybką ich absorpcję przez przestrzenie międzykutykularne, przetchlinki i aparaty szparkowe. Bardzo małe rozmiary umożliwiają szybkie przemieszczanie się nanocząsteczek po całej roślinie. Aktualnie liczba praktycznych zastosowań nanocząsteczek wzrasta bardzo szybko, a z drugiej strony pojawiają się również rozbieżne informacje dotyczące bezpieczeństwa ich stosowania. Należy mieć na uwadze fakt, że stosowanie nanocząsteczek żelaza w rolnictwie wiąże się również z pewnym ryzykiem i potencjalnymi skutkami ubocznymi, takimi jak toksyczność dla roślin i organizmów glebowych. Dlatego istotne jest prowadzenie badań koncentrujących się opracowaniu optymalnego stężenia żelaza stosowanego w formie nanocząsteczek i fazy rozwojowej rośliny, w której efektywność wprowadzonego nanonawozu jest największa.

Mając na uwadze powyższe, uważam za w pełni zasadne podjęte przez Doktorantkę badania dotyczące innowacji produktowej, polegające na wykorzystaniu nanocząsteczek żelaza w produkcji rzepaku, w konfrontacji do aplikacji tego składnika w formie chelatu EDTA.

### **Formalna ocena pracy**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Nowak ma charakter monografii opracowanej na bazie wyników badań własnych. Praca obejmuje 182 numerowane strony maszynopisu, 26 tabel, 46 rycin oraz 18 fotografii. Zasadnicza treść opracowania została przedstawiona w 6 rozdziałach: 1. Wstęp, 2. Przegląd literatury, 3. Metodyka badań, 4. Wyniki badań 5. Dyskusja; 6. Wnioski. W bibliografii zamieszczono 393 pozycje literaturowe obejmujących oryginalne prace twórcze, monografie, podręczniki, prace konferencyjne oraz 18 linków odwołujących się do stron internetowych. Spośród cytowanej literatury 80% stanowią pozycje anglojęzyczne. Dobór cytowanych prac do poruszanych aspektów merytorycznych uznaję za odpowiedni i poprawny. Praca doktorska napisana jest w sposób jasny i zwięzły, chociaż zdarzają się nieliczne błędy stylistyczne i językowe, które zaznaczyłam na marginesie przedłożonej pracy.

### **Merytoryczna ocena pracy**



### **Wstęp i cel badań**

Istotą podejmowanych badań naukowych jest umiejętność trafnego wyboru problemu badawczego, który doktorantka formułuje na podstawie stanu wiedzy w zakresie interesującej problematyki badawczej, wiedzy własnej, a zwłaszcza umiejętności stawiania pytań. Mając na uwadze powyższe Pani mgr Agnieszka Nowak sformułowała hipotezę badawczą, pytania badawcze oraz cel pracy. Główny problem badawczy podjęty przez Doktorantkę rozprawy sprowadza się do oceny zastosowanych nanocząsteczek żelaza na wzrost i rozwój rzepaku ozimego we wczesnych fazach rozwojowych. Doktorantka prawidłowo określiła również cele cząstkowe, koncentrujące się na wpływie żelaza na procesy fizjologiczne w roślinie takie jak asymilacja, transpiracja przewodnictwo szparkowe oraz zmiany morfologiczne liści i systemu korzeniowego.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska zawiera wszystkie wymagane elementy, które z formalnego punktu widzenia powinny być uwzględnione w rozprawie doktorskiej, w tym; wstęp, przegląd literatury, cel pracy i hipoteza (-y) badawcze, materiał i metody, wyniki badań, dyskusja z literaturą oraz wnioski.

