

dr hab. inż. Anna Nogalska, prof UWM  
Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej  
Wydział Rolnictwa i Leśnictwa  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Olsztyn, dnia 18 marca 2022 r.

### **Recenzja**

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Aleksandry Radawiec**

**pt. „Biofortyfikacja agrotechniczna jako metoda zwiększania zawartości selenu w ziarnie  
pszenicy jarej – *Triticum aestivum* L.”**

wykonana w Samodzielnym Zakładzie Chemii Rolniczej i Środowiskowej,  
Instytutu Rolnictwa, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego

Recenzja została wykonana w odpowiedzi na pismo Pana dr hab. Łukasza Uzarowicza, prof. SGGW Przewodniczącego Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo z dnia 14 lutego 2022 roku, w którym decyzją Rady Dyscypliny powołano mnie na recenzentkę rozprawy doktorskiej mgr inż. Aleksandry Radawiec wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Wiesława Szulca.

Obserwowany od wielu lat niedobór selenu (Se) w diecie ludzi jest wypadkową zmian zachodzących w środowisku naturalnym, tj. zmniejszenia emisji ze źródeł antropogenicznych oraz wyczerpywania jego naturalnych zasobów glebowych. Ponad 1 miliard ludności na świecie cierpi na jego niedobór. Zawartość Se w glebach świata jest bardzo zróżnicowana. W niektórych krajach, np. w Chinach i Brazylii występuje zarówno niedobór ( $<0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ ), jak i wysoka zawartość Se w glebie ( $>0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Wysokie stężenie Se w glebach nawet do  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  obserwuje się w Stanach Zjednoczonych, Irlandii i Indiach. Gleby ubogie w ten mikrośkładnik występują w Nowej Zelandii i Filipinach. Również w Polsce gleby charakteryzują się niską zawartością Se, średnio  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ . Największe ilości Se ( $0,38\text{-}0,64 \text{ mg kg}^{-1}$ ) występują w glebach wytworzonych z glin ciężkich i iłów, a najmniejsze w glebach powstałych z piasków luźnych i słabo gliniastych ( $0,04\text{-}0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ ), których w Polsce mamy najwięcej. Zawartość Se w roślinach jest odzwierciedleniem jego zawartości w glebie oraz jego dostępności. Dostępność jest z kolei zależna od ilości i rodzaju związków Se w glebie, odczynu gleby i zawartości związków antagonistycznych do Se, gatunku rośliny i warunków klimatycznych. Dotychczasowy stan wiedzy nie pozwala stwierdzić, czy Se jest niezbędny dla rozwoju roślin wyższych, jednakże wielu badaczy uważa, że jego śladowe ilości, które zapewniają jego rozproszenie w skorupie ziemskiej i współwystępowanie z siarką

(S), mogą pełnić znaczącą rolę w ich rozwoju. Jest on chemicznym analogiem S, dlatego pobieranie selenianów (VI) zachodzi tym samym szlakiem co siarczanów (VI).

W ostatnich dziesięcioleciach postrzeganie znaczenia Se dla organizmów żywych uległo zmianie. Mniej mówi się o jego działaniu toksycznym, a więcej o jego istotnej i niezaprzeczalnej roli dla ludzi i zwierząt. Selen wchodzi w skład ponad 30 białek zwanych selenoproteinami, które pełnią wiele funkcji, m.in.: zapobiegają uszkodzeniom komórek przez wolne rodniki, uczestniczą w metabolizmie hormonów tarczycy, warunkują prawidłowy przebieg funkcji rozrodczych. Wykazuje on działanie antyzapalne oraz stymuluje układ odpornościowy. Należy mieć na uwadze, że Se ma jeden z najwęższych zakresów pomiędzy niedoborem w diecie ( $>40 \mu\text{g}$  na dzień), a działaniem szkodliwym ( $<400 \mu\text{g}$  na dzień). Dobowe zapotrzebowanie dorosłego człowieka na Se wynosi  $50\text{-}70 \mu\text{g}$ , średnio  $1 \mu\text{g kg}^{-1}$  masy ciała. Zbyt niska zawartość Se w diecie, notowana od wielu lat, przyczyniła się do podjęcia prób zwiększenia jego zawartości w glebach i plonach, a w konsekwencji w końcowych ogniwach łańcucha troficznego u ludzi i zwierząt.

