



**POLITECHNIKA  
BYDGOSKA**

Wydział Rolnictwa i Biotechnologii

**RADA NAUKOWA DISCYPLINY  
ROLNICTWO I OGRODNICTWO**

## **ROZPRAWA DOKTORSKA**

**mgr inż. AGNIESZKA NOWAK**

**EFEKTY RÓŻNYCH APLIKACJI NANOCZĄSTEK ŻELAZA NA  
ROŚLINY RZEPAKU (*Brassica napus* var. *oleifera*) WE WCZESNYCH  
FAZACH WZROSTOWO-ROZWOJOWYCH**

**EFFECTS OF VARIOUS APPLICATION OF NANO IRON IN THE  
EARLY STAGES OF GROWTH AND DEVELOPMENT OF RAPESEED  
PLANTS  
(*Brassica napus* var. *oleifera*)**

DZIEDZINA: nauki rolnicze  
DYSCYPLINA: rolnictwo i ogrodnictwo

**PROMOTOR**

**PROF. DR HAB. INŻ. ANNA WENDA-PIESIK**

PRACOWNIA PRODUKCJI ROŚLINNEJ I DOŚWIADCZALNICTWA  
KATEDRA AGRONOMII, WYDZIAŁ ROLNICTWA I BIOTECHNOLOGII  
POLITECHNIKA BYDGOSKA IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH W  
BYDGOSZCZY

**BYDGOSZCZ 2023**



*Pragnę serdecznie podziękować wszystkim osobom,  
bez których niniejsza praca nie mogła by powstać.*

*Przede wszystkim mojemu promotorowi i mentorowi  
Pani Prof. dr hab. inż. Annie Wenda-Piesik  
za nieocenioną pomoc podczas przygotowania pracy,  
cenne uwagi oraz sugestie,  
a w szczególności za poświęcony czas i wsparcie merytoryczne oraz  
niekończącą się cierpliwość i wyrozumiałość.*



## Spis treści

1. WSTĘP .....	9
1.1. Hipoteza badawcza .....	10
2. PRZEGLĄD LITERATURY .....	11
2.1. Charakterystyka rzepaku .....	11
2.2. Potrzeby pokarmowe i nawozowe rzepaku .....	15
2.2.1. Makroelementy .....	15
2.2.2. Mikroelementy .....	25
2.3. Żelazo w glebach oraz czynniki wpływające na jego dostępność dla roślin .....	28
2.4. Żelazo w roślinach .....	29
2.4.1. Zawartość żelaza w roślinach .....	29
2.4.2. Pobieranie żelaza przez rośliny .....	29
2.4.3. Funkcje żelaza w roślinach .....	30
2.4.4. Niedobór i nadmiar żelaza .....	30
2.5. Rola żelaza w organizmie ludzi .....	31
2.6. Wzrost i rozwój roślin w początkowych fazach oraz sposoby jego oceny .....	32
2.6.1. Wymiana gazowa i fluorescencja .....	32
2.6.2. Wskaźniki wzrostu i rozwoju .....	35
2.7. Nanotechnologia i nanonauka .....	36
2.7.1. Nanocząstki .....	37
2.7.2. Zastosowania nanotechnologii .....	37
2.7.3. Zastosowanie nanocząstek w rolnictwie .....	38
3. METODYKA BADAŃ .....	42
3.1. Przedmiot badań .....	42
3.2. Fazy rozwojowe rzepaku – skala BBCH .....	42
3.3. Czas i warunki prowadzenia doświadczeń .....	44
3.4. Czynniki doświadczalne i poziomy czynników .....	51
3.5. Charakterystyka nano-Fe i przygotowanie roztworu do aplikacji .....	52
3.6. Zakres pomiarów i obserwacji .....	52
3.6.1. Pomiary wymiany gazowej .....	52
3.6.2. Fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE) oraz chwilowy fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUEI) .....	54
3.6.3. Detekcja reakcji stresowych .....	54
3.6.4. Zawartość chlorofilu w liściach .....	55
3.6.5. Wskaźniki wzrostu i rozwoju roślin .....	56

3.6.6. Właściwości fizyczne korzeni .....	57
3.6.7. Analiza zawartości Fe .....	57
3.6.8. Pomiary morfologiczne .....	58
3.7. Analiza statystyczna .....	58
4. WYNIKI BADAŃ .....	60
4.1. Seria I – Doświadczenia na eksplantatach rzepaku jarego <i>in vitro</i> .....	60
4.1.1. Wpływ zastosowania nanocząstek Fe na parametry fotosyntezy .....	60
4.1.1.1. Intensywność fotosyntezy netto .....	60
4.1.1.2. Wskaźnik transpiracji liścia .....	61
4.1.1.3. Stężenie CO <sub>2</sub> międzykomórkowego .....	62
4.1.1.4. Przewodność aparatów szparkowych .....	63
4.1.1.5. Współczynniki wykorzystania wody WUE, WUEI .....	64
4.1.2. Wpływ zastosowania nanocząstek Fe na parametry fluorescencji .....	66
4.1.2.1. Fluorescencja początkowa F <sub>0</sub> .....	66
4.1.2.2. Fluorescencja maksymalna FM .....	67
4.1.2.3. Sprawność fotochemiczna PSII – FV/FM .....	68
4.1.2.4. Zależność F <sub>0</sub> i FM od CCI .....	69
4.1.2.5. Zależność FV/FM od CCI .....	70
4.1.2.6. Analiza korelacji między parametrami fluorescencji a zawartością chlorofilu ogółem w liściach rzepaku jarego dla różnych dawek nanoFe .....	71
4.1.3. Parametry fluorescencji oraz powierzchni liści w fazie początkowej rozwoju liści rzepaku jarego pochodzącego z kultur <i>in vitro</i> .....	73
4.1.3.1. Fluorescencja początkowa (F <sub>0</sub> ) .....	73
4.1.3.2. Fluorescencja maksymalna (FM) .....	74
4.1.3.3. Sprawność fotochemiczna PSII (FV/FM) .....	75
4.1.3.4. Zawartość chlorofilu (CCI) .....	76
4.1.3.5. Powierzchnia liści (cm <sup>2</sup> ) .....	76
4.1.4. Wpływ nanocząstek żelaza w środowisku <i>in vitro</i> na wskaźniki wzrostu i rozwoju eksplantatów rzepaku .....	77
4.1.4.1. NAR – intensywność asymilacji netto .....	77
4.1.4.2. RGR – względna intensywność wzrostu .....	78
4.1.4.3. SLA – specyficzna powierzchnia liściowa .....	79
4.1.4.4. LWR – wskaźnik masy liści .....	80
4.1.4.5. LAR – wskaźnik ulistnienia .....	81
4.1.5. Zawartość żelaza w poszczególnych częściach roślin rzepaku jarego .....	82
4.1.6. Wpływ zastosowania nanocząstek Fe na parametry biometryczne systemu korzeniowego .....	83
4.1.6.1. Len – całkowita długość korzeni (cm) .....	83
4.1.6.2. SA – całkowita powierzchnia korzeni (cm <sup>2</sup> ) .....	84
4.1.6.3. PA – całkowita powierzchnia przeliczeniowa (cm <sup>2</sup> ) .....	85
4.1.6.4. Vol – całkowita objętość korzeni (cm <sup>3</sup> ) .....	86

4.1.6.4. Vol – całkowita objętość korzeni (cm <sup>3</sup> ) .....	86
4.1.6.5. AvgD – średnica korzenia (mm).....	87
4.1.6.6. Ntips – liczba korzonków (szt. · roślina <sup>-1</sup> ) .....	88
4.1.6.7. NForks – liczba rozgałęzień korzenia (szt. · roślina <sup>-1</sup> ).....	89
4.1.6.8. NCross – liczba skrzyżowanych korzeni (szt. · roślina <sup>-1</sup> ) .....	90
4.1.6.9. Zależności między całkowitą powierzchnią korzeni a wybranymi parametrami korzeni w fazie BBCH 12-15 .....	91
4.1.6.10. Sucha masa korzeni w fazie BBCH 57-62 i jej zależności z wybranymi parametrami korzeni.....	92
4.1.6.11. Zależności pomiędzy całkowitą powierzchnią korzeni w fazie BBCH 57-62 a wybranymi parametrami korzeni .....	94
4.2. Seria II – Doświadczenia na roślinach rzepaku jarego w perlicie.....	98
4.2.1. Wpływ efektów badanych czynników na parametry fotosyntezy .....	98
4.2.2. Wpływ efektów badanych czynników na parametry fluorescencji .....	102
4.2.3. Wpływ efektów badanych czynników na zawartość Fe i Mg w liściach .....	106
4.2.4. Wpływ efektów badanych czynników na biometrię liści.....	107
4.3. Seria III – Doświadczenia na roślinach rzepaku jarego i ozimego w ziemi ogrodniczo-uprawnej.....	112
4.3.1. Wpływ nalistnego zastosowania nanocząstek Fe na parametry fotosyntezy .....	112
4.3.2. Wpływ nalistnego zastosowania nanocząstek Fe na parametry fluorescencji.....	117
4.3.3. Wpływ nalistnego zastosowania nanocząstek Fe na biometrię liści ...	119
4.3.4. Wpływ nalistnego zastosowania nanocząstek Fe na zawartość żelaza w liściach.....	123
5. DYSKUSJA O WYNIKACH.....	124
5.1. Wskaźniki procesu fotosyntezy roślin rzepaku w zależności od fazy rozwoju, stosowania nanoFe oraz mikroelementów .....	124
5.2. Intensywność fluorescencji chlorofilu a w roślinach rzepaku .....	128
5.3. Analiza wzrostu roślin rzepaku .....	135
5.4. Cechy biometryczne oraz jakościowe części nadziemnych roślin rzepaku .....	139
5.5. Parametry korzeni roślin rzepaku .....	143
6. WNIOSKI.....	147
7. SPIS LITERATURY .....	149
Streszczenie.....	179
Summary .....	181





## 1. WSTĘP

Rzepak (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* Metzg.) to roślina jednoroczna, która występuje w formie jarej i ozimej. Na terenie Europy w uprawie dominuje forma ozima, która ma większy potencjał plonotwórczy oraz większą zawartość tłuszczu w nasionach w porównaniu do formy jarej. Rzepak jest również ważnym źródłem białka w żywieniu zwierząt (Weymann i in., 2015). W strefie klimatu umiarkowanego jest najważniejszą rośliną oleistą. Głównym produktem pozyskiwanym z nasion rzepaku jest olej, który wykorzystuje się do celów spożywczych oraz w różnych dziedzinach przemysłu. Skład kwasów tłuszczowych w oleju rzepakowym można zaliczyć do 'najzdrowszego' ze wszystkich olejów jadalnych. Zawiera kwasy omega-3 i omega-6 oraz niewielkie ilości nasyconych kwasów tłuszczowych. Poza wykorzystaniem do celów spożywczych olej rzepakowy może mieć również zastosowanie w kosmetologii, medycynie, technologii żywności, dietetyce, tribologii oraz do produkcji paliwa (biodiesel) czy pokostu. Ponadto ważnymi produktami pozyskiwanymi z nasion rzepaku są śruty i makuchy, które mają zastosowanie jako komponenty pasz w produkcji zwierzęcej (Rathke i in., 2006; Eastham i Sweet, 2002; Grispen i in., 2006; Jankowski i Budzyński, 2007; Rudko, 2011; Szymańska, 2014; Hanhart i in., 2017).

O przydatności technologicznej i żywieniowej nasion rzepaku decyduje ich skład chemiczny. Przede wszystkim należy zwrócić uwagę na zawartość składników pokarmowych i substancji antyżywniowych, które zależą od genotypu, rodzaju gleby, nawożenia, warunków meteorologicznych oraz zabiegów technologicznych podczas produkcji oleju (Rudko, 2011; Mahanta i in., 2019).

Żelazo jest jednym z podstawowych mikroelementów, który wpływa na wzrost roślin oraz odgrywa ważną rolę w reakcjach fotosyntetycznych. W procesach biochemicznych roślin żelazo bierze udział w aktywacji enzymów oraz przyczynia się do syntezy RNA i poprawy wydajności fotosystemu (Sheykhbaglou i in., 2010). Właściwe odżywianie roślin Fe wpływa istotnie na wielkość i jakość plonu nasion rzepaku. Widocznym objawem niedoboru żelaza jest chloroza występująca na najmłodszych liściach, będąca skutkiem zmniejszenia zawartości chlorofilu. Objawy te, nie muszą wskazywać na brak dostępności Fe w glebie (Guerinot i Yi, 1994). Składnik ten może być o małej dostępności dla roślin w glebie ze względu na przechodzenie w formy znacznie trudniej przyswajalne (Kołota i in., 2006; Zheng, 2010 Jeong i Guerinot, 2009; Prasad i in., 2014b). Zjawisko uwsteczniania żelaza może także zachodzić w podłożach inertnych. Temu zjawisku sprzyja między innymi wysoki poziom pH podłoża, a także nadmiar fosforanów oraz węglanów (Ylivainio i in., 2004; Kołota i in., 2006). Podłoża inertne cechują się wysoką zawartością tlenu spowodowane ich dużą porowatością. Nie posiadają związków humusowych, które są naturalnymi chelatorami dla kationów w przeciwieństwie do podłoży organicznych (Gorlach i Mazur, 2002). Zjawisko uwsteczniania można zmniejszyć, stosując w nawożeniu roślin formy chelatowe, które są dobrze rozpuszczalne w wodzie oraz posiadają niską stałą dysocjacji (Tyksiński i Komosa, 2007; za Wreesmann, 1996). Wpływ na dostępność żelaza w formie chelatowej mają także: temperatura i światło, oraz stężenie stosowanego chelatu (Komosa

i in., 2005). Według Álvarez- Fernández i in. (2005), w nawozach chelatowych Fe występuje najczęściej jako: ligandy EDTA (kwas etylenodiaminotetraoctowy), DTPA (kwas dietylenotriaminopentaoctowy) lub HEEDTA (kwas 2- hydroksylowe etylenodiaminotrioctowy).

Zastosowanie nanotechnologii w rolnictwie pozwala na wprowadzenie do uprawy roślin, nowych, przypuszczalnie skutecznych nawozów mineralnych, pestycydów a także regulatorów wzrostu (Pérez-de-Luque i Rubiales, 2009; Khan i in., 2019; El-Gioushy i in. 2021).

Dotychczasowa wiedza na temat zastosowania nanocząstek metali w chemicznych środkach produkcji roślinnej dostarcza zarówno pozytywnych jak i negatywnych doniesień. Dotyczy to ich wpływu na rozwój organów, przebieg metabolizmu i odporności roślin na stres i patogeny oraz na środowisko glebowe (Zhao i in. 2015; Da Costa i Sharma, 2016; Hong i in., 2016; Majumdar i in. 2016; Shang i in., 2019; Grillo i in., 2021; Kandhol i in., 2022).

Obecnie na rynku polskim są już dostępne nawozy (np. FoliQ, Nano Aktive), które zawierają nanostruktury np. żelaza. Jednak ich producenci nie zawsze podają, jaka jest zawartość i forma pierwiastka, który występuje w postaci nanocząstek. Poznanie fizjologicznej reakcji roślin uprawnych na środki chemiczne zawierające nanocząstki metali jest potrzebne. Ponieważ możliwości stosowania metali w coraz mniejszych ilościach, jest korzystne dla środowiska (Joshi i in., 2019; Khan i in., 2019; Shang i in., 2019; Wu i Li, 2022). Istnieje więc konieczność badań nad zastosowaniem Fe w formie nanostruktur, co z założenia przy dawkowaniu w bardzo małych ilościach może okazać się efektywne.

Celem naukowym podjętych badań było określenie wpływu żelaza na procesy fizjologiczne (asymilację, transpirację, zawartość CO<sub>2</sub> międzykomórkowego, przewodnictwo szparkowe, fluorescencję chlorofilu), a także na dynamikę wzrostu korzeni i części nadziemnych roślin rzepaku we wczesnych fazach wzrostowo-rozwojowych w zależności od rodzaju aplikacji i dawki nanoFe.

## **1.1. Hipoteza badawcza**

Główna hipoteza badawcza zakładała, że zastosowanie nanocząstek żelaza pozytywnie wpłynie na parametry wzrostowo-rozwojowe rzepaku. W szczególności można założyć, że:

1. NanoFe obniży poziom stresu po nalistnej aplikacji w fazach rozwoju roślin BBCH 15, 22 i 31.
2. NanoFe aplikowane nalistnie podniesie sprawność asymilacji i transpiracji młodych liści rzepaku.
3. NanoFe aplikowane do podłoża korzystnie wpłynie na rozwój korzeni rzepaku.
4. Efekty poprawy wskaźników wzrostu i rozwoju rzepaku będą zależały od zastosowania nanoFe.

## 2. PRZEGLĄD LITERATURY

### 2.1. Charakterystyka rzepaku

Kapusta rzepak (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* Metzg.) to gatunek zaliczany do rodziny kapustowatych (*Brassicaceae*) (Budzyński, 2010; Rudko, 2011), który powstał w wyniku przekrzyżowania w naturalnych warunkach siedliskowych kapusty (*B. oleracea* L.) i rzepiku (*B. campestris* L.). Wyróżnia się dwie formy botaniczne rzepaku: ozimą, (*biennis*), której długość okresu wegetacji w warunkach Polski wynosi około 300-330 dni, i jara (*annua*) o długości okresu wegetacji 90-120 dni (Rudko, 2011). Na świecie uprawia się głównie rzepak jary, jedynie w Europie przeważają odmiany ozime (Snowdon i in., 2007; Budzyński, 2010). Głównymi czynnikami kształtującymi plony nasion rzepaku w Polsce są: warunki meteorologiczne, stanowisko w zmianowaniu, nawożenie mineralne zwłaszcza azotem, ochrona roślin przed patogenami i dobór odmiany. Osiągnięcia hodowlane sprawiły, że w ostatnich latach zwiększyło się znaczenie gospodarcze rzepaku w Europie i Polsce. Nowe odmiany rzepaku zarówno populacyjne oraz mieszańcowe w porównaniu do odmian konwencjonalnych wykształcają więcej rozgałęzień bocznych oraz łuszczyń, co decyduje o ich wyższym potencjale produkcyjnym (Jankowski i Budzyński, 2007; Qin i in., 2017; Schierholt i in., 2019; Geng i in., 2021; Haj Sghaier i in., 2022).