### **Przegląd literatury**

Rozdział „Przegląd literatury” został przygotowany w sposób obszerny i wyczerpujący potrzebę merytorycznego uzasadnienia podjętej tematyki pracy. Rozdział pracy został zamieszczony na 31 stronach, w których Doktorantka przedstawiła charakterystykę biologiczną rzepaku, potrzeby pokarmowe i nawozowe tej rośliny, charakterystykę makro i mikroelementów oraz procesy fizjologiczne zachodzące w roślinie pod wpływem określonego składnika. Większość rozdziału została zdominowana przez przegląd literatury, koncentrujący się na funkcjach podstawowych makroskładników oraz dokumentacji fotograficznej związanej z ich niedoborami. W moim przekonaniu Doktorantka zbyt szczegółowo, wręcz drobiazgowo skupiła się na omawianiu roli poszczególnych składników, co uważam za zbędną część przedłożonej do oceny pracy. Przegląd literatury powinien bowiem koncentrować się głównie na nanocząsteczkach żelazach oraz mikroelementach, ze szczególnym wyjaśnieniem roli żelaza wprowadzanego w formie nanocząsteczek. Postuluję, aby przy kolejnych opracowaniach Doktorantka formułowała znacznie krótsze zdania, co ułatwi czytelnikowi zrozumienie przekazywanych treści. Sugeruję, również zwrócić uwagę na używaną terminologię dotyczącą pojęć opisujących określone procesy w glebie, a mianowicie pojęcie rozpuszczalności, dostępności i przyswajalności, które nie zawsze są prawidłowo interpretowane przez Doktorantkę, co w rezultacie czyni pewne fragmenty opracowania nie do końca zrozumiałe dla



czytelnika (np. str. 40). Zwracam uwagę, aby wymienionych pojęć nie stosować alternatywnie. W naturalnych warunkach stężenie większości składników mineralnych w roztworze glebowym jest niewystarczające do pokrycia potrzeb pokarmowych szybko- i średnio-rosnących roślin rzepaku we wczesnych fazach rozwoju i ilość składnika musi być uzupełniana z fazy stałej gleby. W trakcie obrony pracy będę oczekiwała od Doktorantki zdefiniowania pojęć dostępności i przyswajalności składnika.

Autorka pracy doktorskiej **Pani mgr inż. Agnieszka Nowak** podjęła się zagadnienia wpływu nanocząsteczek żelaza na rośliny rzepaku we wczesnych jego fazach wzrostowo-rozwojowych. Temat rozprawy odpowiada całości pracy, aczkolwiek zawężenie czasowe w temacie pracy do wczesnych faz rozwojowych może być przyczyną do szerszej dyskusji naukowej, jednak jego zasadność Doktorantka dobrze dokumentuje w rozdziale pracy „Przegląd literatury”.

### **Metodyka badań**

W celu uzyskania odpowiedzi na sformułowany cel pracy: określenie wpływu żelaza na procesy fizjologiczne w roślinie oraz dynamikę wzrostu korzeni i części nadziemnych rzepaku we wczesnych fazach wzrostowo-rozwojowych w zależności od techniki aplikacji i dawki nanoFe - Doktorantka wykonała 3 serie doświadczeń. Pierwsza seria badań eksperymentalnych została przeprowadzona w kulturach *in-vitro* (żelazo dodawano do pożywki), kolejna obejmowała doświadczenia wazonowe w perlicie, natomiast trzecią serię stanowiły doświadczenia wazonowe w ziemi ogrodniczo-uprawnej. Testowaną rośliną był rzepak jary odmiany Feliks oraz dodatkowo w trzeciej serii rzepak ozimy (odmiana populacyjna Chagall). W zależności od serii badań, doświadczenia przeprowadzono w układzie jednoczynnikowym lub trzyczynnikowym. W przypadku doświadczenia trzyczynnikowego analizie poddano formy żelaza tj. żelazo w formie chelatu EDTA-Fe oraz nanocząsteczki Fe w 3 stężeniach. Drugim czynnikiem doświadczalnym był termin stosowania mikroelementów, natomiast trzeci czynnik stanowiła faza rozwojowa rzepaku, w której dokonywano zaplanowanych pomiarów. W trakcie prowadzenia badań Doktorantka przeprowadziła szereg pomiarów związanych z procesami fizjologicznymi roślin, zawartością chlorofilu oraz oceną wskaźników obejmujących budowę morfologiczną liści (długość i szerokość blaszki liściowej, długość ogonków liściowych) i systemu korzeniowego.

Z obowiązku recenzenta muszę wskazać na uchybienia metodyczne pracy, a mianowicie: dlaczego w przypadku trzeciej serii doświadczeń z rzepakiem w układzie doświadczalnym została pominięta aplikacja żelaza w formie chelatu Fe i dodatkowo wprowadzono do testu rzepak ozimy? Sugeruję, aby przy przygotowywaniu materiału do publikacji, przeredagować



metodykę badań i uzupełnić brakujące treści. Brak uporządkowania informacji wskazujących na kolejności działań w metodyce badań sprawia, że czytający ma problem ze zrozumieniem, które wskaźniki były analizowane w poszczególnych doświadczeniach.