Ważnym źródłem Se są rośliny, dlatego istotne jest zwiększenie w nich poziomu tego pierwiastka różnymi sposobami, np. poprzez biofortyfikację agrotechniczną, inżynierię genetyczną oraz zastosowanie materiałów naturalnie bogatych w Se lub nanomateriałów. Jednym z najbardziej obiecujących jest biofortyfikacja, czyli zwiększanie jego stężenia w jadalnych częściach roślin uprawnych. Zwiększenie spożycia tego mikroelementu, jego biodostępności i akumulacji przez rośliny jadalne można osiągnąć poprzez nawożenie Se, dobór odmian roślin efektywniej akumulujących ten pierwiastek oraz nowoczesne technologie inżynierii genetycznej. Wszystkie rośliny posiadają zdolność do pobierania i gromadzenia Se. Rośliny różnią się jednak między sobą zakresem gromadzenia tego pierwiastka w tkankach. Rośliny silnie akumulujące Se mogą pobierać nawet do kilku  $\text{mg Se kg}^{-1}$  s.m., jednak te nie zaliczane do hiperakumulatorów, czyli większość roślin uprawnych, w tym zboża rzadko zawierają  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  s.m.

Pszenica jest jednym z najistotniejszych udomowionych przez człowieka zbóż i stanowi główne źródło Se w diecie mieszkańców większości krajów na świecie. Polska jest krajem, w którym przeważająca część spożywanych przez jej mieszkańców produktów spożywczych, zarówno pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego pochodzi z produkcji krajowej.

W związku z powyższym, podjęcie przez Panią mgr inż. Aleksandrę Radawiec badań dotyczących biofortyfikacji agrotechnicznej, w celu zwiększania zawartości Se w ziarnie pszenicy jarej uważam za aktualne, interesujące i uzasadnione. Przesłana mi do recenzji praca

ma formę opublikowanych artykułów naukowych, a nie typowego formatu obszernej rozprawy doktorskiej. Wiadomo, że forma ta wiąże się z dodatkowym procesem recenzji manuskryptów i często długim procesem wydawniczym, ale moim zdaniem pozytywnie świadczy o podejściu Doktorantki do pracy naukowej i o jakości przeprowadzonych badań.

Na rozprawę doktorską Pani mgr inż. Aleksandry Radawiec składają się cztery prace oryginalne powiązane ze sobą tematycznie, które wydano w 2021 roku:

1. Radawiec A., Szulc W., Rutkowska, B., 2021. Selenium Biofortification of Wheat as a Strategy to Improve Human Nutrition. *Agriculture*, 11(2): 144.  
IF = 2,925; 100 pkt. wg. MNiSW i MEiN
2. Radawiec A., Szulc W., Rutkowska, B., 2021. Agrotechnical Biofortification as a Method to Increase Selenium Content in Spring Wheat. *Agronomy*, 11(3): 541.  
IF = 3,417; 100 pkt. wg. MNiSW i MEiN
3. Radawiec A., Rutkowska B., Tidaback J. A., Gozdowski D., Knapowski T., Szulc W., 2021. The Impact of Selenium Fertilization on the Quality Characteristics of Spring Wheat. *Agronomy*, 11(11): 2100.  
IF = 3,417; 100 pkt. wg. MNiSW i MEiN
4. Radawiec A., Szulc W., Rutkowska, B., 2021. Effect of fertilization with selenium on the content of selected microelements in spring wheat. *Journal of Elementology*, 26(4): 1025-1036.  
IF = 0,949; 70 pkt. wg. MNiSW i MEiN