Rzepak należy do najważniejszych roślin oleistych uprawianych na świecie i w Polsce (Snowdon i in., 2007; Budzyński, 2010; Qin i in., 2017; Janowski i in. 2019, Ren i in. 2022). W Unii Europejskiej w 2016 roku rzepak był uprawiany na areale 6,7 mln ha. Najwięcej plantacji w tym czasie znajdowało się we Francji, Niemczech, Polsce i Wielkiej Brytanii. Powierzchnia uprawy rzepaku w 2021 roku wyniosła 5,3 mln ha. W porównaniu z rokiem 2016 był to spadek uprawy o 18,5%, który spowodowany był między innymi wyjściem Wielkiej Brytanii z Unii Europejskiej. Największy areal uprawy rzepaku w 2021 roku znajdował się w Niemczech, Polsce, Francji i Rumunii (<http://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/tag00100/default/table?lang=en>). Powierzchnia zasiewów roślin z grupy oleistych w Polsce w 2016 roku wyniosła 866,8 tys. ha. Największą powierzchnię w tej grupie zajmował rzepak (95,4% powierzchni oleistych) (GUS, 2017a i b). Powierzchnia uprawy rośliny oleistych w 2021 roku zwiększyła się o 22,1% (w porównaniu do roku 2016) i wynosiła 1058,2 tys. ha. Największy udział w powierzchni zasiewów stanowił rzepak, który uprawiany był na 93,9% całkowitego arealu roślin oleistych (GUS, 2022). W 2016 roku uprawa rzepaku zajmowała powierzchnię 826,9 tys. ha (w tym forma ozima 738,1 tys. ha i forma jara 88,8 tys. ha) (GUS, 2017a i b), natomiast w 2021 roku wynosiła 993,4 tys. ha (w tym forma ozima 975,7 tys. ha i forma jara 17,7 tys. ha) (GUS, 2022). Najintensywniejszą uprawę rzepaku w 2016 roku odnotowano w województwach: dolnośląskim (119,1 tys. ha), wielkopolskim (104,4 tys. ha), zachodniopomorskim (98,4 tys. ha) oraz kujawsko-pomorskim (84,3 tys. ha). Najmniej upraw rzepaku znajdowało się w województwach:

świętokrzyskim (7,7 tys. ha) i małopolskim (7,9 tys. ha) (GUS, 2017a i b). Rozmieszczenie upraw rzepaku w zależności od województw w 2021 roku było nieznacznie inne niż w 2016 roku. Największym arealem uprawy wyróżniały się województwa: lubelskie (127,5 tys. ha), dolnośląskie (122,3 tys. ha), zachodniopomorskie (96,2 tys. ha) i warmińsko-mazurskie (94,9 tys. ha). Natomiast najmniejsza powierzchnia uprawy rzepaku znajdowała się w województwach: małopolskim (12,5 tys. ha) i podlaskim (18,3 tys. ha) (GUS, 2022). Średni plon wzorca w doświadczeniach porejestrowych odmian w 2016 roku i w 2021 roku kształtował się odpowiednio na poziomie  $35,6 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$  i  $39,9 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$  dla rzepaku ozimego oraz  $22,8 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$  i  $21,6 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$  dla rzepaku jarego (COBORU, 2017 i 2022). Średni plon nasion rzepaku w 2016 roku w Polsce wynosił  $26,8 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$  (GUS, 2017a), natomiast w 2021 roku wzrósł do poziomu  $31,3 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$  (GUS, 2022). Światowe zbiory nasion rzepaku w 2016 roku osiągnęły 64,2 mln ton ([http://www.kowr.gov.pl/uploads/pliki/analizy/miesieczne/Nr%201\\_2018\\_KOWR\\_rynek%20rzepaku.pdf](http://www.kowr.gov.pl/uploads/pliki/analizy/miesieczne/Nr%201_2018_KOWR_rynek%20rzepaku.pdf)). Zgodnie z szacunkami USDA (2021) światowe zbiory rzepaku w 2021 roku mogły osiągnąć 71,8 mln ton. Unia Europejska ma największy udział w produkcji rzepaku. Niekorzystne warunki pogodowe spowodowały spadek plonów nasion rzepaku w ostatnich latach. Rok 2016 był trzecim z kolei, w którym produkcja rzepaku w UE-28 zmniejszyła się i wyniosła 20,4 mln ton (<http://www.minrol.gov.pl/Ministerstwo/Biuro-Prasowe/Informacje-Prasowe/Rynek-rzepaku>). Zbiory rzepaku w UE-27 w 2021 roku osiągnęły poziom 17,3 mln ton. Wpływ na mniejsze zbiory w roku 2021 miało wyjście Wielkiej Brytanii z Unii Europejskiej w porównaniu do roku 2016 (<http://akademiarzepaku.pl/informacje-ze-swiatowego-rynku-rzepaku-2/>). W Polsce natomiast produkcja rzepaku jest bardzo zregionalizowana, co wiąże się przede wszystkim z jakością gleby, ryzykiem klimatycznym oraz strukturą agrarną (Budzyński, 2010). Produkcja rzepaku w 2016 roku wyniosła nieco ponad 2,22 mln ton (forma ozima – 2,03 mln ton, forma jara – 0,19 mln ton) (GUS, 2017a i b). W ciągu pięciu lat nastąpił wzrost produkcji rzepaku do 3,19 mln ton, w tym 3,15 mln ton dotyczy formy ozimej a 0,04 mln ton jarej (GUS, 2022). Największe zbiory nasion w 2016 roku uzyskano w województwach: dolnośląskim (359,0 tys. ton) oraz wielkopolskim (283,2 tys. ton). Najmniej nasion zebrano w województwach: świętokrzyskim (19,3 tys. ton) i małopolskim (24,5 tys. ton) (GUS, 2017a i b). Według GUS (2022) w 2021 roku największe zbiory nasion rzepaku uzyskano w województwach: lubelskim (405,4 tys. ton) i dolnośląskim (393,1 tys. ton). Natomiast w województwach: małopolskim (41,5 tys. ton) oraz podlaskim (59,6 tys. ton) wyprodukowano ich najmniej.

Roślina rzepaku wytwarza palowy system korzeniowy, posiadający liczne korzenie boczne. Może on sięgać głębokości powyżej 2m (Rizwan i in., 2017; Schierholt i in., 2019; Vazquez-Carrasquer i in., 2021). Tak zbudowany korzeń doskonale napowietrza glebę oraz przewodzi wodę. Dzięki temu tworzy pożądaną strukturę gruzłkowatą oraz poprawia mikrobiologiczne życie w glebie (Tys i in., 2003). W części nadziemnej rzepak tworzy rozetę o liściach lirowatych obejmujących łodygę. Na końcu pędu głównego i jego rozgałęzień tworzą się kwiatostany o prostych gronach. Owocem rzepaku jest łuszczyzna zawierająca około 20-30 nasion o zabarwieniu brunatno-czarnym

lub czarnym o odcieniu stalowoniebieskim, a masa tysiąca nasion waha się w przedziale 4-6 g (Diepenbrock 2000). Intensywny wzrost roślin wpływa pozytywnie na ochronę gleby przed erozją, natomiast pozostawione w glebie resztki poźniwne są idealnym pożywieniem dla żyjących w niej organizmów (Tys i in., 2003).

Rzepak należy do roślin miododajnych, co ma wielkie znaczenie w pszczelarstwie. Stosunkowo długi okres kwitnienia (około 45 dni) gwarantuje pszczołom oraz innym organizmom pożytecznym stały dostęp do kwiatów, a przez to pokarm oraz prawidłowy proces zapylania kwiatów (Niinemets i in. 2013, Trowbridge i Stoy 2013). Rzepak zdolny jest do samozapylenia, ale ważna jest obecność owadów, która zwiększa wartość uprawy przez zwiększenie plonu i jego jakości (Bommarco i in., 2012, Bartomeus i in., 2014; Hudewenz i in., 2014). Okres pełnego kwitnienia rzepaku umożliwia zapylanie jego kwiatów, zwłaszcza przez pszczoły miodne, co powoduje zwiększenie produkcji miodu (Pipan i in, 2011).

Rzepak oleisty jest trzecim co do wielkości źródłem oleju roślinnego na świecie (USDA, 2016a) tuż po soi i palmie (El-Beltagi i Mohamed, 2010) oraz jest główną rośliną oleistą uprawianą w strefie klimatu umiarkowanego, a także typową rośliną przemysłową (IENICA, 2011). Rozpowszechniony jest w rolnictwie, głównie w UE, Chinach i Kanadzie (Hanhart i in., 2017), gdzie zaopatruje przemysł spożywczy (Grispen i in., 2006) i paszowy. Ponadto, to najważniejszy surowiec do produkcji biopaliw (USDA, 2016b), oraz używany jest także w produktach chemicznych i farmaceutycznych (Hanhart i in., 2017). Wykorzystywany jest również jako roślina lecznicza w Azji Środkowej, Afryce Północnej i Europie Zachodniej (Saeidnia i Gohari, 2012).

Odmiany rzepaku o niskiej zawartości glukozyzolanów i kwasu erukowego są stosowane do produkcji wysokiej jakości oleju roślinnego. Produkty uboczne w produkcji oleju natomiast są wykorzystywane do wysoko wzbogaconej paszy (Eastham i Sweet, 2002), która jest konkurencyjna w stosunku do soi. Wykorzystywane są zwłaszcza w żywieniu bydła, ale nie są zalecane dla kurcząt i świń (Zargari, 2001). W żywieniu zwierząt mogą być polecane nasiona rzepaku oraz produkty jego przetwórstwa: maku-chy rzepakowe, śruta poekstrakcyjna, olej rzepakowy oraz glicerol (Kowalska i in., 2016). Stosowanie surowych olejów rzepakowych ma szerokie zastosowanie w przemyśle chemicznym (genotypy o wysokiej zawartości kwasu erukowego) i fito-farmacji (genotypy z wysokim poziomem glukozyzolanów) (Eastham i Sweet, 2002), gdzie możliwe jest uzyskanie bioenergii z rzepaku oraz produktów ubocznych pochodzenia rolniczego (Balodis i Gaile, 2012). Nasiona rzepaku wykorzystuje się także do produkcji biokomponentów, które są dodatkiem do paliw konwencjonalnych. Zatem istotnym czynnikiem, który przyczynił się do wzrostu produkcji rzepaku w Polsce jest rozwój sektora biopaliw. Pomimo postanowienia Parlamentu Europejskiego, ograniczającego udział biopaliw I generacji do 7% w zestawieniu paliw ogółem, zapotrzebowanie na rzepak w Polsce będzie się zwiększać (Szymańska, 2014). Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/28/WE z dnia 23 kwietnia 2009 roku, w sprawie promowania stosowania energii ze źródeł odnawialnych, nałożyła na wszystkie podmioty uczestniczące w cyklu produkcji biopaliw obowiązek spełnienia kryteriów zrównoważonej

produkcji. Najważniejszym z tych kryteriów jest wymóg ograniczenia emisji gazów cieplarnianych (GHG). W Dyrektywie zostały określone standardowe emisje GHG powstające przy produkcji surowców rolniczych. Wartość standardowa dla rzepaku wynosi 29 g CO<sub>2</sub> eq/MJ (674,14 kg CO<sub>2</sub> eq/mt nasion). Wykonane w Polsce badania wykazały, że wszystkie województwa w naszym kraju mają dla rzepaku emisję gazów niższą niż standardowa (Faber i in., 2011).

Intensywne prowadzone prace badawcze w kierunku zmian właściwości oleju rzepakowego pozwoliły uzyskać nasiona o istotnie ulepszonym składzie. Olej otrzymywany z odmian tradycyjnych zawierał w swoim składzie zawartość kwasów na poziomie: 48-54% erukowego, 13-15% linolowego, 9-11% linolenowego, 14-16% oleinowego, 7-9% eikozenowego, 3-4% palmitynowego i stearynowego. Natomiast w oleju z odmian rzepaku obecnie uprawianego, podwójnie ulepszanego, osiągnięto zawartość kwasów w wysokości: 0-2% erukowego, 18-22% linolowego, 10-13% linolenowego, 56-68% oleinowego, 1-2% eikozenowego, 4-6% palmitynowego i stearynowego (Rudko, 2011). Pozyskano już pierwsze odmiany właściwe do specjalistycznych olejów jadalnych, które zawierają w swoim składzie poniżej 3,5% kwasu linolenowego. Te oleje wykorzystywane są do bezwonnego smażenia, a także przedłużania trwałości produktów np. chipsów czy frytek. Coraz większego znaczenia nabiera również hodowla ulepszająca odporność odmian rzepaku na występujące różne czynniki stresowe oraz najgroźniejsze patogeny, do których zalicza się czern krzyżowych, suchą zgniliznę kapustnych i zgniliznę twardzikową (Heimann, 2005; Mrówczyński i Pruszyński, 2008). W polskiej hodowli rzepaku występują już linie o różnej zawartości kwasów tłuszczowych w nasionach: typu „HO” (ang. high oleic) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego w granicach 78,4% przy równoczesnej zawartości kwasu linolowego na poziomie około 7,7%, i kwasu linolenowego wynoszącego około 6,8% oraz linie typu „LL” (ang. low linolenic) o skrajnie niskiej ilości kwasu linolenowego około 2,8%. Wyselekcjonowane linie „HO” zawierają podwyższoną zawartość tokoferoli na poziomie średnio 770 mg·kg<sup>-1</sup>, w szczególności gamma-tokoferolu (500 mg·kg<sup>-1</sup>) przejawiające silne właściwości antyoksydacyjne (Spasibionek i in., 2011). Rzepak jest obiektem intensywnych komercyjnych programów hodowlanych, których następstwem jest wprowadzenie do rejestracji nowych kwalifikowanych odmian gwarantujących minimalne normy fenologiczne i morfologiczne, wskaźniki plonu oraz jakości i chorób (OECD, 2016). W wyniku prac badawczych i hodowlanych uzyskano zmiany jakościowe nasion, polegające na wyeliminowaniu szkodliwych tioglikozydów zmniejszających ich wartość żywieniową oraz sposobów zastosowania śruty rzepakowej jako paszy wysokobiałkowej w żywieniu zwierząt. W wyniku tego zredukowana została w beztłuszczowej masie nasion ilość kwasu erukowego z 41-54% do mniej niż 0,5%, a zawartość glukozynolanów ze 170 do 15-25 mM·kg<sup>-1</sup> (Rudko, 2011).

## 2.2. Potrzeby pokarmowe i nawozowe rzepaku

Rzepak ozimy zalicza się do roślin, które charakteryzują się wysokimi potrzebami pokarmowymi (Rudko, 2011). Do prawidłowego wzrostu i rozwoju wymaga gleb o wysokiej zasobności w makro i mikroskładniki pokarmowe. Prowadzi to do stosowania wysokich dawek nawozowych (Grzebisz i in., 2008). Potrzeby nawozowe określane są jako suma wszystkich składników mineralnych, które trzeba zastosować w nawozie. Ma to na celu zaspokojenie potrzeb pokarmowych roślin. Jest to niezbędne, aby maksymalnie wykorzystać potencjał genetyczny roślin, co w rezultacie przekłada się na osiągnięcie zakładanych plonów. Potrzeby nawozowe są różne od potrzeb pokarmowych roślin, ze względu na dużą zawartość niezbędnych składników w glebie. Najczęściej są one mniejsze, ponieważ w glebie znajduje się duża ilość niezbędnych składników. Określony pierwiastek może być przez rośliny pobierany w znacznych ilościach. Gleby mniej urodzajne są uboższe w cenne składniki pokarmowe, co prowadzi do większych potrzeb nawozowych (Mercik, 2004). Duże potrzeby nawozowe powodują, że nawożenie jest najdroższym zabiegiem agrotechnicznym uprawy rzepaku (powyżej 40% kosztów bezpośrednich), a zarazem jest najważniejszym elementem decydującym o wielkości oraz jakości plonu roślin rzepaku. Aby określić dawkę każdego składnika pokarmowego, konieczne jest sprawdzenie zasobności gleby w dostępne składniki pokarmowe, pH gleby oraz określenie wielkości spodziewanego plonu (Jajor i Mrówczyński, 2016).

### 2.2.1. Makroelementy

Rzepak uzyskując plon  $3,5 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ , pobiera:  $200\text{-}300 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ ,  $250\text{-}350 \text{ kg K}_2\text{O} \cdot \text{ha}^{-1}$ ,  $90\text{-}130 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ha}^{-1}$ ,  $150\text{-}200 \text{ kg CaO} \cdot \text{ha}^{-1}$ ,  $45\text{-}60 \text{ kg MgO} \cdot \text{ha}^{-1}$  oraz  $60\text{-}80 \text{ kg S} \cdot \text{ha}^{-1}$  (Grzebisz i in., 2005). Natomiast według Meena i in. (2016) rośliny rzepaku, aby wytworzyć plon rzędu  $4,5 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  potrzebują (w  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ):  $300\text{-}350 \text{ N}$ ,  $120\text{-}140 \text{ P}_2\text{O}_5$ ,  $300\text{-}400 \text{ K}_2\text{O}$ ,  $30\text{-}50 \text{ Mg}$ ,  $80\text{-}100 \text{ S}$ . Prawidłowe zaopatrzenie w azot, fosfor, potas, siarkę i magnez a także optymalne pH gleby powoduje odpowiednie ukorzenienie się oraz wysoką dynamikę wzrostu rzepaku. Gwarantuje to osiągnięcie prawidłowej fazy rozwojowej, co zapewnia właściwe zimowanie, a także poprawny wzrost roślin w okresie wiosennej wegetacji (Jajor i Mrówczyński, 2016). Rzepak dla prawidłowego wzrostu oraz wysokiej produktywności nasion wymaga intensywnego i terminowego nawożenia składnikami pokarmowymi (Meena i in., 2016).

Azot (N) jest jednym z głównych składników w żywieniu roślin, szczególnie w formowaniu plonów. Odżywanie tym pierwiastkiem jest więc jednym z najważniejszych warunków uzyskania wysokich plonów (Bouchet i in., 2016; Jankowski i in., 2019). W szczególności istotne są wiosenne dawki azotu (Varga i Ducsay, 2011). Dawka oraz ilość dostarczonych nawozów azotowych jest zasadniczym elementem oddziałującym na masę nasion w łuszczykach, a także plon rzepaku (Bouchet i in., 2016; Jankowski i in., 2019). Odżywanie azotem wpływa też na zawartość oleju w rzepaku

(Zapletalová i in., 2022). Ponadto N ma duże znaczenie w uprawie, ponieważ wymaga do wyprodukowania jednej jednostki plonu rzepaku więcej azotu niż większość roślin uprawnych, takich jak burak cukrowy (*Beta vulgaris* L.) czy pszenica ozima (*Triticum aestivum* L.) (Sylvester-Bradley i Kindred, 2009). Aby wyprodukować 0,1 t nasion w warunkach klimatycznych UE, rzepak ozimy akumuluje około 6 kg azotu (Rathke i in., 2006). Ilość przedsięwziętej dawki azotu powinna odpowiadać faktycznemu zapotrzebowaniu młodych roślin, żeby zagwarantować im prawidłowy rozwój. Wiosenna dawka azotu pełni kluczową rolę w kształtowaniu plonu oraz składu chemicznego nasion rzepaku ozimego (Varga i Ducsay, 2011). W fazie intensywnego wzrostu roślin (od wzrostu pędu głównego do kwitnienia) azot korzystnie oddziałuje na masę vegetatywną oraz na liczbę łuszczyń (Wójtowicz, 2013), a także na masę tysiąca nasion (Bouchet i in., 2016; Jankowski i in., 2019). Nawożenie dawkami większymi niż 80-100 kg N·ha<sup>-1</sup> zaleca się dzielić. Pierwszą dawkę wiosenną ( $\frac{1}{2}$ - $\frac{2}{3}$  pełnej dawki) stosuje się w okresie wznowienia wegetacji, natomiast drugą ( $\frac{1}{3}$ - $\frac{1}{2}$  pełnej dawki) w fazie wydłużania pędu, ale nie później niż 3-4 tygodnie po aplikacji pierwszej (Jajor i Mrówczyński, 2016).

W uprawie rzepaku N wpływa na cechy biometryczne oraz elementy struktury plonu takie jak powierzchnia liści, wielkość rozety, liczbę rozgałęzień na roślinie, liczbę i masę łuszczyń na roślinie, masę nasion z rośliny oraz zawartość oleju w nasionach (Rathke i in., 2006; Cheema i in., 2010; Chavarria i in., 2011; Hunková i in., 2011; Sanches i in., 2014; Jankowski i in., 2019). Azot jest najważniejszym składnikiem białek (budulcowych i zapasowych), a także kwasów nukleinowych z których są zbudowane żywe elementy komórki. Jest on konieczny do właściwego wzrostu i rozwoju roślin. Prawidłowe zaopatrzenie roślin w azot obniża skutki presji czynników stresowych, do których zaliczają się choroby i szkodniki (Jajor i Mrówczyński, 2016). Niewystarczające odżywienie N powoduje między innymi niedorozwój organów generatywnych, pąków kwiatowych oraz łuszczyń, w szczególności wykształconych na pędach bocznych (Rice, 2007).

Dostarczenie azotu w odpowiedniej fazie powoduje utrzymanie liści fotosyntetycznie czynnych, a tym samym poprawia produkcję kwiatów i łuszczyń (Ahmad i in., 2006; Gunasekera i in., 2006). Niedobór azotu oraz jego niedostępność we właściwym momencie utrudnia prawidłowy rozwój rzepaku (Chavarria i in., 2011; Bouchet i in., 2016). Niedobór azotu w okresie jesiennego wzrostu prowadzi do wolniejszego rozwoju rozet, co skutkuje nieprawidłowym przygotowaniem roślin do zimy oraz słabszym wytwarzaniem zawiązków organów generatywnych. Oznaką jesiennego niedoboru azotu jest antocyjanowe przebarwienie rzepaku (fot. 1). Konsekwencją nieprawidłowości w wiosennym nawożeniu jest znaczący spadek plonu. Symptodem niedoboru azotu w tym czasie jest słabszy rozwój roślin, który zmniejsza konkurencyjność roślin w stosunku do chwastów, a także zmniejsza ich odporność na abiotyczne i biotyczne czynniki stresowe (Jajor i Mrówczyński, 2016). Objawem niedoboru tego pierwiastka jest jasnozielona barwa wszystkich części nadziemnych oraz żółknięcie liści starszych, powolny wzrost roślin oraz tworzenie cienkich łodyg (Szewczuk, 2013). Przyczynia się to do ograniczenia wzrostu, wcześniejszego kwitnienia i zawiązywania łuszczyń.



W następstwie prowadzi to do dużego spadku plonu (Barczak i in., 2016). Azot występujący w glebie w nadmiarze prowadzi do wybujałości roślin, ich wylegania, opóźnionego dojrzewania, mniejszej odporności na różne patogeny, mniejszej zawartości tłuszczu, a także przyczynia się do gromadzenia w roślinach toksycznych azotanów (V) (Grzebisz i in., 2005). Następstwem tego może być zmniejszenie wartości biologicznej białka w nasionach (Chakraborty i in., 2016). Jesienne przenawożenie azotem rzepaku ozimego powoduje wyniesienie pąka wierzchołkowego przed zimą, co prowadzi do przemarznięcia i strat roślin (Jajor i Mrówczyński, 2016).