Kolejne pytanie dotyczy pomiarów: czy pomiary dotyczące procesów fizjologicznych w roślinach oraz analiza morfologiczna systemu korzeniowego zostały przeprowadzone we wszystkich seriach doświadczeń?

Doktorantka wskazała, że analizy chemiczne materiału roślinnego obejmowały zawartość dwóch składników tj, żelaza i magnezu. Dlaczego ocenę składu chemicznego roślin zawężono tylko do dwóch pierwiastków, skoro mikroelementy stanowiły jeden z czynników doświadczalnych i były aplikowane w dwóch terminach? Poszerzona analiza składu chemicznego roślin, szczególnie dokonana w fazie intensywnego wzrostu rzepaku wzbogaciłaby znacznie pracę i ułatwiła wyjaśnienie reakcji roślin na zastosowane czynniki doświadczone, a w rezultacie także końcowe wnioski.

Dlaczego nie wyznaczono pobrania żelaza i magnezu, skoro Doktorantka dysponowała zawartością tych składników i suchą masą roślin?

Na stronie 57 Autorka wymienia analizowane parametry systemu korzeniowego roślin odwołując się do lnu, a testowaną rośliną był rzepak. Ponadto Doktorantka wymienia również len na innych stronach (83, 84 i 92 str.) w rozdziale dotyczącym opisu wyników badań, stąd nasuwa mi się pytanie: czy len był traktowany jako roślina porównawcza?

Sugeruję, aby wszelkie dodatkowe informacje np. dotyczące faz rozwojowych rzepaku były zamieszczane jak materiały uzupełniające w aneksie pracy. W metodyce badań należy tylko zamieścić informację według jakiej skali dokonywano kolejnych pomiarów roślin.

### **Wyniki badań**

Kolejną częścią rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Nowak jest część badawcza. W rozdziale wyniki badań przedstawiono rezultaty z przeprowadzonych trzech serii eksperymentów, w których testowaną rośliną był w każdym przypadku rzepak. W sposób obszerny Doktorantka dokonała bardzo wnikliwej analizy wpływu nanocząsteczek żelaza na parametry i procesy w roślinie, w których kluczową rolę odgrywa żelazo. Szczegółowo zostały przeanalizowane parametry fluorescencji chlorofilu, sprawności fotochemicznej układu PSII poprzez ocenę biometryczną blaszki liściowej, długość ogonka liściowego oraz wybrane parametry systemu korzeniowego roślin. Rezultaty badań zostały poprawnie opracowane statystycznie i zestawione w tabelach, na rycinach oraz dodatkowo uzupełnione dokumentacją fotograficzną. Rozdział wyników badań został przygotowany poprawnie, dzięki dużej wiedzy



teoretycznej Doktorantki oraz właściwie dobranym i wykorzystanym narzędziom statystycznym. Pani magister wykazała się nie tylko wiedzą teoretyczną w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, ale również umiejętnością prowadzenia badań laboratoryjnych i dużym doświadczeniem w interpretacji uzyskanych wyników, co przy tak dużej ilości zgromadzonych danych nie jest łatwym zadaniem. Trudnością w zrozumieniu tego rozdziału pracy dla recenzenta jest ogromna ilość skrótów stosowanych przez Doktorantkę zarówno w tekście jak i w tabelach oraz na rycinach, co zmusza czytającego do powracania do metodyki badań, w której zamieszczono pełne nazwy. Sugeruje, aby Doktorantka pod tabelami i rycinami dodatkowo zamieściła objaśnienia symboli szczególnie, gdy skróty nie odnoszą się do jednostek zunifikowanych. Nie ma potrzeby zaznaczania pod każdą tabelą, iż wyniki opracowano na podstawie badań własnych, gdyż wystarczy w metodyce zamieścić informację, wskazującą, że wszystkie przedstawione wyniki pochodzą z przeprowadzonych eksperymentów. Opisuując wyniki badań warto również stosować zamiennie słownictwo, aby uatrakcyjnić całość tekstu pod względem barwności językowej.