Prace te są wieloautorskie, w trzech występuje 3. a w jednej 6. autorów. Należy podkreślić, że **Doktorantka we wszystkich czterech artykułach jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym**. Prace są anglojęzyczne, opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych (*Agronomy*, *Agriculture* i *Journal of Elementology*) posiadających współczynnik wpływu Impact Factor (IF) o wartościach odpowiednio: 3,417; 2,929 i 0,949. Sumaryczny IF publikacji zgodnie z rokiem ich wydania wynoszący **10,708** – uważam za bardzo wysoki. Sumaryczna liczba punktów prac stanowiących rozprawę doktorską wg listy MNiSW wynosi aż **370 pkt.** (trzy prace po 100 pkt. i jedna 70 pkt.). Zgodnie z oświadczeniami współautorów **udział Doktorantki** we wszystkich publikacjach był przeważający i wynosił **od 75 do 80%**. Polegał on m.in. na: współtworzeniu koncepcji artykułu, prowadzeniu doświadczenia, pobraniu i przygotowaniu materiału badawczego, wykonaniu analiz chemicznych, przygotowaniu wyników, wykonaniu analiz statystycznych, przygotowaniu i poprawie artykułu.

Główną część pracy doktorskiej poprzedzono **listą spójnych tematycznie artykułów stanowiących rozprawę doktorską, streszczeniem** w języku polskim i w języku angielskim, a następnie siedmioma następującymi rozdziałami: **1. Wprowadzenie, cel pracy i hipoteza badawcza, 2. Przegląd literatury, 3. Materiał i metody, 4. Wyniki badań, 5. Wnioski, 6. Literatura, 7. Załączniki.** Cztery pierwsze rozdziały zawierają podrozdziały.

We **Wprowadzeniu** Autorka zwraca uwagę na problem „głodu utajonego”, w tym Se, w organizmach pomimo wystarczającej podaży kalorycznej, produkujemy więc i spożywamy żywność o obniżonej wartości odżywczej. Rozdział kończy się bardzo ważnym zdaniem: „...poszukiwanie skutecznego sposobu wzbogacenia roślin uprawnych w selen stanowi istotne działanie mające na celu przeciwdziałanie niedoborom Se w diecie, a docelowo polepszenie stanu zdrowia populacji.” Autorka uważa, że należy działać prewencyjnie, a nie doprowadzać do stanów chorobowych ludzi i zwierząt.

Celem pracy była **poprawa wartości odżywczej pszenicy jarej poprzez zwiększenie zawartości selenu w ziarnie.** Realizując cel badań podjęto próbę oceny różnych metod aplikacji selenu (dolistnie, doglebowo i donasiennie) na plonowanie pszenicy, zawartość selenu w ziarnie, cechy jakościowe ziarna. Uważam, cel pracy jest prawidłowo skonstruowany, uściśliłabym tylko, że nawożenie Se zastosowano w kilku terminach (fazach rozwojowych pszenicy jarej).

W pracy postawiono trzy hipotezy badawcze:

1. nawożenie selenem nie wpływa na plon i zawartość tego pierwiastka w ziarnie pszenicy jarej,
2. nawożenie selenem nie wpływa na akumulację pierwiastków śladowych,
3. nawożenie selenem nie wpływa na cechy jakościowe ziarna pszenicy jarej.

Moim zdaniem, hipotezy badawcze zostały lepiej postawione w publikacjach niż w rozprawie doktorskiej, przez co lepiej współgrają z celem pracy, np.:

1. skuteczność biofortyfikacji agrotechnicznej zależy od sposobu nawożenia i fazy rozwojowej rośliny,
2. nawożenie selenem w różnych fazach rozwojowych wpływa na zawartość Se w ziarnie pszenicy jarej, bez negatywnego oddziaływania na jego parametry jakościowe.