Źródło: [http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory\\_service/deficiency\\_symptoms/oilseed\\_rape-n.html](http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory_service/deficiency_symptoms/oilseed_rape-n.html)

Fot. 1. Widoczne objawy niedoboru azotu w okresie jesiennym

Fosfor jest pierwiastkiem, który w środowisku glebowym, w zależności od dostępności dla roślin dzieli się na: fosfor zapasowy (będący naturalnym źródłem P w postaci trudno rozpuszczalnych minerałów, jak apatyty, fosforyty i waryscyt), fosfor ruchomy (do którego zalicza się świeżo strącone bezpostaciowe fosforany glinu i żelaza, kompleksy sorpcyjne oraz wodorofosforany wapnia), fosfor aktywny (będący jedyną formą P przyswajalną dla roślin, do którego należą fosforany zawarte w roztworze glebowym) (Bezak-Mazur i Stoińska, 2013). Fosfor za pośrednictwem wysokoenergetycznych związków fosforanowych jest zasadniczym transporterem i akumulatorem energii w procesach biochemicznych (fotosynteza, metabolizm tłuszczowy, oddychanie oraz przemiany azotowe). Uczestniczy w syntezie białka i tłuszczu. W dużych ilościach występuje w stożkach wzrostu, gdzie spełnia istotną rolę w budowie i wzroście systemu korzeniowego. Wymagania rzepaku w zaopatrzenie fosforem podczas jesiennej wegetacji wynikają z uczestnictwa tego pierwiastka w kształtowaniu systemu korzeniowego.

Natomiast po ruszeniu wiosennej wegetacji jest on konieczny do regeneracji systemu korzeniowego, a na początku kwitnienia do stymulacji pączków wierzchołkowych (Mengel, 1991). Fosfor gwarantuje roślinom harmonijny wzrost i rozwój, zwiększa odporność na przemarzanie, wyleganie oraz niektóre choroby, a także przeciwdziała niekorzystnym skutkom przenawożenia azotem. W glebie dominują związki nieprzyswajalnego fosforu dla roślin. Niedobór aktywnej formy fosforu przez dłuższy okres czasu w warstwie 1÷5 µm wokół korzeni (rizosferze) powoduje niekorzystne zmiany w morfologii i fizjologii roślin (np.: karłowaty wzrost, zmiana zabarwienia liści z ciemnozielonej do czerwonej, przedwczesne obumieranie tych organów, ograniczenie fotosyntezy, opóźnienie kwitnienia, ograniczenie owocowania, mniejszą odporność roślin na mróz, zmniejszenie plonów (Łukaszuk i Ciereszko, 2011). Aby zwiększyć efektywność plonowania, gleby ubogie w związki fosforu uzupełnia się nawozami fosforowymi. Niedostateczna ilość fosforu powoduje również mniejszą skuteczność nawożenia azotem, co zasadniczo wpływa na wielkość plonu oraz dochodowość uprawy rzepaku (Jajor i Mrówczyński, 2016). Niska zawartość fosforu w glebie powoduje, że rośliny wolniej się rozwijają, gorzej zimują oraz słabiej regenerują zimowe uszkodzenia. Niewystarczająco zaopatrzony w fosfor rzepak później kwitnie, dojrzewa i wykształca mniejsze nasiona o niższej zawartości białka oraz fityny (Budzyński, 2010). Symptodem niedoboru fosforu są brunatnozielone przebarwienie starszych liści, które z czasem żółkną, od brzegu czerwienieją oraz częściowo lub całkowicie zamierają (fot. 2). Natomiast nadmierne stosowanie fosforu zakłóca pobieranie cynku, miedzi oraz żelaza (Muśnicki, 1999).



Źródło: [http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory\\_service/deficiency\\_symptoms/oilseed\\_rape-p.html](http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory_service/deficiency_symptoms/oilseed_rape-p.html)

Fot. 2. Symptomy niedoboru fosforu w uprawie rzepaku

Potas wraz z azotem są makroelementami stanowiącymi podstawę skutecznego nawożenia rzepaku ozimego (Gaj, 2010). Rośliny rzepaku ozimego mają bardzo wysokie wymagania pokarmowe, szczególnie w stosunku do potasu. Pierwiastek ten uważany jest za pozostający według prawa Liebiga w tzw. minimum (rys. 1). Spośród wszystkich pierwiastków, potas jest pobierany przez rzepak w największej ilości (Orlovius, 2000), a jego znaczne zapotrzebowanie występuje w okresie maksymalnego wzrostu masy roślin, od ruszenia wiosennej wegetacji do kwitnienia (Jajor i Mrówczyński, 2016). Średnie pobieranie potasu z gleby przez odmiany o wysokiej zdolności plonotwórczej wynosi 250-330 kg K·ha<sup>-1</sup> (Gaj, 2010).



Źródło: Grzebisz, 2003

Rys. 1. Potas jako składnik redukujący plon rzepaku według prawa Liebiga

W roślinie potas występuje w chloroplastach, cytoplazmie oraz w soku komórkowym w postaci jonów K<sup>+</sup>. W odróżnieniu od azotu czy fosforu nie wchodzi w skład trwałych związków organicznych. Jony potasu są bardzo mobilne i dzięki temu w warunkach deficytu z łatwością przemieszczają się ze starszych liści do młodszych. W roślinie pierwiastek ten zarządza gospodarką wodną regulując łącznie z magnezem, sodem oraz wapniem uwodnienie plazmy. Ważną funkcję spełnia w otwieraniu i zamykaniu szparek. Potas wpływa stymulująco na syntezę adenozy-5'-trifosforanu (ATP) i jest koniecznym aktywatorem licznych reakcji enzymatycznych, dzięki którym bierze udział w powstawaniu, przemianie i transporcie asymilatów w roślinie. Zwiększa odporność roślin na różnego rodzaju stresy: choroby, przymrozki, wyleganie i wymarzanie. Zapobiega efektom suszy, a także ma pozytywny wpływ na jakość plonu, zapo-

biegając przy tym zmniejszeniu zawartości tłuszczu, w warunkach aplikacji wysokich dawek azotu (Wałkowski, 2006). Potas w jesiennym rozwoju roślin przyspiesza wzrost stężenia cukrów w komórkach, co powoduje zmniejszenie ryzyka wymarzania, a także gwarantuje szybszy rozwój roślin po ruszeniu wegetacji wiosennej (Pruszyński, 2011). Prawidłowe zaopatrzenie rzepaku w potas wpływa na rozwoju systemu korzeniowego, co pozwala na pobieranie wody z głębszych warstw gleby, a to z kolei umożliwia przetrwać okresowe posuchy. Łącznie z azotem wpływa na zmniejszenie porażenia roślin przez agrofagi, co w konsekwencji przyczynia się do zwiększenia plonu oraz zawartości tłuszczu w nasionach (Grzebisz, 2003). W sytuacji niedoboru potasu pojawiają się płacowe więdnienia roślin co jest efektem nasilonego parowania na skutek utraty zdolności tkanki do zatrzymywania wody (Wałkowski, 2006). Niedostateczna ilość potasu utrudnia racjonalne gospodarowanie wodą. Rośliny tracą zdolność do zatrzymywania wody, co skutkuje zwiększeniem ich podatności na czynniki stresowe. Niska zawartość jonów  $K^+$  w soku komórkowym powoduje większą wrażliwość roślin na przymrozki i susze. Niedostateczne nawożenie rzepaku potasem powoduje wyleganie roślin, spowolnienie dojrzewania oraz zwiększa podatność na choroby. Nasiona zawierają mniej białka i tłuszczu. Niedobory potasu w nawożeniu rzepaku powodują gorsze wykorzystanie azotu, co w konsekwencji przejawia się niższym plonem i mniejszą dochodowością uprawy. Deficyt potasu widoczny jest najpierw na starszych liściach, które żółkną i brunatnieją od krawędzi, a później opadają (fot. 3). Niekorzystne w uprawie rzepaku jest także nadmierne nawożenie potasem. Nadmierne przyswajanie K przez rośliny przyczynia się do zmniejszenia pobierania kationów  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ , co prowadzi do pogorszenia jakości plonu (Jajor i Mrówczyński, 2016).



Źródło: [http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory\\_service/deficiency\\_symptoms/oilseed\\_rape-k.html](http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory_service/deficiency_symptoms/oilseed_rape-k.html)

Fot. 3. Widoczne na liściach objawy niedoboru potasu



W standardowym planie nawozowym pełną dawkę P i K stosuje się w uprawie rzepaku ozimego przed zimą, po to, aby rośliny odpowiednio zaopatrzone w te pierwiastki mogły przed zimą wytworzyć silną rozetę, która zwiększa zdolność przetrwania (Barczak i in., 2016). Składniki te pełnią ważną rolę w okresie jesiennej wegetacji, chociaż przyswajanie fosforu w tym czasie jest małe, to kształtuje on szybkość wzrostu systemu korzeniowego. Jego niedobór w tym okresie jest niekorzystny do prawidłowego przetrwania roślin, natomiast potas w okresie jesiennym wykorzystywany jest w około 20%. Plonotwórcza rola obu wyżej wymienionych pierwiastków ujawnia się wiosną w fazie strzelania w pęd kwiatowy (potas) i wypełniania łuszczyń (fosfor) (Grzebisz i in., 2008). Określając odpowiednią dawkę P i K, trzeba ją prawidłowo zbilansować i skorygować. Ustalając dawkę tych składników, należy wziąć pod uwagę to, że mogą one być dostarczone do gleby z nawozami naturalnymi, a także w przyorywanych resztkach poźniwnych. Fosfor gromadzi się w szczególności w organach generatywnych, co oznacza, że jest wynoszony z pola, wobec tego do gleby powraca w małych ilościach. Istotnym jest, że potas koncentruje się przede wszystkim w organach wegetatywnych, więc razem z przyorywaną słomą do gleby wraca znaczna część pobranego przed rośliną pierwiastka (Budzyński, 2004).

Rzepak ozimy zalicza się do gatunków wymagających gleb o pH 6,5-7,0. Właściwy odczyn pozwala na prawidłowe pobieranie potasu i fosforu oraz sprzyja prawidłowemu ukorzenianiu się roślin. Wapnowanie wpływa na zwiększenie pobierania makroskładników, jednocześnie zmniejszając dostępność mikroskładników (Grzebisz, 2011; Rudko, 2011). Wypieranie wapnia z kompleksu sorpcyjnego oraz sukcesywny wzrost zakwaszenia gleby spowodowany jest brakiem lub sporadycznym stosowaniem nawozów wapniowych. Rzepak ma bardzo duże wymagania w stosunku do wapnia, szczególnie w okresie dojrzewania roślin. Do wyprodukowania 1 tony nasion (wraz z odpowiednią ilością słomy) rośliny pobierają ok 65-70 kg Ca·ha<sup>-1</sup> (Budzyński, 2010). Pierwiastek ten w szczególności odpowiada za stabilizację błon komórkowych oraz zmniejsza ich przepuszczalność. Konieczny jest przy podziałach komórkowych, modyfikuje również procesy enzymatyczne stabilizując pracę enzymów odpowiedzialnych za przemiany ATP-azy,  $\alpha$ -amylazy, cukrowców oraz fosfolipazy. Wapń hamuje procesy starzenia się liści, a właściwa jego ilość ma wpływ na wzrost korzeni oraz tworzenie się włośników. Jego mobilność w roślinie jest słaba, dlatego niezbędna jest jego stała obecność w środowisku glebowym, aby mógł być asymilowany przez cały okres wegetacji. Pobieranie wapnia przez rzepak jest bardzo nierównomierne, jesienią jest niewielkie, zwiększa się wraz z wiosennym ruszeniem wegetacji. Największe pobieranie Ca przypada na fazę pąkowania i kwitnienia (Jajor i Mrówczyński, 2016). Niedobór Ca w glebie powoduje załamywanie się wierzchołków łodyg, osłabia kwitnienie, nasila opadanie kwiatów oraz redukuje liczbę łuszczyń (Rudko, 2011). Niedopuszczalnym zaniedbaniem w uprawie rzepaku jest nieuregulowanie odczynu gleby, który kształtuje właściwości biologiczne, chemiczne i fizyczne gleby, a także decyduje o dostępności pozostałych składników pokarmowych. Nieprawidłowe pH gleby wpływa na spadek dostępności azotu, fosforu, magnezu, potasu i wapnia oraz większości mikroskładników (Grzebisz i in., 2005).

Deficyt wapnia zmniejsza rozwój systemu korzeniowego oraz części nadziemnych. Rośliny krótko kwitną i produkują mniej łąszczyn. Symptodem silnych deficytów jest zwiśanie wierzchołków, obumieranie i opadanie całych kwiatostanów (fot. 4) (Jajor i Mrówczyński, 2016).



Źródło: <https://www.tygodnik-rolniczy.pl/articles/uprawa/nie-ma-wapnia-sa-choroby/?page=1#lead>

Fot. 4. Objawy niedoboru wapnia na plantacji rzepaku

Magnez jest pierwiastkiem, który wchodzi w skład cząsteczki chlorofilu, determinując prawidłowy przebieg fotosyntezy. Oddziałuje on stymulująco na formowanie się nasion w łąszczynach, zwiększa również zawartość tłuszczu w nasionach (Budzyński, 2004; Rudko, 2011). Pierwiastek ten jest także aktywatorem układów enzymatycznych, które regulują istotne procesy (fotosynteza, przemiany energetyczne oraz syntezy białek, węglowodanów i tłuszczów), a także stymulują procesy odpowiedzialne za przyswajanie z gleby składników mineralnych (Jajor i Mrówczyński, 2016). Przyjmuje się, że zapotrzebowanie roślin rzepaku na magnez kształtuje się na poziomie 1 kg MgO na 100 kg możliwego do osiągnięcia plonu (Rudko, 2011). W warunkach klimatycznych Polski istotne jest właściwe zaopatrzenie rzepaku w magnez jesienią. Wpływa to na wzrost korzeni, dzięki którym rośliny skuteczniej pobierają z głębszych warstw gleby wodę i składniki pokarmowe. Rośliny odpowiednio nawożone Mg wykazują większą odporność na niskie temperatury. Wymagania rzepaku w stosunku do Mg rosną wraz z wiosennym ruszeniem wegetacji, gdzie największe pobieranie tego składnika ma miejsce w fazie formowania łąszczyn i tworzenia nasion (BBCH 79-89). W roślinie kontroluje on funkcjonowanie azotu oraz zapobiega opadaniu łąszczyn w okresie dojrzewania (Jajor i Mrówczyński, 2016). Objawy niedoboru magnezu widoczne są na najstarszych liściach, gdzie pojawiają się na nich żółtawe oraz rdzawe plamy (marmurkowatość lub tygrysowatość liści), a tkanki między nerwami zamierają. W odróżnieniu

od objawów niedoboru potasu, brzegi liści nie zasychają i nie pękają, a główne nerwy pozostają długo zielone (Budzyński, 2004; Jajor i Mrówczyński, 2016). Deficyt magnezu najczęściej można zauważyć na glebach zakwaszonych. Symptodem niedoboru magnezu jest słabe kwitnienie roślin oraz wytwarzanie przez nie mniejszej ilości nasion. Niedobór tego pierwiastka ogranicza efektywne nawożenie azotem. Niewystarczające zaopatrzenie roślin w magnez może być wynikiem przenawożenia potasem i wapniem, co utrudnia wchłanianie tego składnika. Magnez nie jest pobierany przez rośliny w niskich temperaturach, toteż objawy jego niedoboru występują najczęściej późną jesienią i wczesną wiosną. Symptomami tymi są: zaczerwienienie liści oraz przejaśnienia pomiędzy nerwami liściowymi. Najczęściej występują na starszych liściach, które przy silnych niedoborach przybierają kolor żółty, a później brunatno-czerwony. Nerwy liściowe pozostają jasnozielone (fot. 5). Pogłębiające się niedobory magnezu mogą pojawić się z czasem na młodszych liściach (Budzyński, 2004).



Źródło: <https://polifoska.pl/porady/177-magnez-kluczowym-pierwiastkiem-w-uprawie-roslin>

Fot. 5. Objawy występowania niedoboru magnezu

Siarka to pierwiastek, który odgrywa ważną rolę w metabolizmie azotu (Rudko, 2011). Potrzeby nawozowe rzepaku ozimego w stosunku do siarki zwiększają się wraz z intensywnym nawożeniem azotem. Stosowanie wysokich dawek azotu, które powodują wzrostu plonu, skutkują zwiększeniem potrzeb pokarmowych w odniesieniu do siarki (Wielebski, 2011; Podleśna, 2013). Na podstawie różnych źródeł (Kotecki i in., 2001; Zukalová i in., 2001; Rudko, 2011) rośliny rzepaku średnio pobierają ok. 40-90 kg S·ha<sup>-1</sup>. Odpowiada to potrzebom pokarmowym w odniesieniu do siarki w ilości 15-20 kg·t<sup>-1</sup> nasion. Według Grzebisza (2011) dla rzepaku ozimego najkorzystniejszy stosunek ilościowy N:S wynosi 4-5:1. Pomimo występowania różnych źródeł siarki w glebie (nawozy mineralne, naturalne, naturalno-organiczne, organiczne, opady atmosferyczne,

przyorywane resztki pozbiorowe), obserwuje się niedobory tego pierwiastka w glebach Polski (Kozłowska-Strawska i Kaczor, 2009; Klikocka i in., 2015) oraz świata (Stern, 2005; Morris, 2007). W szczególności zjawisko to jest następstwem zmniejszenia emisji związków siarki do atmosfery z przemysłowych źródeł (Morris, 2007) oraz mniejszego stosowania nawozów naturalnych i mineralnych mających w składzie siarkę (Szulc i Rutkowska, 2009). Kolejną przyczyną występowania niedoboru siarki jest zwiększenie jej wynoszenia z gleby w wyniku wzrostu produkcji roślinnej. Jest on następstwem intensyfikacji systemów uprawy, lepszego wykorzystania nawozów oraz uprawy odmian wysoko plonujących (Barczak, 2010; Klikocka, 2011). Siarka jest niezbędna do prawidłowego przebiegu najważniejszych procesów metabolicznych: syntezy białek, chlorofilu (Rudko, 2011), tłuszczów i węglowodanów oraz uczestniczy w fotosyntezie (Jajor i Mrówczyński, 2016). Przyczynia się do lepszego wykorzystania azotu z nawozów (Rudko, 2011), spełnia również szczególną funkcję w metabolicznych przemianach azotu, co prowadzi do zwiększenia szybkości procesów transformacji przyswojonego przez rośliny azotu w białko (Rice, 2007). Charakterystycznym objawem niedoboru siarki jest zniekształcenie liści oraz ich przebarwienie na kolor jasnożółty, który z czasem może przybierać barwę brązowożółtą. Liście rzepaku są drobne, przybierają kształt łyżeczkowaty. W fazie kwitnienia płatki kwiatów są jasnożółte do białych (fot. 6). Rośliny są osłabione, słabo rozgałęzione o zniekształconych łuszczykach zawierających niewielką ilość nasion (Rudko, 2011). Niekorzystny jest również nadmiar siarki, który może ograniczyć pobieranie miedzi, molibdenu oraz seleny (Blake-Kalff i in., 2003).



Źródło: <https://www.topagrar.pl/articles/aktualnosci-branzowe-uprawa/bez-siarki-azot-nie-dziala/>

Fot. 6. Objawy niedoboru siarki w uprawie rzepaku



### 2.2.2. Mikroelementy

Mikroelementy determinują przebieg najważniejszych procesów życiowych roślin. Ich rola jest bardzo ważna i specyficzna, pomimo, że są one pobierane w bardzo małej ilości (Marschner, 2011). Pełnią rolę biokatalizatorów, które uczestniczą w stymulacji przemian enzymatycznych. Mikroskładniki aktywują witaminy i substancje wzrostowe oraz uczestniczą w biosyntezie. Wpływają także na proces kwitnienia i zawiązywania owoców oraz zwiększają odporność roślin na stresowe czynniki środowiska. Niedobór mikroskładników może zaburzyć równowagę składników odżywczych w roślinie, a w ostateczności zmniejszyć ilość oraz jakość nasion (Marschner, 2011).

Najważniejszymi mikroelementami w uprawie rzepaku są: bor (B), cynk (Zn), mangan (Mn), miedź (Cu) oraz molibden (Mo). Do prawidłowego przebiegu wzrostu i rozwoju roślin konieczne jest nawożenie mikroskładnikami w ilości: 150 g B·ha<sup>-1</sup>, 500 g Zn·ha<sup>-1</sup>, 270 g Mn·ha<sup>-1</sup>, 50 g Cu·ha<sup>-1</sup>, 4 g Mo·ha<sup>-1</sup> (Sienkiewicz-Cholewa i Stanisławska-Głubiak, 2007). Z kolei dynamika gromadzenia się mikroskładników jest uwarunkowana od fazy rozwojowej roślin (Barczak i in., 2016).