### Dyskusja

Dyskusja wyników została przeprowadzona bardzo dobrze i przekonująco. Pani magister Agnieszka Nowak dokonała pogłębionej analizy wyników badań własnych z najnowszymi doniesieniami naukowymi. W mojej opinii część literaturowa jest przejrzysta, zawiera najistotniejsze informacje związane z analizowanym tematem pracy. Ich zestawienie utwierdza czytelnika w przekonaniu, że Doktorantka potrafi krytycznie analizować literaturę przedmiotu i dobierać te informacje, które są istotne z punktu widzenia uzyskanych wyników. Minusem tej części pracy, analogicznie jak przy opisie wyników jest używanie nadmiernej ilości skrótów, co czyni w wielu miejscach tekst niezrozumiały dla czytelnika.

Proponuję także zmianę nazwy rozdziału, który poprawnie powinien brzmieć jako Dyskusja, a nie "dyskusja o wynikach".

### Wnioski

Wnioski winny być odpowiedzią na postawione cele badań i ujęte w zwięzłej formie, **bez potrzeby szczegółowego wnikania w opisy wyników**. Przyjmując obecną formę, proponuję zmianę wniosków na: Stwierdzenia i wnioski

1. Większość wniosków wymaga przereformowania. Należy jasno wskazać, jaki poziom/dawka nanożelaza i przy jakim sposobie aplikacji (dolistna, bezpośrednio do podłoża) był optymalny i gwarantował uzyskanie największych wartości analizowanych parametrów.



2. Sugeruję, aby odnieść się do następujących kwestii i przereklamować wnioski według poniższych uwag:
  - a. wskazać różnice pomiędzy analizowanymi parametrami w odpowiedzi na zastosowaną formę żelaza w postaci Fe-EDTA i zróżnicowany poziom dawek Fe w formie nanożelaza.
  - b. odnieść się do czynnika doświadczalnego jakim był termin nawożenia mikroelementami;
  - c. na podstawie przeprowadzonych trzech serii doświadczeń wskazać, w jakiej fazie rozwojowej i w jakiej dawce należy stosować nanożelazo? na podstawie przeprowadzonych badań podać rekomendację do praktyki rolniczej,;
  - d. Wniosek 10. – proszę konkretnie wskazać jakie parametry morfologiczne systemu korzeniowego i w jakiej fazie rozwojowej rzepaku w największym stopniu odzwierciedlały reakcję rzepaku na zastosowane czynniki doświadczalne.

#### **Wniosek końcowy**

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny doktorska mgr inż. **Agnieszki Nowak pt. „Efekty różnych aplikacji nanocząsteczek żelaza na rośliny rzepaku (*Brassica napus var. oleifera*) we wczesnych fazach wzrostowo-rozwojowych** spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w myśl art. 13 p. 1 „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. Ustaw RP nr 65 poz. 595, z późn. zm.) i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Nowak zawiera wiele nowych i interesujących wyników, szczególnie istotnych z punktu widzenia praktyki rolniczej. Temat rozprawy uważam za ważny zarówno z poznawczego jak i aplikacyjnego punktu widzenia, a uzyskane wyniki za interesujące. Doktorantka wykazała się dociekliwością w interpretacji ogromnej ilości wyników, jak również dużą umiejętnością w zakresie wykonywanych prac laboratoryjnych i obsługi sprzętu wykorzystywanego do pomiarów analizowanych wskaźników. W moim przekonaniu podjęta problematyka badawcza przez Panią mgr inż. Agnieszkę Nowak stanowi ważny wkład w rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo i przedstawia oryginalne rozwiązanie dla praktyki rolniczej. Rozprawa jest spójna, przemyślana pod względem eksperymentalnym, zawiera nowe i istotne wyniki. Pragnę podkreślić także ogromny nakład pracy Doktorantki włożony w wykonanie żmudnych pomiarów biometrycznych liści i korzeni rzepaku, a w kolejnym etapie ich opracowanie. Bardzo



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
ul. Wojska Polskiego 71f  
60 625 Poznań  
tel. +48 61 848 77 94  
e-mail: renata.gaj@up.poznan.pl

pozytywnie oceniam estetyczną szatę graficzną wydania oraz staranność z jaką został przygotowany manuskrypt pracy.

Popelnione błędy czy niedociągnięcia nie dyskwalifikują przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej. W związku z powyższym, kieruję wniosek formalny do Rady Dyscypliny Politechniki Bydgoskiej o dopuszczenie mgr inż. **Agnieszki Nowak** do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.