W rozdziale **Przegląd literatury** Doktorantka na siedmiu stronach opisała występowanie oraz znaczenie Se dla roślin, zwierząt i człowieka, a także wyjaśniła potrzebę biofortyfikacji agrotechnicznej Se pszenicy jarej. Rozdział ten jest jasny i przejrzysty, dobrze wprowadza czytającego w tematykę pracy i uzasadnia realizację podjętych badań.

W rozdziale **Material i metody** Pani mgr inż. Aleksandry Radawiec przedstawiła schemat przeprowadzonego doświadczenia, warunki glebowe, analizy chemiczne materiału glebowego i roślinnego oraz opracowanie statystyczne wyników. Badania polowe z pszenicą jarą *Triticum aestivum* L., odmiany Mandaryna przeprowadzono w latach 2018-2020 (trzy sezony wegetacyjne) w Stacji Doświadczalnej Instytutu Rolnictwa SGGW w Skierniewicach na glebie płowej. Doświadczenie dwuczynnikowe założono w układzie całkowicie losowym w trzech powtórzeniach. Czynnikiemami były sposób nawożenia Se i termin jego aplikacji. Selen w formie selenianu sodu ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) zastosowano czterema sposobami: 1) dolistnie, 2) donasiennie i dolistnie, 3) doglebowo i dolistnie, 4) donasiennie, doglebowo i dolistnie. Aplikację dolistną przeprowadzono w stężeniu  $16,66 \text{ mg Se l}^{-1}$ , w dawce  $5,00 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  Se, w różnych fazach rozwojowych roślin: F1 – krzewienie (BBCH 22), F2 – strzelanie w źdźbło (BBCH32), F3 – kłoszenie (BBCH 52) i F4 – dojrzewanie (BBCH 85). Dodatkowo nawożenie dolistne zastosowano w kilku fazach rozwojowych łącznie, gdzie całkowitą dawkę Se ( $5,00 \text{ g Se ha}^{-1}$ ) podzielono na kilka aplikacji: F1-2 – krzewienie i strzelanie w źdźbło, F1-3 – krzewienie, strzelanie w źdźbło, kłoszenie oraz F1-4 – krzewienie, strzelanie w źdźbło, kłoszenie i dojrzewanie. Nawożenie donasiennie przeprowadzono poprzez moczenie ziarna pszenicy jarej w roztworze Se o stężeniu  $50,00 \text{ }\mu\text{mol}$  przez 24 h przed siewem. Nawożenie doglebowe zastosowano przed siewem pszenicy w dawce  $5 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  Se. Wszystkie obiekty nawożono mineralnie NPK w dawkach:  $120 \text{ kg N}$ ,  $35 \text{ kg P}$  i  $100 \text{ kg K}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

Wyniki opracowano statystycznie stosując jednoczynnikową i wieloczynnikową analizę wariancji ANOVA oraz test t-Studenta na poziomie istotności  $p=0,05$ , a także analizę korelacji liniowej Pearsona. Schemat doświadczenia polowego, zgromadzony materiał badawczy, przeprowadzone analizy chemiczne oraz opracowanie statystyczne wyników uważam za odpowiednie i nie budzące zastrzeżeń.

Prawidłowo zaplanowane i staranne wykonanie pracochłonnych badań umożliwiło Autorce uzyskanie wielu interesujących i cennych danych, najważniejsze z nich przedstawiła w czwartym rozdziale dysertacji **Wyniki badań**. Był to najdłuższy rozdział zajmujący dwanaście stron w pracy, dlatego w celu uporządkowania materiału zawierał on kilka podrozdziałów: plon ziarna, zawartość selenu w ziarnie, zawartość pierwiastków śladowych w ziarnie, zawartość selenu w mące i otrębach oraz cechy jakościowe ziarna (liczba opadania, gęstość ziarna w stanie usypowym, zawartość białka i wydajność mokrego glutenu w ziarnie, zawartość skrobi, wskaźnik sendymentacji Zeleny'ego). Poszczególne podrozdziały ściśle się zająbiają i stanowią kompendium wiedzy na temat wpływu nawożenia Se na plon i jakość ziarna pszenicy jarej, z uwzględnieniem mąki i otrąb. Taki podział pracy świadczy

o przemyślanej koncepcji. Rozdział ten napisano poprawnym językiem, a przedstawione w nim zagadnienia omówiono wyczerpująco i na wysokim poziomie naukowym.