Bor jest najważniejszym mikroelementem w uprawie rzepaku ozimego (Rudko, 2011). Rośliny trawiaste mają niższe zapotrzebowanie na bor oraz są mniej wrażliwe na jego niedobór niż rośliny dwuliścienne (Chormova i in., 2014). Wśród roślin dwuliściennych, tylko dwie rodziny są wrażliwe na niedobór B: *Brassicaceae* (*Brassica* spp. i *Raphanus* spp.) oraz *Chenopodiaceae* (*Beta* spp.) (Shorrocks, 1997). Rzepak pobiera ok. 150 g B·ha<sup>-1</sup>, jednak przy wysokim plonie ilość ta może sięgnąć nawet 500 g B·ha<sup>-1</sup> (Sienkiewicz-Cholewa, 2005). Jest on pobierany równomiernie w trakcie całego okresu wegetacyjnego, chociaż nieco wzrasta w okresie kształtowania nasion (Barczak i in., 2016). Bor wchodzi w skład ścian komórkowych. Odpowiednie nawożenie tym składnikiem zmniejsza pękanie łodyg w fazie wzrostu pędu głównego (Grzebisz, 2011). Pierwiastek ten uczestniczy w procesie podziału oraz różnicowania się komórek stożków wzrostu, korzeni i łodyg. Pełni istotną rolę w przemianach węglowodanów do tłuszczu oraz w syntezie kwasów nukleinowych. Bor potrzebny jest roślinom już jesienią, ponieważ wpływa na właściwy rozwój korzenia głównego oraz ilość cukrów w roślinie. Jest to szczególnie istotne w przygotowaniu roślin do zimowania. Krytyczna faza zapotrzebowania roślin na bor zaczyna się w przypadku gleb ubogich w ten składnik w okresie zwarcia międzyrzędzi (BBCH 30-39), natomiast na glebach zasobnych w okresie pąkowania i kwitnienia (BBCH 60-69) (Podleśna, 2005). Rośliny rzepaku są bardzo wrażliwe na jego niedobór, co wynika z dużej zawartości B w organach generatywnych. Nieuwzględnienie w nawożeniu boru powoduje niezawijanie łuszczyń przez rośliny (Budzyński i Zając, 2010). Nieodpowiednie zaopatrzenie rzepaku w bor powoduje niedorozwój systemu korzeniowego oraz powolną regenerację i odbudowę organów asymilacyjnych po zimie. Pierwsze oznaki deficytu B pojawiają się na młodych liściach, które są pofałdowane, z brzegami podwiniętymi ku dołowi o zabarwieniu czerwono-fioletowym. Symptodem silnego deficytu jest zamieranie stożków wzrostu i pąków kwiatowych, słabe kwitnienie, opadanie kwiatów, a także niewielka ilość za-

wiązanych łuszczyń i nasion co w konsekwencji prowadzi to do niskiego plonu (Jajor i Mrówczyński, 2016). Niedobór boru powoduje zahamowanie wzrostu korzeni (brązowieją oraz przestają rosnąć), liście przybierają barwę ciemnozieloną, a ostatecznie fioletową (fot. 7). Zmiany te mogą powodować martwicę tkanek (Dinh i in., 2022).



Źródło: <https://polifoska.pl/porady/162-bor-kluczowy-mikroskladnik-w-odzywianiu-rzepaku-ozimego>

Fot. 7. Widoczne objawy niedoboru boru w uprawie rzepaku

Cynk jest mikroelementem, który wchodzi w skład wielu enzymów, uczestniczy w metabolizmie białek, węglowodanów, związków fosforowych, a także reguluje przepuszczalność błon komórkowych oraz syntezę auksyn (Korzeniowska, 2009; Jajor i Mrówczyński, 2016). Niska rozpuszczalność cynku w glebach, ale nie niska całkowita zawartość Zn w glebach, jest zasadniczą przyczyną występowania niedoboru Zn w roślinach uprawnych (Cakmak, 2008). Krytyczna faza niedoboru cynku przypada na fazę wydłużenia głównego pędu rzepaku, jednak przyswajanie cynku ograniczone jest przez wysokie pH gleby. Widocznym objawem niedoboru tego mikroskładnika jest występująca na liściach chloroza (Jajor i Mrówczyński, 2016).

Miedź jest pierwiastkiem pobieranym przez rośliny równomiernie w całym okresie wegetacji, jednak minimalnie wzrasta w fazie kształtowania nasion (Barczak i in., 2016). Rośliny pobierają średnio ok 10 g Cu·t<sup>-1</sup> nasion. Miedź pozytywnie wpływa na poprawne wytwarzanie chlorofilu przez rośliny (Jajor i Mrówczyński, 2016). Uczestniczy w procesach oddychania, fotosyntezy metabolizmie błon komórkowych, powstawania białek, reprodukcji nasion oraz pełni funkcję aktywatora enzymów. Niedobór miedzi objawia się chlorozą liści (Kubicka i Jaron, 2011). Symptodem niedoboru tego pierwiastka są widoczne zniekształcenia liści najmłodszych, a także obumieranie w szczególności pąków kwiatowych na wierzchołku rośliny. Niedobór miedzi zmniejsza

sza wiązanie amoniaku w aminokwasy oraz prowadzi do zaburzeń w biosyntezie białek (Jajor i Mrówczyński, 2016).

Mangan pobierany jest przez rośliny rzepaku w ilości około  $270 \text{ g Mn} \cdot \text{ha}^{-1}$  w szczególności w fazie od ruszenia vegetacji do kwitnienia (BBCH 30-60) (Jajor i Mrówczyński, 2016). Odpowiada on za gospodarowanie przez rośliny azotem oraz wpływa na przemiany węglowodanów. W początkowych fazach rozwojowych roślin pobudza wzrost systemu korzeniowego, zwiększając przy tym ich tolerancję na niekorzystne warunki zimowe. Mangan poprawia również rozwój roślin w czasie wiosennego ruszenia vegetacji (Rudko, 2011). Reguluje również proces oddychania i gospodarki żelaza w roślinie, a częściowo również węglowodanami. Hamuje proces fotosyntezy oraz redukuje ilość łąszczyń i zawartość tłuszczu w nasionach. Nieosiągalny jest dla roślin przy pH gleby powyżej 6, a niedobór manganu powoduje pogorszenie mrozoodporności roślin. Objawem deficytu manganu jest mozaikowa chloroza pomiędzy nerwami blaszki liściowej (fot. 8) (Rudko, 2011; Jajor i Mrówczyński, 2016).



Źródło: <https://polifoska.pl/porady/186-zapotrzebowanie-roslin-na-mangan>

Fot. 8. Symptomy niedoboru manganu

Molibden jest drugim mikroelementem, na którego deficyt, rzepak jest w szczególności wrażliwy. Reguluje przemiany azotu i fosforu w roślinie a rzepak pobiera ze średnim plonem ok.  $4 \text{ g Mo} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Jako element reduktazy azotanowej bierze udział w redukcji azotanów, czyli w pierwszej fazie tworzenia białek (Szukalski, 1979). Deficyt molibdenu prowadzi do gromadzenia azotanów, zahamowania syntezy białek oraz osłabienia wzrostu roślin. Do wystąpienia niedoborów tego pierwiastka przyczynia się niska zasobność gleby w wapń. Symptodem deficytu molibdenu jest zniekształcenie liści, gdzie blaszki liściowe wykręcają się łyżeczkowato, a główne nerwy bieleją (fot. 9) (Jajor i Mrówczyński, 2016).



Źródło: <https://nawozy.eu/wiedza/leksykon-nawozenia/rola-skladnikow-pokarmowych/transport-i-objawy-niedoboru-molibdenu.html>

Fot. 9. Oznaki niedoboru molibdenu

### 2.3. Żelazo w glebach oraz czynniki wpływające na jego dostępność dla roślin

Żelazo jest czwartym pod względem zawartości pierwiastkiem występującym w skorupie ziemskiej (Zheng, 2010), aczkolwiek jest trudno dostępny dla roślin. W glebach dobrze napowietrzonych o fizjologicznym pH, stężenia wolnych jonów  $\text{Fe}^{3+}$  i  $\text{Fe}^{2+}$  są mniejsze niż  $10^{-15}$  M, co jest niewystarczające dla optymalnego wzrostu roślin (Marschner, 1995). W wielu rodzajach gleb biodostępność żelaza jest ograniczona dla roślin. Tworzy w środowisku tlenowym nierozpuszczalne kompleksy, które są trudno dostępne w obojętnym lub zasadowym pH (Briat i in., 2007). Ze względu na ograniczoną rozpuszczalność Fe w większości gleb obojętnych i zasadowych, nie ma wystarczającej ilości dostępnego żelaza w ryzosferze, przez co rośliny posiadają ograniczoną zawartość tego pierwiastka (Grotz i Guerinot., 2006). Dla większości roślin, optymalne stężenia rozpuszczalnego Fe wynoszą  $10^{-4}$ - $10^{-8}$  w glebach lekko kwaśnych. Natomiast w glebach wapiennych i zasadowych stężenia  $10^{-9}$  i niższe rozpuszczalnego Fe, są często niewystarczające do wzrostu roślin (Bauer, 2016). Jednak kwasowe gleby siarczanowe charakteryzują się dużą zawartością Fe, ponieważ ich pH jest niskie ( $<3,5$ ) (Muhrizal i in., 2006; Natural Resources Conservation Service, 2010). W warunkach podmokłych najczęściej występującymi formami tlenku żelaza są: maghemit ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), lepidokrokit ( $\alpha\text{-FeOOH}$ ), ferrihydryt ( $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) i getyt ( $\alpha\text{-FeOOH}$ ) (Cornell i Schwartmenn, 1996). Czynnikiem wpływającym na rozpuszczalność oraz reaktyw-



ność tlenków żelaza są: warunki środowiskowe, pH gleby i potencjał redoks gleby (Eh) (Satawathananont i in., 1991).

## 2.4. Żelazo w roślinach

### 2.4.1. Zawartość żelaza w roślinach

Rośliny dla utrzymania odpowiedniego wzrostu potrzebują Fe w stężeniu  $10^{-9}$ - $10^{-4}$  M (Guerinot i Yi, 1994). Najważniejszymi miejscami w komórkach roślinnych, w których gromadzi się najwięcej żelaza są chloroplasty i mitochondria. Organelle te potrzebują Fe do przeprowadzenia procesów metabolicznych oraz magazynują one Fe do późniejszego wykorzystania. Konieczne jest to do regulowania zawartości Fe, nie tylko na poziomie komórkowym, ale również całego organizmu (Jeong i Guerinot, 2009). W komórkach mezofilu ok. 70-90% Fe jest skumulowane w chloroplastach (Nouet i in., 2011). W liściach ok. 80% Fe znajduje się w plastydach (Chakraborty i in., 2016). W plastydach znajduje się białko ferrytyna, które gromadzi do 4500 atomów żelaza (Hintze i Theil, 2006).

### 2.4.2. Pobieranie żelaza przez rośliny

Żelazo jest przyswajane z gleby przez korzenie roślin (Briat i in., 2007; Kim i Guerinot, 2007). Bezwzględne wymagania dotyczące żelaza potrzebnego dla całego okresu życia rośliny oraz jego biologiczna reaktywność są podstawą złożonych struktur systemów transportowych oraz mechanizmów regulacyjnych skierowanych na transportery, żeby zagwarantować odpowiednie i bezpieczne dostarczenie Fe do miejsca jego przeznaczenia. Te czynności transportowe zawierają: asymilowanie Fe ze środowiska, dostarczenie Fe do różnych tkanek, narządów i organelli (Morrissey i Guerinot, 2009; Ancuceanu i in., 2015). Pozyskiwanie żelaza przez rośliny jest utrudnione ze względu na niską rozpuszczalność Fe w roztworze gleby (Guerinot i Yi, 1994). Ważne jest, żeby rośliny pobierały odpowiednią ilość żelaza, która sprostą wymaganiom poszczególnych narządów, typów komórek i organelli, unikając przy tym nadmiernego przyswojenia Fe. Wiadomym jest, że pobieranie, magazynowanie i translokacja żelaza, są starannie regulowanymi procesami (Briat i in., 2007; Kim i Guerinot, 2007). Rośliny, w przeciwieństwie do zwierząt i ludzi, posiadają zdolność rozpuszczania Fe z cząstek gleby i przenoszenia do swoich komórek (Bauer, 2016). Rośliny aktywnie mobilizują Fe w glebie i pobierają je za pomocą dwóch różnych strategii (Jeong i Connolly, 2009; Bauer, 2016). Strategia I, do której należą rośliny dwuliścienne i jednoliścienne z wyjątkiem traw, polega na rozpuszczaniu Fe przez zakwaszenie gleby i redukcję Fe, a następnie pobieranie zredukowanego (żelazawego) jonu  $Fe^{2+}$ . Strategia II, występująca u roślin z rodziny *Poaceae*, opiera się na rozpuszczaniu (żelazowego) jonu  $Fe^{3+}$  przez chelatowanie z fitosferoforami (Bauer, 2016).

### 2.4.3. Funkcje żelaza w roślinach

Żelazo (Fe) jest jednym z niezbędnych mikroskładników odżywczych dla roślin, koniecznym do ich prawidłowego wzrostu i rozwoju (Jeong i Guerinot, 2009; Prasad i in., 2014b). Wymagane jest w procesach utrzymujących życie roślin, od oddychania do fotosyntezy, gdzie bierze udział w przemieszczaniu elektronów przez odwracalne reakcje redoks, przechodzące między  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{3+}$  (Guerinot i Yi, 1994). Żelazo jest niezastąpionym kofaktorem w procesach metabolicznych, do których należy transport elektronów oddechowych. Rośliny, jako organizmy fotosyntetyczne potrzebują Fe do biosyntezy chlorofilu (Jeong i Connolly, 2009; Kobayashi i Nishizawa, 2012). Wykorzystywane przez metabolizm komórkowy kofaktory, które zawierają Fe, w formie hemu lub klastrów Fe-S służą do przenoszenia elektronów, do których zalicza się fotosynteza chloroplastów oraz oddychanie mitochondrialne. Możliwość pobierania i tracenienia elektronów powoduje, że żelazo staje się potencjalnie toksyczne. W obecności tlenu Fe uczestniczy w reakcji Fentona i powstają bardzo toksyczne reaktywne formy tlenu (Briat i in., 2007; Vranová i in., 2000; Li i in., 2015).

Pozytywny wpływ Fe na biomasę roślinną i produkcję nasion jest zależny od występowania ferrytyn (Briat i in., 2010). Ferrytyny, poprzez buforowanie Fe, precyzyjnie dostarczają ilość składnika potrzebną do celów metabolicznych oraz pomagają roślinom przetrwać w niekorzystnych warunkach, których szkodliwe skutki zostałyby wzmożone, gdyby żaden system nie rozwinął się, aby zająć się wolnym reaktywnym żelazem (Morrisey i Guerinot, 2009). Zasadniczą rolę odgrywają tu białka hemowe i żelazowo-siarkowe.

### 2.4.4. Niedobór i nadmiar żelaza

Niewystarczające wchłanianie żelaza prowadzi do objawów niedoboru tego składnika, które wywołuje chlorozę międzywęzłową w liściach i zaburzenia procesów fizjologicznych (Guerinot i Yi, 1994). Niedobór żelaza ogranicza często wzrost roślin, co powoduje problemy w rolnictwie (Jeong i Guerinot, 2009; Prasad i in., 2014b).

Fe może być także toksyczne dla roślin, jeśli gromadzi się do nieodpowiednio wysokich poziomów. Ma to miejsce wtedy, gdy wolne żelazo bierze udział w reakcji Fentona i wytwarza cytotoksyczne rodniki hydroksylowe (Briat i in., 2007; Vranová i in., 2000; Li i in., 2015).

Rozpuszczalność i dostępność żelaza w glebie są bardzo zmienne w zależności od pH gleby i Eh (potencjał redoks). W wyniku tego niedobór żelaza może wystąpić w warunkach gleb zasadowych i utleniających, natomiast Fe w nadmiarze może występować w warunkach gleb kwaśnych i zalanych. Sytuacje te mogą wywoływać poważne zaburzenia żywieniowe. Niedobór żelaza, a także trudności w jego pobraniu lub wchłanianiu powodują anemię u ssaków oraz chlorozę u roślin. Nadmiar Fe i zwiększone jego przyswajanie, przewyższając tym samym pozakomórkową zdolność wiązania Fe oraz wewnątrzkomórkową zdolność magazynowania Fe, prowadzi do stresu oksydacyjnego,

a także do trwałego uszkodzenia komórek oraz tkanek (Zheng, 2010; Jeong i Guerinot, 2009; Prasad i in., 2014b).

Strategia I roślin (należące do roślin dwuliściennych i nietrawiastych roślin jednoliściennych) to reagowanie na niedobór Fe przez indukcję korzeniowej reduktazy chelatowej (FCR) w błonie plazmatycznej, uwalniając protony, które zakwaszają glebę ryzosfery wydzielając kwasy organiczne lub reduktory, takie jak związki fenolowe. Jednak funkcja tych związków fenolowych w zależności od odżywiania roślin Fe jest nadal niejasna (Zheng, 2010).

## 2.5. Rola żelaza w organizmie ludzi

W organizmie ludzkim żelazo występuje w ilości 3-4 g (Erdman i in., 2012) i jest składnikiem grup prostetycznych wielu istotnych białek z rodziny metaloprotein (mioglobiny, hemoglobiny), a także centrów aktywnych licznych enzymów (cytochromów, katalaz, peroksydaz). Powoduje to, że jest niezbędnym mikroelementem, koniecznym do właściwego przebiegu głównych procesów biologicznych (Andrews, 2008). Kation Fe wchodząc w skład żelazo-porfiryny (hemu) uczestniczy w wiązaniu ligandów, oraz posiada możliwość zmiany stopnia utlenienia (Ponka, 1999). Udział w wiązaniu ligandów wykorzystywany jest w hemoglobinie. Jest on odpowiedzialny za przyłączenie cząsteczki tlenu bądź dwutlenku tlenu i ich transport w krwiobiegu. Proces zmiany stopnia utlenienia przebiega w centrach żelazowo-siarkowych oraz cytochromach, polega na naprzemiennych reakcjach utleniania i redukcji. Wykorzystywany jest w jednym z etapów oddychania komórkowego (Hentze i in., 2010). Żelazo bierze również udział w regulacji czynności układu nerwowego oraz jest niezbędnym elementem do właściwego funkcjonowania układu odpornościowego (Frewin i in., 1997; Andrews, 2008; Hentze i in., 2010). Do grupy najbardziej narażonych na niedobór żelaza zalicza się dzieci do 2 lat, młode kobiety, kobiety ciężarne i karmiące, osoby w podeszłym wieku, sportowców, wegetarian, pacjentów z przewlekłą chorobą nerek i hemodializowanych, a także chorych z zaburzeniami wchłaniania (Frewin i in., 1997; Szczeklik, 2005). Zasadniczymi przyczynami niedostatecznej ilości Fe w organizmie są: utrata krwi, niedobór żelaza w diecie oraz zaburzenia jego wchłaniania (Frewin i in. 1997). Pierwszym symptomem niewystarczającej ilości żelaza jest spadek ferrytyny w surowicy krwi poniżej  $12 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Caquet, 2009). Następnym objawem niedoboru Fe jest niedokrwistość, która przejawia się spadkiem stężenia hemoglobiny poniżej  $12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  u kobiet i  $14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  u mężczyzn (Sułek, 2003). Głównymi objawami niedokrwistości są: osłabienie, zmniejszenie odporności i sprawności psychicznej, błądliwość skóry i spojówek, łamliwość włosów i paznokci, zajady w kącikach ust, zanik brodawek językowych, biegunki (Orlicz-Szczęsna i in., 2011). Występowanie w organizmie nadmiaru żelaza spowodowane jest w szczególności dziedziczną hemochromatozą, chorobami wymagającymi licznych transfuzji krwi oraz schorzeniami wątroby (Pietrangelo, 2010). Następstwem tego nadmiaru może być: skłonność do infekcji, ograniczone wchłanianie innych składników mineralnych (zwłaszcza cynku i miedzi), zwiększenie produkcji wolnych

rodników, który prowadzi do wzrostu ryzyka choroby wieńcowej i nowotworów, gromadzenie Fe w tkankach i ich uszkodzenie (np. szpiku kostnego, niedokrwistość trzustki, cukrzyca, marskość wątroby) (Shander i Sazama, 2010). O nadmiarze Fe w organizmie wskazuje w szczególności: wzrost poziomu ferrytyny w surowicy (powyżej 300  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), wzrost poziomu wysycenia żelazem transferryny (powyżej 60%) oraz gwałtowny wzrost koncentracji wolnego Fe we krwi (powyżej 1800  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) (Cook i in., 1992).