W rozprawie doktorskiej nie zamieszczono rozdziału **Dyskusja wyników**, chociaż w rozdziale **Wyniki badań** uzyskane dane były częściowo przedyskutowane, o czym świadczy 65 pozycji literaturowych zamieszczonych w rozdziale 6. **Literatura**. Pragnę podkreślić, że w każdej z czterech publikacji Autorka wyniki własne skonfrontowała z najnowszymi, w przeważającej większości anglojęzycznymi rezultatami badań innych autorów. W pierwszej pracy Doktorantka powołała się na 72 pozycje źródłowe, w drugiej na 93 pozycje, w trzeciej 60 i w czwartej na 31 pozycji źródłowych. Rozdziały dotyczące dyskusji wyników są wyczerpujące i prowadzone w sposób konsekwentny. Świadczy to o szerokim rozeznaniu Doktorantki w literaturze naukowej oraz krytycznym podejściu do wyników własnych, jak i perspektyw ich szerszego wykorzystania na tle światowych dokonań.

Uzyskane wyniki podsumowano i przedstawiono w sześciu syntetycznych **wnioskach**, które **w pełni odpowiadają na postawiony cel oraz weryfikują hipotezy badawcze**. Doktorantka udowodniła, że **nawożenie Se wpłynęło na zwiększenie zawartość tego pierwiastka w ziarnie oraz w mące pszenicy jarej, nie zmieniając wielkości plonu ziarna**. Zawartość Se zależała od sposobu nawożenia selenem i terminu jego aplikacji. Według Autorki **najlepszą metodą zwiększania zawartości Se w ziarnie było nawożenie dogłębowe połączone z aplikacją dolistną w fazie strzelania w źdźbło pszenicy jarej**. Nawożenie Se nie wpłynęło na akumulację pierwiastków śladowych oraz na większość cech jakościowych ziarna pszenicy jarej (oprócz zawartości białka ogólnego w ziarnie oraz liczby opadania). Wnioski uważam za istotne zarówno z poznawczego jak i użytkowego punktu widzenia, są one oryginalnym wkładem w rozwój nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, są również wskazówką do podjęcia odpowiednich uregulowań prawnych dotyczących biofortyfikacji agrotechnicznej zbóż selenem. Przecież doświadczenia innych krajów, np. Finlandii są przykładem fortyfikacji roślin, gdzie w okresie kilku lat (1983-1990) 10-krotnie zwiększono zawartość Se właśnie w zbożach, zwiększając tym samym dzienne spożycie Se u Finów z wartości 26 do 56  $\mu\text{g d}^{-1}$  (w latach 1990-1999). Był to skutek przyjętej ustawy dotyczącej dodatku selenianu (VI) sodu do nawozów mineralnych w ilości 16  $\mu\text{g Se g}^{-1}$  nawozu, w 1990 roku zmniejszono dawkę do 6  $\mu\text{g Se g}^{-1}$ .

W świetle zagrożeń, jakie może stwarzać zarówno niski, jak i wysoki poziom Se w środowisku, konieczne jest opracowanie bezpiecznej technologii uzupełniającej deficyt Se w diecie i uwzględniającej zmiany zawartości tego pierwiastka w układzie: gleba – roślina

uprawna – zwierzę hodowlane – człowiek, z równoczesnym monitoringiem pozostałych elementów środowiska. Wzbogacona w Se żywność pochodzenia roślinnego i zwierzęcego jako żywność funkcjonalna będzie bardziej konkurencyjną na rynku krajowym czy zagranicznym. Wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej są bardzo cenne, ponieważ mimo znaczącej roli tego mikroelementu dla prawidłowego rozwoju człowieka i zwierząt, nadal nie rozwiązuje się tego problemu w skali kraju. Praca doktorska mgr inż. Aleksandry Radawiec wpisuje się w globalną walkę z „ukrytym głodem”, ponieważ rośliny uprawne zawierające podwyższoną zawartość Se mogą stanowić efektywny i bezpieczny dla ludzi i zwierząt dodatek do żywności czy pasz.

Na uwagę zasługuje fakt, że wszystkie artykuły mają charakter oryginalnych prac twórczych, które napisano w oparciu o wyniki z przeprowadzonego eksperymentu polowego. Zdając sobie sprawę z tego, że prace składające się na rozprawę doktorską przeszły już trudny proces recenzji i zostały opublikowane, moje uwagi dotyczą drobnych niedociągnięć stylistycznych i nie podważają merytorycznej strony dysertacji oraz nie umniejszają jej wartości naukowej:

1. opisując nawożenie mineralne nie podano zawartości czystego składnika w nawozach,
2. nie należy używać zamiennie sformułowań – „plonowanie pszenicy jarej” i „plon ziarna pszenicy jarej”, ponieważ plonowanie ma szerszy zakres, oprócz plonu ziarna obejmuje m.in. plon słomy, który nie był w pracy przedstawiany.
3. Cyt.: „Plon ziarna pszenicy jarej (...) różnicował się podczas kolejnych sezonów wegetacyjnych.” Lepiej będzie brzmiało: Plon ziarna pszenicy jarej był zróżnicowany w kolejnych sezonach wegetacyjnych.
4. Cyt.: „...stwierdzono niekorzystny rozkład opadów pod względem wzrostu roślin.” Lepiej napisać: ...stwierdzono, że rozkład opadów niekorzystnie wpływa na wzrost roślin.
5. Pominięto jednostki pod Rysunkami nr. 3-5 i w Tabeli nr. 4.

Podczas lektury pracy nasunęły mi się pewne zagadnienia na temat, których chętnie poznałabym opinię Doktorantki podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej:

1. Czym kierowano się planując uprawę pszenicy jarej na glebie płowej charakteryzującej się odczynem kwaśnym,  $\text{pH}_{\text{KCl}}=5,0$ ?
2. Czy uzyskane w pracy niskie plony ziarna pszenicy jarej mogły zależeć, oprócz niekorzystnych warunków pogodowych, od odczynu gleby?
3. Czy odczyn wpływa na proces pobierania Se z gleby przez rośliny?

Podsumowując uważam, że rozprawa doktorska mgr inż. Aleksandry Radawiec jest wartościowym, kompletnym opracowaniem zawierających wiele cennych wyników dla nauki oraz szeroko rozumianej praktyki. Przedstawioną do recenzji pracę oceniam bardzo wysoko. Ma ona charakter oryginalny, a Doktorantka wykazała się dociekliwością w interpretacji i dyskusji wyników, jak również umiejętnościami badawczymi i analitycznymi. Co najważniejsze, porusza problematykę aktualną i potrzebną. Rozprawa stanowi bardzo dobrze zaplanowaną i zrealizowaną pracę badawczą, świadczy to o dojrzałości naukowej Autorki.

Przedstawiona mi do oceny praca Pani mgr inż. Aleksandry Radawiec spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określonym w Ustawie 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 zmianami). W związku z powyższym, wnioskuję do Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego o dopuszczenie Pani mgr inż. Aleksandry Radawiec do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy oraz jej formę w postaci opublikowanych czterech prac w znaczących, międzynarodowych czasopismach, wnioskuję o wyróżnienie pracy Autorki stosowną nagrodą.

A. Wogoste