## **2.6. Wzrost i rozwój roślin w początkowych fazach oraz sposoby jego oceny**

### **2.6.1. Wymiana gazowa i fluorescencja**

Fotosynteza jest najważniejszym czynnikiem determinującym proces akumulacji biomasy przez rośliny, a przez to wpływa na wytworzenie ostatecznego plonu (Bolhàr-Nordenkamp i Öquist, 1993; Reddy i in., 2004). Wzrost stężenia dwutlenku węgla może pozytywnie wpływać na wegetację roślin, wydajność fotosyntezy, a przez to na wzrost i rozwój roślin (Neukirchen i Lammel, 2002; Kocoń i in., 2004; Pater i in., 2017). Każda zmiana występująca w otoczeniu, powodująca zmiany w przebiegu procesów metabolicznych i fizjologicznych, ma wpływ na proces fotosyntezy (Cetner i in., 2016; Pater i in., 2017; Dellerio i in., 2021). Jak donoszą Hong i in. (2005), Mingyu i in. (2007), Sarmast i Salehi (2016), Zarate-Cruz i in. (2016) oraz Cao i in. (2018) wzrost oraz rozwój a przede wszystkim plonowanie roślin są wynikiem aktywności podstawowych procesów fizjologicznych, takich jak: asymilacja i transpiracja. Wzrost siewek rzepaku są kluczowymi etapami życia roślin, zwłaszcza w obliczu stresów abiotycznych (Haj Sghaier i in., 2022). Natomiast niewiele jest doniesień na temat wpływu nanocząstek na rozwój roślin rzepaku w tym na proces fotosyntezy czy fluorescencji chlorofilu a. Badanie cech liści jest istotne dla poprawy produkcji liści rzepaku i optymalizacji zarządzania uprawami (Xiong i in., 2017).

Rolnictwo jest gałęzią gospodarki, zależną w szczególności od klimatu i wpływu stresów środowiska, które przede wszystkim oddziałują na proces fotosyntezy (Michalek, 1999; Chaves i in., 2002). Efektywność tego procesu uzależniona jest w dużym stopniu od współdziałania abiotycznych czynników środowiska, do których należą między innymi: nieoptymalna temperatura przy dużej intensywności światła i UVB, podwyższone stężenie  $\text{CO}_2$  w otoczeniu, niedobór wody i składników mineralnych. Powyższe czynniki występując razem lub w nasilonym natężeniu mogą wywoływać warunki stresowe spowalniające reakcję fotosyntezy (Michalek, 1999; Chaves i in., 2002; Murkowski, 2002; Reddy i in., 2004).

Najważniejszym organem w procesach fotosyntezy i transpiracji roślin są liście. Bezpośredni wpływ na te procesy, które wpływają na wzrost i fazę rozwojową roślin, ma wielkość komórek szparkowych, mezofilnych i chloroplastów (Klamkowski i in., 2008; Musse i in., 2013; Lawson i in., 2014; Chrobok i in., 2016; Tamary i in., 2019). Morfologia liści wykazuje plastyczność, a przebieg procesu fotosyntezy oraz struktura liści są różne w zależności od natężeniach światła (Dellerio i in., 2021). Intensywność światła nie sprzyja również wzrostowi roślin, a wysokie natężenie światła może dopro-



wadzić do więdnienia liści, zmniejszenia powierzchni liści i zawartości chlorofilu, oraz efektywności fotosyntezy (Aarti i in., 2007; Sun i in., 2008; Guha i in., 2022).

Według Kalaji (2011) proces fotosyntezy jest w szczególności wrażliwy na nie-sprzyjające warunki klimatyczne. Zmniejszenie intensywności fotosyntezy na skutek niedoboru wody jest związane ze spadkiem aktywności RuBisCo (karboksylaza/ oksygenaza rybulozo- 1,5- bisfosforanu) oraz ze zmniejszeniem przewodności dyfuzyjnej szparek i przez to ograniczeniem dostępności dwutlenku węgla (Gago i in., 2020; Dellerio i in., 2021).

Przewodnictwo szparkowe liści (Gs) wyrażone jest w  $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  i określa stan aparatów szparkowych, które bezpośrednio wpływają na asymilację dwutlenku węgla (Jones, 1998; Maleszewski in., 2003). Głównymi czynnikami, które wpływają na ten parametr są: a) wilgotność powietrza, zawartość wody w tkankach, dostępność wody glebowej oraz trudności z jej pobieraniem i transportem w roślinie, b) intensywność i jakość napromienienia oraz przebieg reakcji świetlnych fotosyntezy, c) koncentracja  $\text{CO}_2$  i jego fotosyntetyczna asymilacja (Maleszewski i in., 2003). Wartość bezwzględna Gs jest zależna od zagęszczenia, stopnia otwarcia i długości kanałów aparatów szparkowych (Klamkowski i in., 2008; Lawson i in., 2014).

Intensywność transpiracji w szerokim zakresie jest zależna od stanu aparatów szparkowych. Podczas ich całkowitego otwarcia proces ten jest porównywalny do parowania lustra wody. Natomiast ich absolutne zamknięcie powoduje zmniejszenie natężenia transpiracji powyżej 95% (Fu i in., 2000; Schroeder i in., 2001; Pater i in., 2017; Dellerio i in., 2021; Geng i in., 2021). W zapobieganiu utracie wody i umożliwianiu prawidłowego przepływu  $\text{CO}_2$  między atmosferą a rośliną podstawową funkcję spełniają w roślinach aparaty szparkowe (Dellerio i in., 2021). Z wodą związanych jest wiele procesów życiowych roślin, a jeżeli dojdzie do jej niedoboru to wystąpią zaburzenia. Zwykle występujące w podłożu niedobory wody zakłócają gospodarkę wodną roślin, a ich efektem są m.in. ograniczenia w transpiracji i zamykaniu aparatów szparkowych. W następstwie dochodzi do ograniczenia pobierania  $\text{CO}_2$  i spowalniania procesu fotosyntezy (Jones, 1998; Vranová i in., 2000; Maleszewski in., 2003; Li i in., 2015; Pater i in., 2017; Dellerio i in., 2021). Jeżeli wystąpi łagodny deficyt wody to w roślinach najczęściej będą zmiany biochemiczne, które spowodują przystosowanie do życia w zmienionych warunkach. Wyraźny deficyt wody w podłożu może prowadzić do zmian funkcjonalnych i strukturalnych w aparacie fotosyntetycznym. W efekcie zostanie ograniczony wzrost a tym samym i produktywność roślin (Lawlor i Tezara, 2009).

Regulacja wymiany gazowej ma istotne znaczenie w bilansie wodnym oraz pobieraniu dwutlenku węgla. Kontrolowanie stężenia  $\text{CO}_2$  międzykomórkowego (Ci) jest procesem złożonym, który zależy między innymi od potencjału wodnego liści, intensywności transpiracji (E), a także od czynników, takich jak gradienty stężenia  $\text{CO}_2$  oraz jakości i natężenie światła (Shimazaki i in., 2007; Gago i in., 2020; Dellerio i in., 2021).

Gospodarkę wodną roślin w okresie ich wegetacji wyrażają dwa współczynniki: fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE- photosynthetic Water Use Efficiency) i chwilowy fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUEI-

photosynthetic Intrinsic Water Use Efficiency). WUE oznacza się na podstawie ilorazu intensywności fotosyntezy do transpiracji ( $Pn/E$ ), zdeterminowane w szczególności przez warunki środowiskowe (zewnętrzne) (Olszewska i in., 2010). WUE wyrażony jest w  $mmol \cdot mol^{-1}$  (Maleszewski i in., 2003), natomiast WUEI wyznacza się na podstawie ilorazu intensywności fotosyntezy do przewodnictwa szparkowego ( $Pn/Gs$ ). Wskaźnik ten jest zdeterminowany przede wszystkim warunkami genetycznymi (wewnętrznymi samej rośliny) (Musse i in., 2013; Sorin i in., 2015; Dellerio i in., 2021).

Istotnym wskaźnikiem sprawności procesu fotosyntezy jest intensywność i charakter emisji fluorescencji chlorofilu z aparatu fotosyntetycznego. W warunkach naturalnych aparat ten traci od 0,5 do ok. 5% pochłoniętej wcześniej energii (Bolh r-Nordenkamp i  quist, 1993; Kalaji, 2011). Analiza parametrów indukcji fluorescencji chlorofilu umożliwia ocenę naturalnie zachodzących zmian w funkcjonowaniu tego aparatu, które występują w przebiegu ontogenezy, oraz pozwala oceni  negatywne oddziaływanie czynników  rodowiska na prawidłowy przebieg reakcji fazy  wiatlnej, a także sprawno c całej fotosyntezy (Murkowski, 2002; Dai i in., 2009; Singh i in., 2022). Kautsky i Hirsch (1931) wykazali na podstawie przebiegu krzywej indukcji fluorescencji chlorofilu, że występuje odwrotna zależnośc między intensywnością fluorescencji, a intensywnością fotosyntezy (wyznaczonej jako asymilacja dwutlenku węgla w czasie).

Nieinwazyjny pomiar fluorescencji chlorofilu umożliwia określenie, oprócz aktywności fotosyntetycznej, reakcj  rośliny na niekorzystne warunki  rodowiska, do których zalicza się zacienienie, występowanie zanieczyszczeń oraz niedobory makro- i mikroelementów (Kalaji, 2011). Nat nienie fluorescencji ulega różnym zmianom w zależności od nasilenia stresu i czasu jego trwania. Przed pojawieniem się pierwszych widocznych oznak uszkodzenia, możliwe jest wykrycie tych zmian u roślin w warunkach stresu za pomocą fluorescencji chlorofilu (Kalaji i  oboda, 2009; Kalaji 2011; Kalaji i in., 2014; Kalaji i in., 2018). Uwzględniając fluorescencj  chlorofilu nie można aktualnie wyrazi  charakteru stresu, ale może ona posłu y  jako wyznacznik selekcji w ochronie  rodowiska lub hodowli roślin. Pomiar fluorescencji pozwala oceni  ogólny stan fizjologiczny roślin (Kalaji i Guo, 2008; Kalaji i  oboda, 2009; Kalaji 2011; Kalaji i in., 2014; Kalaji i in., 2018).

Mierzonymi parametrami są między innymi:

- a)  $F_0$  – fluorescencja początkowa (zerowa) po adaptacji do ciemności. Jest ona wskaźnikiem strat energii wzbudzenia w trakcie jej przekazywania z anten energetycznych do centrum reakcji PSII (Murkowski, 2002). Wysokie wartości tej fluorescencji oznaczają mniejszą sprawno c przekazywania energii wzbudzenia między cząsteczkami chlorofilu. Parametr ten jest pierwszym punktem na krzywej indukcji fluorescencji chlorofilu (Cetner i in., 2016).
- b)  $F_M$  – fluorescencja maksymalna po adaptacji do ciemności. Jest to największe nat nienie fluorescencji. Zmniejszenie tego parametru w stosunku do próby kontrolnej wskazuje na wystąpienie stresu, w wyniku czego nie wszystkie akceptory elektrodów PSII zostały całkowicie zmniejszone (Kalaji i  oboda, 2009).

- c)  $F_V/F_M$  – maksymalna fotochemiczna wydajność PSII. Wartość tego parametru w optymalnych warunkach wzrostu rośliny powinna wynosić w granicach 0,83 jednostek względnych (Angelini i in., 2001). Zmniejszenie wartości fotochemicznej wydajności PSII wskazuje na wystąpienie stresu. Wartości parametru w zakresie 0,2-0,3 świadczą o nieodwracalnych przemianach w strukturze PSII (Cetner i in., 2016), gdzie fotochemiczna wydajność PSII jest nieproporcjonalna w stosunku do natężenia fotosyntezy (wyrażonej przez asymilację dwutlenku węgla, czy wydzielanie  $O_2$ ) (Maxwell i Johnson, 2000).

## 2.6.2. Wskaźniki wzrostu i rozwoju

Analiza wskaźnikowa wzrostu wykorzystywana do oceny oraz prognozowania produktywności roślin umożliwia obserwowanie ich wydajności fotosyntetycznej. W znacznym stopniu zależy od wielkości aparatu asymilacyjnego całych roślin w łanie, a także długości życia organów, które w największym stopniu decydują o procesie fotosyntezy (Michałek i Sawicka, 2005; Dai i in., 2009; Kalaji, 2011; Cegieski i in., 2016; Singh i in., 2022).

W celu poznania rozwoju i produktywności roślin wykorzystuje się wybrane wskaźniki analizy wzrostu roślin (tab. 1):

- a) intensywność asymilacji netto (NAR – ang. Netto Assimilation Rate), jednostkowa produktywność liści (ULR – ang. Unit Leaf Rate) jest ona składnikiem fizjologicznym, mierzącym ilość dziennej fotosyntezy netto całej rośliny, wyrażona na podstawie tempa zmian zawartości węgla roślinnego (Poorter i Van der Werf, 1998; McKenna i Shipley, 1999; Poorter, 1999). Wskaźnik ten wyrażany jest w gramach suchej masy  $\cdot dm^{-2}$  ( $m^{-2}$ )  $\cdot doba^{-1}$  (tydzień $^{-1}$ ) (Krzywański i Wójcik-Wojtkowiak, 2002).
- b) względna intensywność wzrostu (RGR – ang. Relative Growth Rate) zdeterminowana jest przez różnice w fizjologii, morfologii i podziałach biomasy występujące u roślin. Udział tych trzech czynników jest zazwyczaj oceniany przez rozkładanie RGR do typowych składników wzrostu (szybkość asymilacji netto, powierzchnia właściwa liści i stosunek masy liści) (Shipley, 2006). Zmiany występujące we względnej intensywności wzrostu dzielą się na składnik asymilacyjny (NAR – intensywność asymilacji netto) oraz na składnik morfologiczny (LAR – wskaźnik ulistnienia) (Hunt i in., 2002). We względnej intensywności wzrostu występują duże różnice międzygatunkowe (Grime i Hunt, 1975), choćby w przypadku porównywania gatunków roślin rosnących w jednakowych warunkach środowiskowych i pozbawionych konkurencji. Jeśli środowisko zewnętrzne jest stałe to różnice międzygatunkowe są wywołane różnicami międzygatunkowymi w fizjologii i morfologii roślin (Shipley, 2002);
- c) specyficzna powierzchnia liściowa, powierzchnia właściwa liści (SLA – ang. Specific Leaf Area) to stosunek powierzchni liści ( $cm^2$ ) do nagromadzonej w nich suchej masy (g). SLA jest składnikiem morfologicznym, ponieważ zależy od stężenia suchej masy i grubości liści (Fageria i in., 2005; Baligar i in. 2021);

- d) wskaźnik masy liści (LWR – ang. Leaf Weight Ratio) mierzy przydział biomasy do liści i innych części roślin (Shipley, 2002), inaczej jest to stosunek całkowitej masy liści na roślinie (g) do całkowitej masy całej rośliny (g) (Fageria i in., 2005);
- e) wskaźnik ulistnienia (LAR – ang. Leaf Area Ratio) jest to stosunek całkowitej powierzchni liści na roślinie (cm<sup>2</sup>) do całkowitej suchej masy rośliny (g) (Fageria i in., 2005).

Intensywność asymilacji netto (NAR), względna intensywność wzrostu (RGR), specyficzna powierzchnia liściowa (SLA), wskaźnik masy liści (LWR), wskaźnik ulistnienia (LAR) są wskaźnikami stosowanymi często w ocenie efektywności środowiskowej oraz zdolności produkcyjnej roślin (Karimi, 2005; Ahmadi i in. 2014; Fageria i in., 2005; Kumar i in., 2016; Baligar i in. 2021).

Tab. 1. Wybrane wskaźniki analizy wzrostu roślin

Parametr	Wzór	Jednostka	Źródło
<b>NAR</b>	$\frac{(\ln L2 - \ln L1 / t2 - t1) \times (W2 - W1 / L2 - L1)}{}$	g·cm <sup>-2</sup> ·d <sup>-1</sup>	Kumar i in., 2016
<b>RGR</b>	$\frac{(\ln W2 - \ln W1) / (t2 - t1)}{NAR \times LAR}$	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> g·g <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	Kumar i in., 2016 Hunt i in., 2002
<b>SLA</b>	$\frac{L/LW}{SLA = (L1 / LW1 + L2 / LW2) / 2}$	cm <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup>	Fageria i in., 2005 Kumar i in., 2016
<b>LWR</b>	$LW / W$	g·g <sup>-1</sup>	Fageria i in., 2005
<b>LAR</b>	$L / W$	cm <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup>	Fageria i in., 2005
gdzie: W – całkowita sucha masa całej rośliny, L – całkowita powierzchnia liści na roślinie, LW – całkowita sucha masa liści na roślinie, t <sub>1</sub> i t <sub>2</sub> – przedział czasu (dni), 1 – pierwszy termin analizy, 2 – drugi termin analizy, ln – logarytm naturalny			

Źródło: opracowanie własne

## 2.7. Nanotechnologia i nanonauka

Nanotechnologia to nowoczesny, innowacyjny a zarazem najbardziej rozwijający się obszar wiedzy, o ogromnych możliwościach oddziaływania na właściwości atomów, molekuł i struktur molekularnych, o wymiarach nanometrycznych. Termin „nanotechnologia” został użyty po raz pierwszy w 1974 roku przez Norio Taniguchi (Hassanien i in., 2018). Nanonaukę określa się jako analizę zjawisk i manipulacji materiałami w skalach atomowych, molekularnych i makromolekularnych, których właściwości są różne od tych w skali makro (Mannino i Scampicchio, 2007).

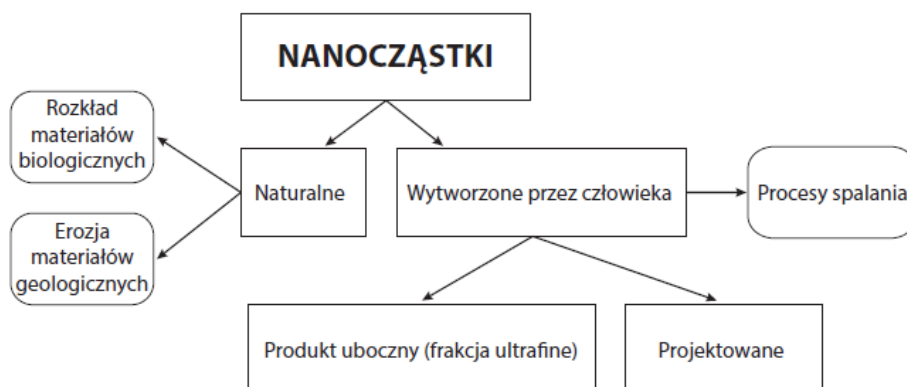
Zakłada się, że nanotechnologia zrewolucjonizuje wszystkie gałęzie gospodarki oraz społeczeństwa (Predicala, 2009; Prasad i in., 2014a; Hassanien i in., 2018; Kaiser, 2018).

### 2.7.1. Nanocząstki

Struktury otrzymywane w rozmiarze nano, wytwarzane są wzorując się na nanostrukturach znajdujących się w przyrodzie (białka, DNA, membrany i inne naturalne biomolekuły) (Hassanien i in., 2018).

Nanocząstki podlegają prawom mechaniki kwantowej. Chemiczne oraz fizyczne ich właściwości (np. chemiczna aktywność i szkodliwość, rozpuszczalność, trwałość, zabarwienie) mogą być całkowicie różne od tych, jakie posiadają większe cząsteczki tego samego związku (Golmohammadi i in., 2017; Hassanien i in., 2018).

Ze względu na sposób powstawania nanocząstki można podzielić na naturalne i wyprodukowane przez człowieka (rys. 2). Nanocząstki mogą być osadzone w fazie stałej, zawieszone w formie aerozolu w fazie gazowej a w fazie ciekłej jako roztwór koloidalny (Świdwińska-Gajewska, 2007).



Źródło: Świdwińska-Gajewska, 2007; Jung, 2014

Rys. 2. Podział nanocząstek ze względu na sposób powstawania

Zasadniczym czynnikiem ogromnego zainteresowania nanocząstkami są ich unikalne cechy: m. in. zdolność do chemicznej modyfikacji, wysoki współczynnik stosunku powierzchni do objętości a także nowe, niezwykle właściwości, szczególnie powierzchniowe. Zastosowanie nanocząstek zapewnia szereg korzyści, jednak niesie za sobą pewne ryzyko związane z ich występowaniem w środowisku (Piegat, 2010).

### 2.7.2. Zastosowania nanotechnologii

Nanomateriały posiadają szeroki wachlarz zastosowań w wielu technologiach, który prowadzi do ciągłego wzrostu produktów z ich udziałem. Produkcję na lata 2011-

2020 oszacowano na 58 tysięcy ton nanomateriałów, podczas gdy w 2004 roku produkcja ta wyniosła jedynie 2 tysiące ton (Singh, 2016). Inwestycje związane z wytwarzaniem nanocząstek w latach 2011-2015 wyniosły ponad 1000 miliardów dolarów w skali światowej. Nanomateriały mają zastosowanie w wielu gałęziach przemysłowych: chemicznej, elektronicznej, farmaceutycznej, kosmetycznej, lotniczej, obuwniczej, samochodowej, spożywczej, tekstylnej, zbrojeniowej oraz w medycynie i rolnictwie. Posiadając właściwości bakteriostatyczne oraz dezodoracyjne, nadają się do produkcji nanopowłok wykorzystywanych do pokrywania umywalek, wanien, zlewozmywaków, pomieszczeń szpitalnych a także innych powierzchni o dużej intensywności zapachów. Zakłada się, że w najbliższym czasie nanomateriały będą stosowane w inżynierii środowiskowej do nadzorowania zanieczyszczeń i oczyszczania (Singh, 2016; Hassanien i in., 2018).

Zmienione właściwości nanocząstek dają możliwości wytworzenia wielu nowych artykułów oraz zwiększają obszar ich przeznaczenia. Nanocząstki są używane w sporej ilości produktów komercyjnych. Należą do nich: kosmetyki powodujące dyfrakcję (ugięcie) światła, przezroczyste filtry przeciwsłoneczne, nawilżacze o zwiększonej możliwości penetracji, substancje odplamiające, przeciw zapachowe, odpychające brud, długotrwałe lakiery i farby do mebli (Predicala, 2009; Prasad i in., 2014a; Hassanien i in., 2018; Kaiser, 2018).

Budowa niejonowych substancji nanocząstkowych, a także ich ogromna powierzchnia czynna powoduje, że są one bardzo skuteczne w zwalczaniu patogenów (bakterii, grzybów, prionów oraz wirusów), ponieważ nie wytwarzają one charakterystycznych mechanizmów obronnych (Pérez-de-Luque i Rubiales, 2009; Prasad i in., 2014a).

### 2.7.3. Zastosowanie nanocząstek w rolnictwie

Nanotechnologia pozwala na wprowadzenie do upraw nowych, potencjalnie skutecznych nawozów chemicznych, pestycydów oraz regulatorów wzrostu roślin (Pérez-de-Luque i Rubiales, 2009; El-Gioushy i in. 2021). Zapewnia również korzystne dla środowiska sposoby zwiększania produkcji roślinnej między innymi za pomocą: nanonawozów, nanopestycydów, nanokapsułkowania, nanopowłok, kiełkowania nasion oraz tolerancji na stres, które wspierają efektywność rośliny w przyswajaniu składników pokarmowych i zapewnia kontrolowane uwalnianie substancji w pożądanej lokalizacji (Khan i in., 2019). Nanobiotechnologia roślin oferuje rozwój, zwiększenia tolerancji na stres, wczesne wykrywanie stresu, dostarczanie ukierunkowanego i kontrolowanego uwalniania agrochemikaliów, umożliwia zdarzenia transgeniczne w gatunkach roślin uprawnych oraz nanokondycjonowanie nasion (Wu i Li, 2022). Innowacyjne metody nano, które wprowadza się w rolnictwie, dotyczą m. in. procesów fizjologii roślin. Jedną z takich metod jest nanokondycjonowanie, które jest skutecznym procesem mającym zdolność zmiany metabolizmu nasion i aktywacji niektórych szlaków biochemicznych lub sygnałowych. Ma to wpływ na kiełkowanie i ukorzenienie siewki, a następnie na

cały cykl życiowy rośliny. Słabe kiełkowanie i niesynchroniczne wschody sadzonek mogą spowodować straty w plonach. Wymaga to kondycjonowania, ponieważ te dwa etapy są krytycznymi etapami dla optymalnego wzrostu i plonowania roślin. W porównaniu z innymi tradycyjnymi metodami kondycjonowania, które w pewien sposób prowadzą do zanieczyszczenia środowiska, stosowanie nanocząstek do kondycjonowania nasion jest bardziej korzystne. Wskazuje to na możliwość szerokiej akceptacji nanokondycjonowania. Tak więc zaleca się stosować nanocząstki jako środka gruntującego nasiona, ponieważ mają one pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion, stosunek korzeni do pędów i ogólny wzrost siewek (Kandhol i in., 2022).

Nanotechnologia pojawia się w rolnictwie, aby zrewolucjonizować sposób, w jaki obecnie zarządzamy zasobami i wykorzystujemy je. Wiele czynników wpływa na wydajność opracowanych nanomateriałów np. w celu kontrolowania dostarczania pestycydów i nawozów roślinom. Takie systemy można obecnie projektować i wytwarzać tak, aby wykazywały powolną i stałą szybkość dostarczania oraz były ukierunkowane na określone tkanki lub działały w pewnym stopniu na bodźce. Wydajność roślin można zwiększyć poprzez transport odpowiednich nanomateriałów we właściwe miejsce, co prowadzi do ulepszenia mechanizmów fotosyntetycznych lub wywołania mechanizmów samoobrony (Grillo i in., 2021). Nanotechnologia powoduje zwiększenie skuteczności produkcji rolnej przez zmniejszenie związanych z nią strat, a także zastosowanie pestycydów i nawozów jako efektywnych narzędzi (Shang i in., 2019). Korzyści ze stosowania nanopestycydów wynikają z inteligentnego systemu ich dostarczania jak również zwiększonej żywotności poprzez uwalnianie pestycydów we właściwym czasie oraz w kontrolowany sposób. Przyczyniają się do poprawy rozpuszczalności w wodzie, zabezpieczają agrochemikalia przed skażeniem środowiska oraz monitorują występowanie w uprawie patogenów, owadów i chwastów. Nanopestycydy wykorzystywane są w rolnictwie i przemyśle spożywczym w celu zmniejszenia niepożądanego zastosowania innych toksycznych pestycydów, a także dla zapewnienia bezpieczeństwa roślin jak również rozwoju upraw (Pradhan i Mailapalli, 2020; Yadav i in., 2020).

Wynalezienie inżynierskich nanomateriałów jest technologicznym przełomem w projektowaniu materiałów i opracowywaniu produktów żywnościowych. Zastosowanie nanotechnologii w rolnictwie jest wciąż udoskonalane. Ma jednak potencjał do przekształcenia systemów rolniczych, zwłaszcza jeśli chodzi o kwestie stosowania nawozów. Zastosowanie różnych nanonawozów ma wyjątkowy wpływ na produkcję roślinną poprzez zmniejszenie kosztów nawozów i ryzyka zwiększonej emisji do środowiska. Nanonawozy są bardziej rozpuszczalne, reaktywne i mogą zwiększać penetrację przez tkanki lub komórki skórki, co pozwala na ukierunkowane dostarczanie i kontrolowane uwalnianie ich. Dzięki nanonawozom, które zmniejszają stres abiotyczny i toksyczność metali ciężkich następuje wzrost arealu upraw, wielkość i jakość plonów oraz jest poprawiana efektywność wykorzystania składników pokarmowych (El-Saadony i in., 2021a).

Nanonawozy są wydajne, ponieważ powoli uwalniają składniki odżywcze przez cały cykl życia rośliny. Zmniejszają ryzyko adsorpcji, rozkładu, wymywania i spływu powierzchniowego (Joshi i in., 2019). Istnieją trzy główne klasy nanonawozów: nano-

dotatki (mieszanie nanododatków z tradycyjnymi nawozami), nanopowłoki (nawozy powlekane nanocząstkami) oraz nawozy w nanoskali (nanomateriały zawierające składniki odżywcze) (Mikkelsen, 2018). Nanomateriały jako nanonawozy usprawniły produkcję roślinną poprzez usprawnienie procesu fotosyntezy, metabolizmu azotu oraz syntezę węglowodanów i białek. Większa powierzchnia, wyższa absorpcja i kontrolowane i powolne uwalnianie składników pokarmowych do miejsca docelowego sprawiają, że nanonawozy są inteligentnym systemem dostarczania. Stopniowe uwalnianie i ukierunkowana dystrybucja nanonawozów poprawia żyzność gleby, prawidłowo odżywia rośliny i zwiększa wydajność roślin (Guleria i in., 2023). W rolnictwie potrzebujemy również nawozów o niskiej rozpuszczalności w glebie, aby wydłużyć ich żywotność. Nanocząsteczki mogą być stosowane do powlekania tradycyjnych nawozów w celu zwiększenia ich właściwości w glebie i wchłaniania przez rośliny. Nawozy nanopowłokowe mają właściwość o małej rozpuszczalności w glebie, co zwiększa ich dostępność dla roślin i w ten sposób można zaspokoić potrzeby pokarmowe roślin przez cały okres ich wegetacji (Duhan i in., 2017). Zastosowanie nanomateriałów sprawia, że agro-nanotechnologia jest skuteczną techniką poprawiającą kiełkowanie nasion, wzrost roślin i wielkość plonu. Nanocząstki stosowane do powlekania nasion mogą sprzyjać kiełkowaniu nasion dzięki szybszemu pobieraniu składników odżywczych i lepszemu wzrostowi roślin (Joshi i in., 2018).

Obecne na rynku są dostępne preparaty, zawierające w swoim składzie nanocząstki przeciwko szkodnikom (np. feromony do zwalczania mszyc). Wykorzystuje się także zaprawy nasienne oraz fungicydy zawierające nanomateriały (Ozmen, 2015). Choroby roślin i występowanie szkodników stanowią ogromne wyzwanie dla uzyskania odpowiednich wielkości i jakości plonów roślin. Wykorzystanie nanomateriałów jako nowej broni do zwalczania patogenów i szkodników to kolejna strategia wykorzystania nanotechnologii w rolnictwie. Dlatego istotnym obszarem badań będzie uzyskanie nowych nanokompozytów, które będzie można skutecznie wykorzystać do zwalczania patogenów/szkodników i dostarczania składników pokarmowych roślinom (Wang i in., 2020b).

Niezbędne jest określenie danych toksykologicznych dla każdego nanoprodktu, chociaż nie ma wyraźnych dowodów na to, że nanocząsteczki mają negatywny wpływ na ludzi. Z drugiej strony nanoprodkty mają pozytywny wpływ na ochronę środowiska, stabilność finansową czy biologiczną. Nanomateriały mają natomiast niekorzystny wpływ na rośliny przy ekspozycji na wyższe stężenia tych nanocząstek, natomiast przy niższych dawkach, stosowane w określonych warunkach mają korzystne działanie (El-Saadony i in., 2021a). Szczególnie w przypadku agrochemikaliów uważa się, że główne obawy nadal wiążą się z pozostałościami pestycydów w żywności i środowisku, a nie z materiałami zawartymi w ich recepturach. Ponadto konsumenci obawiają się „nanoprodktów” ponieważ są zbyt drogie (Grillo i in., 2021).

Rolnictwo precyzyjne jest nowoczesnym podejściem w kierowaniu gospodarstwem. Dzięki nanoczuJNIkom możliwe będzie ustalenie dawki nawozów oraz pestycydów dla wszystkich (nawet małych) części gospodarstwa. NanoczuJNIki ułatwiają rolni-



kom utrzymanie gospodarstw ze szczegółową kontrolą i raportowaniem bieżących potrzeb roślin. Nano inteligentne systemy oparte na nanotechnologii, dzięki bardzo dużej precyzji, pomagają w efektywnym wykorzystywaniu naturalnych zasobów rolniczych, takich jak: składniki pokarmowe, środki ochrony oraz regulatory wzrostu roślin, czy zaopatrzenie w wodę (Omanović-Miklićanina i Maksimović, 2016). Poprzez wykorzystanie nanotechnologii i globalnych systemów pozycjonowania z obrazowaniem satelitarnym pól, właściciele gospodarstw będą mogli zdalnie wykrywać szkodniki roślin lub dowody na stres roślin (np. susza, czy uszkodzenia mrozowe). Rozproszone na polu czujniki nano mogą również wykrywać obecność wirusów roślinnych i poziom składników odżywczych w glebie. Nanonawozy, o spowolnionym działaniu są szybko i całkowicie wchłaniane przez rośliny i mogą stać się trendem w oszczędzaniu nawozów i minimalizowaniu zanieczyszczenia środowiska (Pérez-de-Luque i Rubiales, 2009; El-Gioushy i in. 2021). Nanosensory umożliwią wzrost roślin, zapewnią odpowiedni poziom pH podłoża, właściwe zaopatrzenie gleby w składniki pokarmowe czy wodę oraz ochronę przed szkodnikami lub chorobami – wszystko to będzie zdalnie monitorowane, co znacznie ograniczy niezbędny wkład pracy (Omanović-Miklićanina i Maksimović, 2016).

Grupa ETC (ang. Action Group on Erosion, Technology and Concentration – Grupa Działania ds. Erozji, Technologii i Koncentracji) ostrzega, że w ukształtowanej przez nanotechnologię przyszłości gospodarstwo rolnicze będzie wielkoobszarową fabryką, monitorowaną i zarządzaną za pomocą systemów informatycznych (komputer), a żywność będzie wytwarzana z substancji budulcowych, dostarczających organizmowi w odpowiednich dawkach składniki odżywcze (Edwards i in., 2013; Kaiser, 2018).

Nanotechnologia ma też wiele zastosowań w dziedzinie maszyn rolniczych, jak zastosowanie w konstrukcji maszyn i narzędzi rolniczych, w celu zwiększenia ich odporności na zużycie i korozję oraz promienie ultrafioletowe, wytwarzanie mocnych komponentów mechanicznych z wykorzystaniem nanopowłok i stosowanie biocząłunków w inteligentnych maszynach do mechanicznego kontrolowania zachwaszczenia, oczyszczania chemicznego czy produkcji nano-pokrycia łóżysk w celu zmniejszenia tarcia. Wykorzystanie nanotechnologii w produkcji paliw alternatywnych i redukcji zanieczyszczenia środowiska (Mousavi i Rezaei, 2011; Singh, 2016).

Nanotechnologia wykazuje również zdolność do modyfikowania genetycznej struktury roślin, pomagając w ten sposób w dalszym ulepszaniu roślin uprawnych o zupełnie innych właściwościach, np. o innym kolorze, smaku, długości okresu wegetacji lub wydajności (De Rosa i in., 2010; Edwards i in., 2013).

### 3. METODYKA BADAŃ

#### 3.1. Przedmiot badań

Badania prowadzono na rzepaku jarym (3 serie doświadczeń) oraz na ozimym (1 seria doświadczeń) (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* Metzg.) w oparciu o doświadczenia ściśle laboratoryjne lub wazonowe:

- seria I – w kulturach *in-vitro* na eksplantatach rzepaku jarego
- seria II – doświadczenie wazonowe w perlicie na roślinach rzepaku jarego
- seria III – doświadczenie wazonowe w ziemi ogrodniczo-uprawnej na roślinach rzepaku jarego oraz ozimego

#### 3.2. Fazy rozwojowe rzepaku – skala BBCH

Skala BBCH (Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt i Chemische Industrie) jest systemem do jednolitego kodowania fenologicznie podobnych stadiów rozwojowych większości jedno- i dwuliściennych gatunków roślin (Meier, 2018). System ten podzielony jest na główne i drugorzędne etapy wzrostu i odwołuje się do dobrze znanych faz rozwojowych roślin, który został opracowany przez Zadoks i in. (1974) w celu uniknięcia dowolnych lub własnych interpretacji. Cały cykl rozwojowy roślin podzielony jest na 10 wyraźnie rozpoznawalnych i dających się rozróżnić dłuższych faz rozwojowych. Te główne etapy wzrostu opisano za pomocą liczby od 0 do 9 w porządku rosnącym. Drugorzędne etapy stosowane są, gdy punkty czasowe albo etapy rozwoju rośliny muszą być wyznaczone precyzyjnie. W przeciwieństwie do etapów głównych, są one określane jako krótkie etapy rozwojowe typowe dla odpowiednich gatunków roślin, które są osiągane w trakcie odpowiedniego głównego etapu wzrostu. Kombinacja cyfr dla głównych i drugorzędnych etapów daje kod dwucyfrowy, który pozwala na precyzyjne zdefiniowanie wszystkich etapów fenologicznego wzrostu dla większości gatunków roślin (w tym rzepaku – tab. 2) (Meier, 2018).

Tab. 2. Fenologiczne fazy wzrostu i klucze identyfikacyjne BBCH rzepaku oleistego

Kod	Opis
<b>0</b>	<b>Kielkowanie</b>
00	Suche nasiona
01	Początek pęcznienia nasion
03	Koniec pęcznienia nasion
05	Korzeń zarodkowy wydostaje się z nasienia
07	Hypokotyl z liścieniami wyłonił się z okrywy nasiennej
08	Hypokotyl z liścieniami rośnie w kierunku powierzchni gleby
09	Liścienie pojawiają się na powierzchni gleby

cd. tab. 2

<b>1</b>	<b>Rozwój liści</b>
10	Liścienie całkowicie rozwinięte
11	Faza 1 liścia
12	Faza 2 liścia
13	Faza 3 liścia
1.	Fazy trwają aż do ...
19	Faza 9 lub więcej liści
<b>2</b>	<b>Rozwój pędów bocznych</b>
20	Brak pędów bocznych
21	Początek rozwoju pędów bocznych, pierwszy pęd boczny
22	2 pędy boczne
23	3 pędy boczne
2.	Faza trwa aż do ...
29	Koniec formowania pędów bocznych, widocznych 9 lub więcej pędów bocznych
<b>3</b>	<b>Wzrost (wydłużenie) pędu głównego</b>
30	Początek wydłużenia pędu głównego, brak międzywęźli ('rozeta')
31	Widoczne 1 międzywęźle
32	Widoczne 2 międzywęźla
33	Widoczne 3 międzywęźla
3.	Faza trwa aż do ...
39	Widoczne 9 lub więcej międzywęźli
<b>4</b>	<b>Rozwój wegetatywnych części rośliny</b>
40	-
49	-
<b>5</b>	<b>Rozwój pąków kwiatowych</b>
50	Pąki kwiatowe zamknięte w liściach
51	Pąki kwiatowe widoczne z góry ('zielony pąk')
52	Pąki kwiatowe wydostają się z najmłodszych liści
53	Pąki kwiatowe rozwinięte nad najmłodszymi liśćmi
55	Widoczne pojedyncze pąki kwiatowe (główny kwiatostan), nadal zamknięte
57	Widoczne nadal zamknięte pojedyncze pąki kwiatowe (kwiatostany boczne)
59	Widoczne pierwsze płatki, pąki kwiatowe nadal zamknięte ('żółty pąk')
<b>6</b>	<b>Kwitnienie</b>
60	Otwarte pierwsze kwiaty
61	10% otwartych kwiatów na głównym kwiatostanie (początek kwitnienia), wydłużanie się głównego kwiatostanu
62	20% otwartych kwiatów na głównym kwiatostanie
63	30% otwartych kwiatów na głównym kwiatostanie
64	40% otwartych kwiatów na głównym kwiatostanie
65	Pełne kwitnienie 50% kwiatów na głównym kwiatostanie otwartych, starsze płatki opadają
67	Końcowa faza kwitnienia, większość płatków opadła
69	Koniec fazy kwitnienia

cd. tab. 2

<b>7</b>	<b>Rozwój owoców</b>
71	10% łuszczyn osiągnęło typową wielkość
72	20% łuszczyn osiągnęło typową wielkość
73	30% łuszczyn osiągnęło typową wielkość
74	40% łuszczyn osiągnęło typową wielkość
75	50% łuszczyn osiągnęło typową wielkość
76	60% łuszczyn osiągnęło typową wielkość
77	70% łuszczyn osiągnęło typową wielkość
78	80% łuszczyn osiągnęło typową wielkość
79	Prawie wszystkie łuszczyny osiągnęły typową wielkość
<b>8</b>	<b>Dojrzewanie</b>
80	Początek dojrzewania: nasiona zielone, wypełniają zagłębienia w łuszczynie
81	10% łuszczyn dojrzeła, nasiona brązowe i twarde
82	20% łuszczyn dojrzeła, nasiona brązowe i twarde
83	30% łuszczyn dojrzeła, nasiona brązowe i twarde
84	40% łuszczyn dojrzeła, nasiona brązowe i twarde
85	50% łuszczyn dojrzeła, nasiona brązowe i twarde
86	60% łuszczyn dojrzeła, nasiona brązowe i twarde
87	70% łuszczyn dojrzeła, nasiona brązowe i twarde
88	80% łuszczyn dojrzeła, nasiona brązowe i twarde
89	Pełna dojrzałość, prawie wszystkie łuszczyny dojrzałe, nasiona brązowo-czarne i twarde
<b>9</b>	<b>Zamieranie</b>
97	Roślina zamiera i usycha
99	Nasiona zebrane, okres spoczynku

Źródło: Weber i Bleiholder, 1990; Lancashire i in., 1991

### 3.3. Czas i warunki prowadzenia doświadczeń

Doświadczenia były prowadzone w latach 2014-2017. Miejszem prowadzenia badań było Laboratorium Analiz Biofizycznych Roślin (Seria I i III) oraz ogród doświadczalny (Seria III) należące do Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii, Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego (obecnie Katedra Agronomii, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Politechnika Bydgoska). Natomiast doświadczenia z Serii II były prowadzone w szklarni należącej również do Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego (obecnie Politechnika Bydgoska).

- Seria I

Doświadczenie w warunkach *in vitro* było prowadzone jako ściśle laboratoryjne. Eksplantaty rzepaku były przygotowane w Pracowni Fizjologii i Podstaw Biotechnologii Roślin (obecnie Katedra Biotechnologii Rolniczej, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Politechnika Bydgoska). Do badań wybrano odmianę populacyjną rzepaku jarego 'Feliks'. Wysterylizowane powierzchniowo nasiona były przenoszone za pomocą 30% roztworu ACE (związki wybielające na bazie chloru- podchloryn sodu, wodorotlenek

sodu, węglan sodu) na standardową pożywkę do kiełkowania - ½ MS (Murashige-Skoog'a) w warunkach sterylnych (tab. 3). Pożywka wykorzystywana w kulturach *in vitro* dostarczała wszystkich niezbędnych do wzrostu i rozwoju rzepaku związków: mineralnych (makro- i mikroelementy), węgla, witamin, azot organiczny i regulatorów wzrostu. W doświadczeniach wykorzystywana została pożywka używana do kiełkowania nasion, zawierająca ½ stężenia makro i mikroelementów oraz substancji organicznych (MS Sigma Aldrich 2,2 g·dm<sup>-3</sup>) zestalona 0,8% agarem (vitro-lab agar Biocorp). Zastosowano sacharozę w stężeniu 15 g·l<sup>-1</sup>, ponieważ obniżona zawartość cukru w pożywce przyspiesza proces kiełkowania. Przygotowane podłoże było rozlewane do słoików po 50 ml i autoklawowane w temperaturze 121°C przy ciśnieniu 0,5 atm. przez 20 min. W każdym ze słoików znajdowały się dwa eksplantaty rzepaku. Kultura eksplantatów rzepaku była prowadzona przez dwa tygodnie w fitotronie w kontrolowanych warunkach: 16 godzinny fotoperiod przy natężeniu światła (PPFD) 250 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, temperaturze 25 +/- 2°C oraz wilgotności powietrza 70% (fot. 10).

Tab. 3. Szczegółowy skład pożywki MS

Nazwa	MS (mg·dm <sup>-3</sup> )
Azotan amonu (NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )	20,6
Kwas borowy (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	6,2
Chlorek wapnia (CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O)	440
Chlorek kobaltu (CoCl <sub>2</sub> *6 H <sub>2</sub> O)	0,025
Siarczan magnezu (MgSO <sub>4</sub> *7 H <sub>2</sub> O)	370
Siarczan miedzi(II) (CuSO <sub>4</sub> *5 H <sub>2</sub> O)	0,025
Diwodorofosforan potasu (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	170
Siarczan żelaza(II) (FeSO <sub>4</sub> *7 H <sub>2</sub> O)	27,8
Azotan potasu (KNO <sub>3</sub> )	950
Siarczan manganu(II) (MnSO <sub>4</sub> *4 H <sub>2</sub> O)	22,30
Jodek potasu (KI)	0,83
Molibdenian(VI)sodu (Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> *2 H <sub>2</sub> O)	0,25
Siarczan cynku (ZnSO <sub>4</sub> *7 H <sub>2</sub> O)	8,6
Wersenian disodu (Na <sub>2</sub> EDTA*2 H <sub>2</sub> O)	37,2
Inozytol	100
Niacyna	0,5
Pirydoksyna	0,5
Tiamina	1
Glicyna	2
Kwas nikotynowy	0,5
Sacharoza	30g·l <sup>-1</sup>
Agar	8 g·l <sup>-1</sup>
pH	5,6-5,8

Źródło: opracowanie własne



Źródło: własne

Fot. 10. Eksplantaty rzepaku w komorze wzrostowej w Pracowni Fizjologii i Podstaw Biotechnologii Roślin (obecnie Katedra Biotechnologii Rolniczej Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Politechnika Bydgoska)

Eksplantaty zostały przeniesione i utrzymywane w słoikach w komorze klimatycznej Laboratorium Analiz Biofizycznych Roślin przez kolejne dwa tygodnie do uzyskania 5-6 liści. W komorze panowały stałe warunki fotoperiodu 12:12 (dzień: noc), temperatury, oświetlenia i wilgotności powietrza podzielone na sześć segmentów zgodnie ze schematem w doświadczeniu seria II. Po dwóch tygodniach rośliny zostały przesadzone do wazonów z perlitem i były prowadzone przez 8 tygodni. Doświadczenie było dalej kontynuowane w wyżej wymienionych warunkach panujących w komorze klimatycznej. Nawadnianie roślin odbywało się dwa razy w tygodniu, natomiast nawożenie raz w tygodniu pożywką  $\frac{1}{2}$  MS bez agaru z odpowiednią dawką nano-Fe.

- Seria II

Doświadczenie zostało przeprowadzone jako ściśle wazonowe, z zastosowaniem perlitu jako podłoża. Do badań wybrano odmianę rzepaku jarego, populacyjną 'Feliks'. Doświadczenie prowadzono w szklarni (fot. 11), gdzie panowały wyrównane warunki siedliskowe, tj. temperatura (23-26°C) i oświetlenie  $350-380 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  - jako jednostkę przyjęto tzw. fotosyntetyczną gęstość strumienia fotonów" - PPFD) (<https://pl.lisungroup.com/news/technology-news/about-par-ppf-and-ppfd.html>).

Nasiona rzepaku jarego zostały wysiane na palecie z wełną mineralną, a następnie w fazie liścieni (fot. 12a) zostały przesadzone do wazonów (fot. 12b), o pojemności 2 litrów, wypełnionych perlitem ogrodniczym (Agro Perlit MARTSONI). Perlit ogrodniczy jest naturalnym surowcem mineralnym pochodzenia wulkanicznego, co zapewnia 20-krotny wzrost jego objętości i w efekcie uzyskuje się perlit w postaci lekkich, drobnych, porowatych cząsteczek (<http://www.perlit.pl/oferta/perlit/ep200>). Wilgotność

podłoża utrzymywana była na poziomie 65% pojemności wodnej (średnica ziaren perlitu mieściła się w zakresie 1-6 mm) a rośliny były prowadzone w takich warunkach do fazy BBCH 50.



Źródło: własne

Fot. 11. Doświadczenie w szklarni na podłożu perlitowym z rzepakiem jarym ‘Feliks’

Nawożenie makroelementowe zgodnie z tabelą 3 wraz z nawadnianiem kropelkowym było sterowane za pośrednictwem systemu Fertyga (<http://fertyga.pl/komputerowy-system-nawadniania-fertyga/>) od fazy siewki, tj. po przesadzeniu do perlitu, do końca trwania doświadczenia, czyli do fazy wzrostu rzepaku jarego BBCH 50. Nalistne stosowanie nanoFe oraz mikroelementów przeprowadzono w fazie rzepaku jarego BBCH 15-16. Aplikację nawozami zawierającymi mikroelementy wykonano w dwóch terminach: I termin - po 4 godzinach od momentu zastosowania nanoFe, II termin po 3 dniach od zastosowania nanoFe.



Źródło: własne

Fot. 12. Rzepak w fazie liścieni: a) siewka rośliny rzepaku po wyciągnięciu z wełny mineralnej, b) siewka rzepaku jarego po przesadzeniu w wazon z perlitem

Fertygacja odbywała się 2 razy dziennie o godz. 10.00 i 17.00, poprzez dwa emitery na wazon, w ciągu 1 minuty w dawce 100 ml cieczy na każdy wazon. Nawadnianie z dostarczeniem składników pokarmowych było wykonywane za pomocą automatycznego komputerowego systemu nawożenia Fertyga. Do nawożenia roślin wykorzystano: saletrę wapniową (15,5% N, 26,5% CaO), saletrę potasową (13% N, 46% K<sub>2</sub>O), kwas azotowy (60% N), siarczan amonu (21% N, 24% S), siarczan magnezu 7H<sub>2</sub>O (16% MgO, 32,5% SO<sub>3</sub>) i monofosforan potasu (52% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 34% K<sub>2</sub>O) (tab. 4). Dawka poszczególnego nawozu była obliczona na podstawie zapotrzebowania rzepaku na dany pierwiastek. Do nawożenia mikroelementowego wykorzystano chelaty w formie EDTA (kwas wersenowy/ kwas etylenodiaminotetraoctowy): miedzi – 15% (ADOB Cu EDTA), manganu – 13% (ADOB Mn EDTA), cynku – 15% (ADOB Zn EDTA) (tab. 5). Zastosowano również nawóz CukroVit borowy: 21% B, 0,02% Mo. Prawidłowe zaopatrzenie roślin w składniki pokarmowe (makroelementy i mikroelementy) a także optymalne pH podłoża przyczynia się do prawidłowego ukorzeniania oraz do wysokiej dynamiki wzrostu rzepaku. Wielkości dawek składników pokarmowych, które potrzebuje rzepak zostały opisane w rozdziałach 2.2.1 i 2.2.2.

Tab. 4. Nawożenie makroelementowe rzepaku uprawianego w perlicie

Pożywka „A” 5% na 5 litrów koncentratu		Pożywka „B” 5% na 5 litrów koncentratu	
saletra wapniowa	200 g	siarczan amonu	100 g
saletra potasowa	400 g	siarczan magnezu	100 g
kwas azotowy	20 ml	monofosforan potasu	100 g

Źródło: opracowanie własne



Tab. 5. Nawożenie mikroelementowe rzepaku uprawianego w perlicie

Mikroelement	Dawka na 10 litrów cieczy
Cynk	5,67 g
Mangan	20,00 g
Miedź	3,33 g
Bor	2,00 g
Molibden }	

Źródło: opracowanie własne

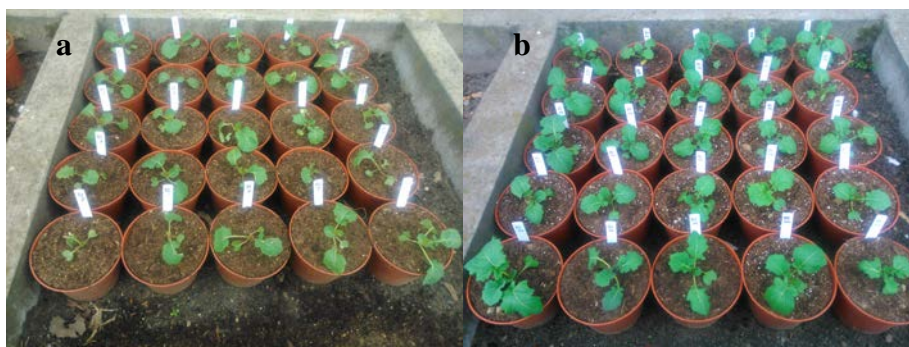
- Seria III

Doświadczenia prowadzone były na roślinach rzepaku jarego, odmiany populacyjnej ‘Feliks’ oraz rzepaku ozimego odmiany populacyjnej ‘Chagall’ jako ściśle wazonowe. Rośliny były prowadzone w wazonach od wysiania do fazy BBCH 12-13 w komorze klimatycznej KK240 FIT P fitotronowej firmy Pol-Eko Aparatura (fot. 13), następnie były przesadzone w większe wazony i przeniesione do warunków naturalnych (fot. 14a, b). Wazony były wypełnione ziemią ogrodniczą i uprawną (przywiezioną z pola) w stosunku 1:1 o pojemności 0,5 litra. W każdym wazonie znajdowały się cztery rośliny rzepaku. Analizę zastosowanego podłoża po wymieszaniu ziemi uprawnej z ziemią ogrodniczą na zawartość wybranych mikroelementów przedstawia tabela 6.



Źródło: własne

Fot. 13. Komora fitotronowa KK240 FIT P (<https://www.pol-eko.com.pl/komory-fitotronowe/komora-klimatyczna-fitotronowa-kk-400-fit-p/>)



Źródło: własne

Fot. 14. Doświadczenie w warunkach naturalnych: a) rzepak jary, b) rzepak ozimy

Tab. 6. Analiza składu mikroelementów podłoża do uprawy rzepaku.

Kategoria agronomiczna gleby	pH w KCl	Zawartość składników przyswajalnych (mg·kg <sup>-1</sup> gleby)				
		Bor	Mangan	Miedź	Cynk	Żelazo
Lekka	6,5	5,66	176,1	7,5	40,8	1773

Źródło: Okręgowa Stacja Chemiczno-Rolnicza w Bydgoszczy

Wilgotność podłoża utrzymywana była na poziomie 65% polowej pojemności wodnej (ppw). Rośliny w komorze fitotronowej były prowadzone w stałych warunkach fotoperiodu 12:12 (dzień : noc), temperatury, oświetlenia i wilgotności powietrza, które to warunki podzielone zostały na sześć segmentów:

- I godz. 8.00-10.00, temperatura 18°C, oświetlenie 40%, wilgotność powietrza 30%,
- II godz. 10.00-12.00, temperatura 22°C, oświetlenie 80%, wilgotność powietrza 30%,
- III godz. 12.00-16.00, temperatura 24°C, oświetlenie 100%, wilgotność powietrza 30%,
- IV godz. 16.00-18.00, temperatura 22°C, oświetlenie 60%, wilgotność powietrza 30%,
- V godz. 18.00-20.00, temperatura 20°C, oświetlenie 40%, wilgotność powietrza 30%,
- VI godz. 20.00-8.00, temperatura 16°C, oświetlenie 0%, wilgotność powietrza 30%.

Rośliny w fazie BBCH 12-13 zostały przesadzone do większych wazonów z takim samym podłożem mieszanym (ziemia ogrodnicza i uprawna) o pojemności 1 litr i jednej roślinie w każdym wazonie. Nawadnianie roślin odbywało się dwa razy w tygodniu od siewu nasion do momentu przesadzenia. Nawożenie makroelementami (tab. 4) stosowano raz w tygodniu w ilości 100 ml na wazon, natomiast nawadnianie dwa razy w tygodniu w ilości 250 ml H<sub>2</sub>O na wazon od momentu przesadzenia roślin aż do zakończenia doświadczenia.

### 3.4. Czynniki doświadczalne i poziomy czynników

- Seria I

Doświadczenie przeprowadzono jako jednoczynnikowe w dwóch cyklach. Badanym czynnikiem tego doświadczenia była dawka nanożelaza dodanego do pożywki, w której rosły eksplantaty rzepaku jarego, według schematu:

1. kontrola bez żelaza (K),
2. kontrola + Chelat żelaza ( $\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) w stężeniu  $27,8 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (MS),
3. Fe w formie nano w stężeniu 10 ppm (Fe10),
4. Fe w formie nano w stężeniu 25 ppm (Fe25),
5. Fe w formie nano w stężeniu 50 ppm (Fe50),
6. Fe w formie nano w stężeniu 100 ppm (Fe100),
7. Fe w formie nano w stężeniu 500 ppm (Fe500).

Prowadzono to doświadczenie w następującej liczbie powtórzeń:

- 6 powtórzeń (wazonów) dla obiektów nr 3-7,
- 12 powtórzeń (wazonów) dla obiektu kontrolnego nr 2,
- 4 powtórzenia (wazonu) dla obiektu kontrolnego nr 1.

W sumie było po 42 wazonu w każdym cyklu, a 84 wazonu w całym doświadczeniu.

- Seria II

Doświadczenie przeprowadzono jako trzyczynnikowe w 2 cyklach, w każdym powtórzeniu było 20 wazonów (po 5 wazonów jako replikacja dla jednego poziomu czynnika).

Pierwszym badanym czynnikiem była nalistna aplikacja żelaza, którą przeprowadzono według schematu:

1. kontrola – bez żelaza (K),
2. żelazo w formie chelatu EDTA –  $0,67 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  (FeCh),
3. żelazo w formie nanocząsteczkowej (tlenek żelaza) w stężeniu 5 ppm, (Fe5),
4. żelazo w formie nanocząsteczkowej (tlenek żelaza) w stężeniu 10 ppm, (Fe10).

Drugim czynnikiem był termin stosowania zestawu mikroelementów (Zn, Mn, Cu, B i Mo):

- I po 4 godzinach od zastosowania żelaza (M),
- II po 3 dniach od zastosowania żelaza (BM).

Trzecim czynnikiem doświadczenia była faza rzepaku, w której dokonano pomiarów:

- A. 24 h po zastosowaniu Fe (BBCH 15 – 16),
- B. 7 dni po zastosowaniu Fe (BBCH 22 – 23),
- C. przed kwitnieniem roślin rzepaku (BBCH 50).

- Seria III

Badania zostały przeprowadzone jako dwa oddzielne jednoczynnikowe eksperymenty:

A. jara forma – odmiana 'Felix'

B. ozima forma - odmiana 'Chagall'

Czynnikiem doświadczenia dla dwóch form rzepaku była nalistna aplikacja żelaza, przeprowadzona według poniższego schematu (4 obiekty):

1. obiekt kontrolny – 7 dni rzepak przed zastosowaniem żelaza nalistnie (K),
2. kontrola – bez żelaza (Fe0),
3. Fe w formie nano w stężeniu 5 ppm (Fe5),
4. Fe w formie nano w stężeniu 10 ppm (Fe10).

### 3.5. Charakterystyka nano-Fe i przygotowanie roztworu do aplikacji

Nanocząstki żelaza wykorzystane w przeprowadzonych doświadczeniach zostały zakupione w firmie American Elements (<https://www.americanelements.com/iron-nanoparticles-7439-89-6>). Średnia wielkość nanostruktur wynosiła poniżej 30 nm. Nanocząstki żelaza miały postać proszku otoczkowanego węglem o czystości 99+%. W badaniach Serii II i III wykorzystane były dwie dawki nanocząstek, tj. 5 i 10 ppm. Aby osiągnąć określone stężenia nanoFe sporządzono roztwór podstawowy o stężeniu 100 ppm (0,01 g proszku dodano do 100 ml wody bidestylowanej). Kolbę z roztworem wkładano na 3,5 min do myjki ultradźwiękowej Elma S 80H Elmasonic, dzięki czemu powstała zawiesina, którą stosowano nalistnie. Natomiast w doświadczeniach Serii I wykorzystano pięć dawek nanocząstek żelaza, tj. 10, 25, 50, 100 i 500 ppm, które zostały zaaplikowane jako proszek do pożywek agarowych i wymieszane z nimi.

### 3.6. Zakres pomiarów i obserwacji

#### 3.6.1. Pomiary wymiany gazowej

Wymiana gazowa roślin rzepaku była badana za pomocą systemu LCpro-SD z komorą klimatyzowaną typu szerokiego (o powierzchni komory 6,25 cm<sup>2</sup>) (firmy ADC BioScientific Ltd. UK) (fot. 15). Do analiz wybrano w pełni rozwinięte liście, bez oznak starzenia się oraz mechanicznych uszkodzeń. W celu wyeliminowania zewnętrznych czynników wpływających na intensywność fotosyntezy zastosowano stałe warunki w komorze pomiarowej, w której umieszczano badany liść. Warunki podczas pomiaru były stałe: stężenie CO<sub>2</sub> – 360 ppm (μmol CO<sub>2</sub>·mol<sup>-1</sup> powietrza), oświetlenie (PPFD) - 360 μmol·s<sup>-1</sup>·m<sup>-2</sup> oraz temperatura – +22°C. Natomiast wilgotność prowadzenia eksperymentu była zgodna z wilgotnością otoczenia. Każdy pomiar fotosyntezy trwał 5 minut, w czasie którego dokonywane były 3 odczyty (po 3, 4 i 5 minutach od rozpoczęcia pomiaru).



Źródło: własne

Fot. 15. System LCpro-SD z komorą klimatyzowaną

W zakresie wymiany gazowej roślin dokonano pomiarów następujących parametrów: intensywność fotosyntezy netto ( $P_n$ ) ( $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), wskaźnik transpiracji liści ( $E$ ) ( $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), stężenie  $\text{CO}_2$  międzykomórkowego ( $C_i$ ) (ppm) oraz przewodność aparatów szparkowych ( $G_s$ ) ( $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

Pomiary te zostały przeprowadzone według schematu:

- w Serii I pomiary wykonano pięciokrotnie, od 4 do 8 tygodnia po przesadzeniu roślin w perlit w odstępach tygodniowych.
  - BBCH 32-34,
  - BBCH 34-37,
  - BBCH 41-46,
  - BBCH 51-55,
  - BBCH 57-62.
- w Serii II
  - 24 godziny po aplikacji żelaza (BBCH 15-16),
  - 7 dni po aplikacji żelaza (BBCH 22-23),
  - w fazie kwitnienia (BBCH 50),

Ponadto każdy pomiar wykonano na trzech kolejnych liściach: 1 – najstarszy, 2 – średni i 3 – najmłodszy.

- w Serii III
  - 7 dni przed zastosowaniem Fe (rzepak jary: BBCH 31-32, rzepak ozimy: BBCH 22-23),
  - w fazie kwitnienia (rzepak jary – BBCH 60, rzepak ozimy – BBCH 50),

Również każdy pomiar wykonano na trzech kolejnych liściach: 1 – najstarszy, 2 – średni i 3 – najmłodszy.

### 3.6.2. Fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE) oraz chwilowy fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUEI)

W oparciu o zależność intensywności  $P_n$  i  $E$  wyznaczono fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE) określony przede wszystkim warunkami środowiskowymi. Na podstawie stosunku intensywności  $P_n$  do  $G_s$  wyznaczono chwilowy fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUEI) określony genetycznie. Powyższe współczynniki były wyznaczone w Serii I, II oraz III, na podstawie potrzebnych do ich obliczenia parametrów fotosyntezy.

### 3.6.3. Detekcja reakcji stresowych

Za pomocą fluorymetru modułowanego OS5p firmy Opti-Science (fot. 16), który jest przenośnym wielozadaniowym miernikiem dokonano pomiarów parametrów fluorescencji chlorofilu. Do badań wykorzystano protokół pomiarowy Fv/Fm 'Protocol'. Jest on dedykowany po adaptacji próbki w ciemności przez 20 minut za pomocą specjalnych klipsów. Parametr fluorescencji chlorofilu Fv/Fm jest stosunkiem maksymalnej fotochemicznej wydajności PSII, gdy wszystkie centra reakcji są otwarte. Optymalna wartość tego parametru dla większości roślin wynosi od 0,79 do 0,85. Niższe wartości mogą sygnalizować o występowaniu podczas wzrostu i rozwoju roślin warunków stresowych (Geomor-Technik, 2011b). Za pomocą fluorescencji chlorofilu zbadano  $F_0$ ,  $F_M$ ,  $F_v/F_M$ , czyli odpowiednio fluorescencję początkową, maksymalną oraz wskaźnik sprawności fotochemicznej PSII.

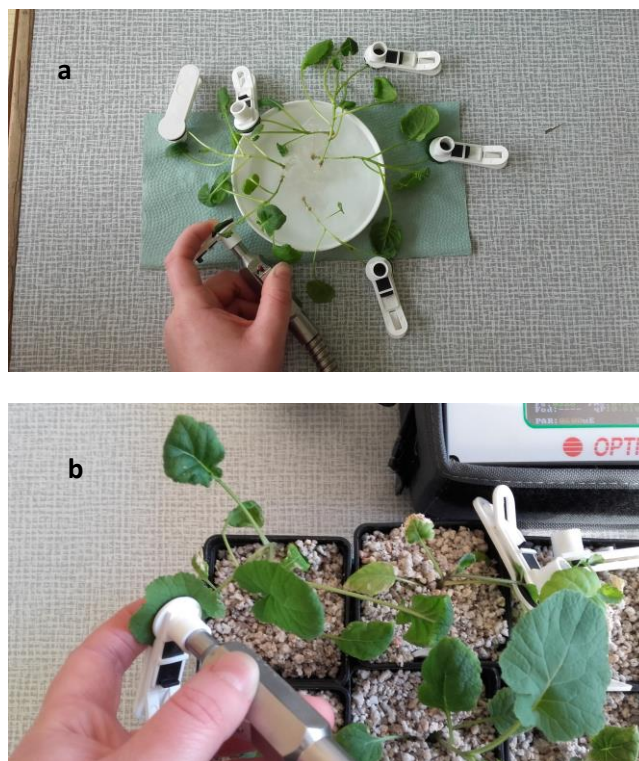


Źródło: własne

Fot. 16. Fluorometr modułowany OS5p

Pomiary te zostały przeprowadzone zgodnie ze schematem w podrozdziale 3.6.1. W Serii I pierwszy pomiar wykonano po wyjęciu roślin ze słoików z pożywką (fot. 17a), kolejne 8 pomiarów dokonywano w odstępach tygodniowych (fot. 17b).





Źródło: własne

Fot. 17. Pomiar detekcji reakcji stresowych w I serii doświadczalnej: a) w pierwszym terminie, b) po przesadzeniu roślin w perlit (drugi i kolejne terminy pomiaru)

### 3.6.4. Zawartość chlorofilu w liściach

Pomiar zawartości chlorofilu został wykonany za pomocą chlorofilomierza ADC: OSI CCM-200 Plus firmy Opti-Sciences (fot. 18). Urządzenie to służy do szybkiego i nieniszczącego podczas pomiaru chlorofilu w liściach roślin. Zawartość chlorofilu jest bezpośrednim wskaźnikiem stanu zdrowia rośliny. Chlorofilomierz CCM-200 Plus wykorzystuje transmisję światła do oszacowania zawartości chlorofilu w tkance listnej. Do określenia absorpcji używa się dwóch długości fal. Jedna długość fali spada w zakresie absorpcji chlorofilu, podczas gdy druga służy do kompensacji zmian mechanicznych, jak np. grubość liścia. Miernik mierzy transmisję przy obydwu długościach fali i oblicza na tej podstawie wskaźnik CCI (Chlorophyll Center Index – wskaźnik zawartości chlorofilu), który jest proporcjonalny do zawartości chlorofilu w próbce. Do pomiaru zawartości chlorofilu wybrany został test pomiaru jednopunktowego (Geomor-Technik, 2011a).



Źródło: własne

Fot. 18. Chlorofilomierz ADC: OSI CCM-200 Plus

Pomiar zawartości chlorofilu wykonany został w doświadczeniach Serii I czterokrotnie na najmłodszych liściach w terminach: 1) po wyjęciu roślin ze słoików z pożywką, 2) dwa dni po przesadzeniu roślin w perlit, 3) 4 tygodnie po przesadzeniu roślin w perlit, 4) 8 tygodni po przesadzeniu roślin w perlit.

### 3.6.5. Wskaźniki wzrostu i rozwoju roślin

Wykorzystane w tym celu były poniższe wskaźniki (w podrozdziale 2.8.2., tabela 1. Wskaźniki wzrostu i rozwoju):

- NAR (URL) – intensywność asymilacji netto (jednostkowa produktywność liści),
- RGR – względna intensywność wzrostu,
- SLA – specyficzna powierzchnia liściowa,
- LWR – wskaźnik masy liści,
- LAR – wskaźnik ulistnienia.



Wskaźniki te wykonane zostały w doświadczeniach Serii I. Pierwszy zbiór roślin do analizy wzrostu odbył się w fazie BBCH 12-14 w I powtórzeniu i BBCH 13-15 w II powtórzeniu (przesadzenie roślin z pożywki do wazonów z perlitem). Po 6 roślin z każdego wariantu doświadczenia zostały zostawione do oznaczenia początkowej suchej masy i powierzchni liści. W tym celu rozdzielono rośliny na organy: blaszki liściowe, ogonki liściowe i łodygi oraz korzenie. Powierzchnię liści oznaczono metodą wagową.

Materiał roślinny z pierwszego zbioru umieszczony został na opisanych arkuszach papierowych. Następnie wysuszony metodą suszarkowo-wagową w temperaturze 60°C, a następnie dosuszony w 105°C (Krełowska-Kułas 1993). Drugi zbiór roślin do analizy wzrostu przeprowadzono w fazie BBCH 57-60 w powtórzeniu I i w fazie BBCH 57-62 w powtórzeniu II (zakończenie doświadczenia). Wykonanie pomiarów wykonano identycznie jak przy zbiorze pierwszym.

### 3.6.6. Właściwości fizyczne korzeni

Cechy fizyczne korzeni roślin rzepaku określono za pomocą systemu analizy obrazu WinRhizo Pro2007a (Regent Instruments, Sainte-Foy, QC, Kanada) w połączeniu z profesjonalnym skanerem (Epson, Expression 10 000 XL, Epson America, Inc., USA) wyposażonym w dodatkową jednostkę oświetleniową (TPU). Obrazy morfologii korzeni uzyskano skanując korzenie (oczyszczone z podłoża pod bieżącą wodą) przy 300 dpi w akrylowym pudełku (20 cm x 30 cm).

Wyznaczono następujące parametry:

- Len – całkowita długość korzeni (cm),
- SA – całkowita powierzchnia korzeni (cm<sup>2</sup>),
- PA – całkowita powierzchnia przeliczeniowa (cm<sup>2</sup>),
- Vol – całkowita objętość korzeni (cm<sup>3</sup>),
- AvgD – średnica korzeni (mm),
- Ntips – liczba korzonków,
- NForks – liczba rozgałęzień korzeni,
- NCross – liczba skrzyżowanych korzeni.

Analiza korzeni została wykonana w doświadczeniach Serii I. Pierwsza analiza korzeni została przeprowadzona, gdy rośliny były w fazie BBCH 12-14 w I powtórzeniu i BBCH 13-15 w II powtórzeniu (przesadzenie roślin z pożywki do wazonów z perlitem). Drugą analizę korzeni wykonano po osiągnięciu przez rośliny fazy BBCH 57-60 w powtórzeniu I i fazy BBCH 57-62 w powtórzeniu II (zakończenie doświadczenia).

### 3.6.7. Analiza zawartości Fe

Zawartość Fe (Seria I, II, III) i Mg (Seria II) w liściach i ogonkach liściowych oraz łodygach i korzeniach (Seria I) oznaczono metodą atomowej spektroskopii absorpcyjnej

ASA (Atomic Absorption Spectroscopy – AAS) za pomocą aparatu Perkin Elmer AAS 600. Pobrany materiał roślinny został dokładnie wysuszony metodą suszarkowo-wagową w temperaturze 60°C, a następnie dosuszony w 105°C (Krełowska-Kułas 1993) i w końcu zmielony. Próbkę została przesłana do Przedsiębiorstwa Produkcyjno-Consultingowego ADOB Sp. z o.o. w Poznaniu, gdzie wykonano powyższą analizę.

### 3.6.8. Pomiary morfologiczne

- Seria I – sucha masa liści, ogonków liściowych, łodyg i korzeni oraz powierzchnia liści wyznaczona metodą wagową w pierwszym i drugim terminie zbioru roślin do badań.
- Seria II i III – długość, szerokość, świeża i sucha masa liści oraz długość, świeża i sucha masa ogonków liściowych (długość i szerokość zmierzone linijką).

Zawartość suchej masy liści oznaczono metodą wagowo-suszarkową, w temperaturze 60°C, a następnie dosuszając materiał w 105°C (Krełowska-Kułas 1993).

## 3.7. Analiza statystyczna

Dla wariantów doświadczenia w seriach I, II i III wykonano analizy statystyczne wykorzystując program komputerowy Statistica 13.0 (StatSoft Polska). Ponadto dla wszystkich serii wykonano analizy wariancji (ANOVA) według modelu stałego, tj. czynniki doświadczenia jako stałe efekty oraz ich interakcje.

- Seria I

Analizę statystyczną wykonano dla układu całkowicie losowego w 5 powtórzeniach + obiekt kontrolny w 3 powtórzeniach. Do pomiarów biologicznych rzepaku wykorzystano model ANOVA z oceną istotności działania czynnika za pomocą wartości  $F$  przy poziomie  $p = 0,05$ . Do porównań średnich obiektowych wykorzystano test LSD Fishera na poziomie istotności  $p = 0,05$ . Dla każdej cechy określona została zgodność z rozkładem normalnym i jednorodność wariancji dla poszczególnych obiektów. Wykorzystano odpowiednie wzory (tab. 1) do obliczeń wskaźników wzrostu i rozwoju roślin. Do analiz związków pomiędzy cechami możliwa wykorzystano analizę regresji w zależności od dawek nanożelaza (5 dawek). Ponadto wykonano obliczenia korelacji w oparciu o  $r$ -Pearsona. Zastosowano model regresji wielokrotnej, wykonanej metodą krokową postępującą, w którym w obiektach kontrolnych powierzchnia całkowita korzeni (YSA) w istotny sposób zależała od innych parametrów korzeni tj.: zawartości suchej masy, całkowitej objętości (xVOL), długości całkowitej (xLEN). Dobroć dopasowania modelu regresji wielokrotnej ( $R^2$  skorygowane) sprawdzono za pomocą testu  $F_{(3,33)}$  dla  $p < 0,001$  i błędzie estymacji = 15 %.

- Seria II

Analizę statystyczną wykonano dla układu losowanych bloków w 5 powtórzeniach. Układ blokowy zastosowano ze względu na panujące w szklarni warunki oświetlenia wykazujące zmienność systematyczną. Do pomiarów biometrycznych liści rzepaku wykorzystano model ANOVA dwuczynnikowy (efekty główne: forma żelaza i czas stosowania mikroelementów oraz ich interakcja), natomiast do pomiarów fizjologicznych zastosowano model ANOVA trzyczynnikowy (efekty główne: forma żelaza, czas stosowania mikroelementów i faza rzepaku) oraz interakcje II i III rzędu. Ocenę istotności działania czynników oceniono za pomocą wartości  $F$  przy poziomie  $p = 0,05$ . Do porównań średnich obiektowych wykorzystano test LSD Fishera na poziomie istotności  $p = 0,05$ .

- Seria III

Ocenę wpływu badanych parametrów wymiany gazowej oraz fluorescencji chlorofilu wykonano w oparciu o model wielowymiarowej analizy wariancji MANOVA odrębnie dla każdej formy rzepaku (ozimej i jarej) w układzie jednoczynnikowej, biorąc jako źródło zmienności efekt nanożelaza w nalistnej aplikacji dla czterech obiektów doświadczalnych (obiekt kontrolny – 7 dni rzepak przed zastosowaniem żelaza nalistnie (K), kontrola – bez żelaza (Fe0), Fe w formie nano w stężeniu 5 ppm (Fe5), Fe w formie nano w stężeniu 10 ppm (Fe10). Statystykę wynikową test Wilksa ( $\lambda$ ) transponowano na statystykę  $F$ , przy poziomie istotności  $p = 0,05$ . Po udowodnieniu istotnego wpływu nanożelaza na parametry wymiany gazowej i fluorescencji wykonano porównań średnich obiektowych za pośrednictwem testu *post* LSD Fishera na poziomie istotności  $p = 0,05$ . Dane dotyczące morfologicznej charakterystyki liści rzepaku jarego pod wpływem dawek nano żelaza, zawartości suchej masy oraz zawartości żelaza w organach roślinnych opracowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji. Dane zaprezentowano jako średnie wraz z błędem oraz współczynnikiem zmienności Cv.

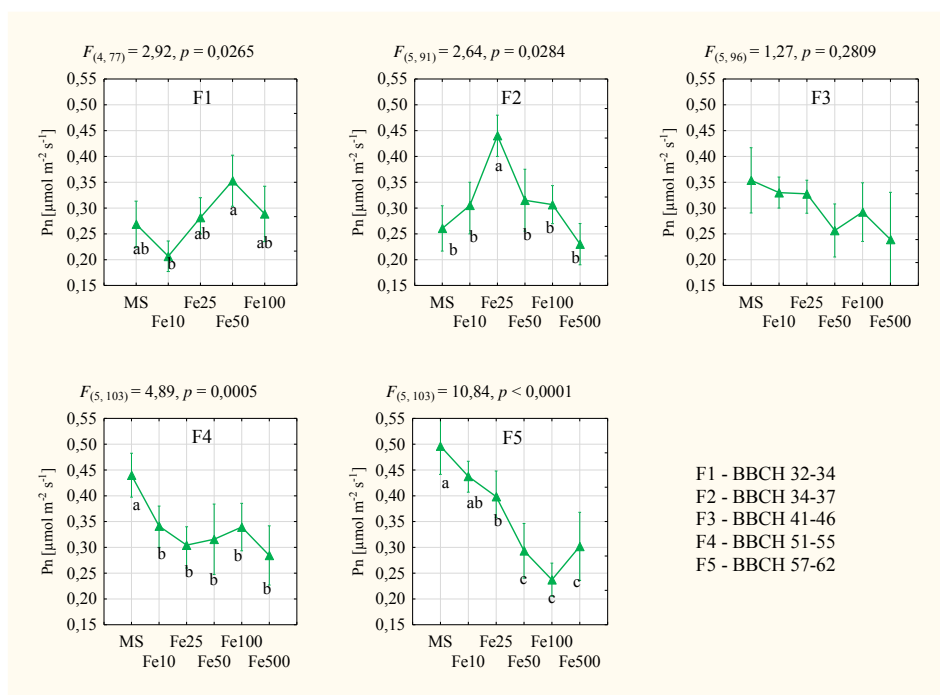
## 4. WYNIKI BADAŃ

### 4.1. Seria I – Doświadczenia na eksplantatach rzepaku jarego *in vitro*

#### 4.1.1. Wpływ zastosowania nanocząstek Fe na parametry fotosyntezy

##### 4.1.1.1. Intensywność fotosyntezy netto

Wyniki badania wykazały, że fotosynteza netto (Pn) eksplantatów rzepaku jarego hodowanych na pożywkach zależała zarówno od fazy rozwoju roślin oraz dawki stosowania nanoFe (rys. 3). Jedynie w fazie BBCH 41-46 nie wykazano istotnego wpływu stosowania nanoFe na wielkość asymilacji rzepaku jarego. Wskaźnik Pn był najmniejszy w początkowej fazie wzrostu (BBCH 32-34) rzepaku jarego hodowanego na pożywkach i wynosił średnio  $0,280 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Natomiast najwyższym wskaźnikiem Pn cechowały się rośliny w fazie BBCH 57-62, w którym średnio uzyskano poziom  $0,361 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . W pozostałych fazach rozwojowych rzepaku jarego tj. w BBCH 34-37, 41-46 i 51-55 uzyskano Pn na poziomie  $0,316 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  i nie różnił się on znacząco od ogólnej średniej dla wszystkich faz rozwojowych wynoszącej  $0,318 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Analizując wpływ stosowania nanoFe podczas hodowli *in vitro* rzepaku jarego należy zauważyć, że istotnie największy proces asymilacji miał miejsce w dwóch dawkach w początkowych fazach rozwojowych roślin, tj.  $0,353 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  w dawce 50 ppm w BBCH 32-34 i  $0,440 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  w dawce 25 ppm w BBCH 34-37. Aczkolwiek, dla pozostałych faz rozwojowych rzepaku jarego uzyskano istotnie maksymalny przebieg Pn w obiektach kontrolnych; odpowiednio  $0,440 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (BBCH 51-55) oraz  $0,496 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (BBCH 57-62). Natomiast istotnie najniższe parametry procesu asymilacji roślin dla dwóch ostatnich faz rozwojowych uzyskano po zastosowaniu nanoFe do pożywek w dawkach maksymalnych, tj. przy 500 ppm (BBCH 51-55) –  $0,284 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  i 100 ppm (BBCH 57-62) –  $0,237 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Również istotnie najniższą wartość wskaźnika przebiegu procesu asymilacji  $0,230 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  uzyskano po zastosowaniu nanoFe w dawce 500 ppm w fazie wzrostu roślin BBCH 34-37. W fazie BBCH 32-34 wartość fotosyntezy netto istotnie uległa obniżeniu po zastosowaniu nanoFe w dawce 10 ppm –  $0,207 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

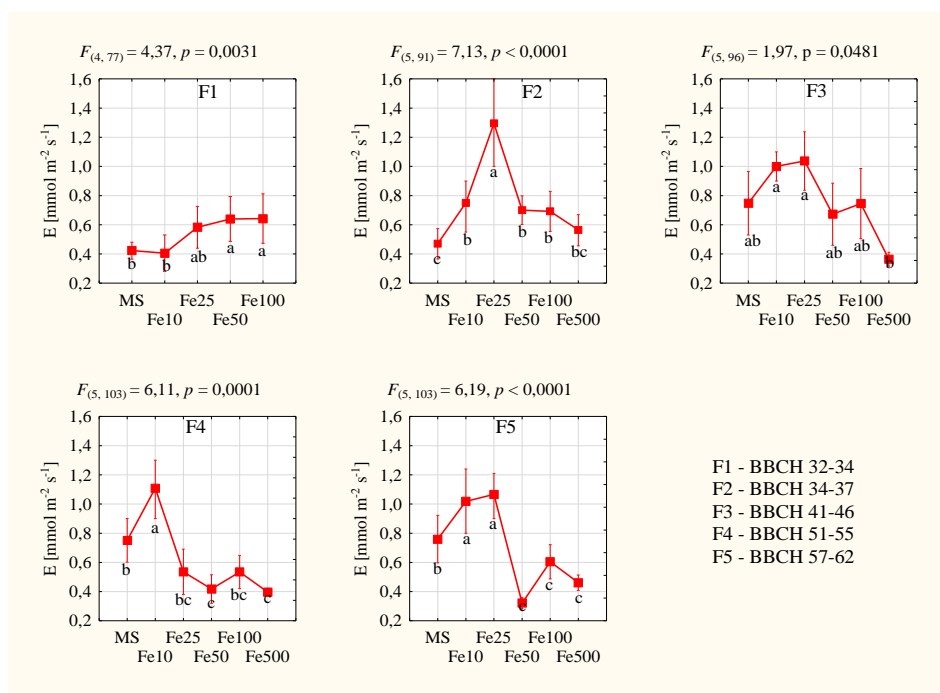


Źródło: opracowanie własne

Rys. 3. Intensywność fotosyntezy netto (Pn) eksplantatów rzepaku jarego w zależności od dawek nanoFe zastosowanych w pożywkach *in vitro*

#### 4.1.1.2. Wskaźnik transpiracji liścia

W eksperymencie *in vitro* okazało się, że wskaźnik transpiracji (E) zależał istotnie od fazy rozwojowej eksplantatów rzepaku jarego (rys. 4). Przebieg procesu transpiracji w całym eksperymencie wyniósł średnio  $0,675 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Należy stwierdzić, że proces transpiracji miał najmniejsze tempo w fazie wydłużania pędu głównego (BBCH 32-34) i wyniósł średnio  $0,539 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Natomiast najwyższą intensywność transpiracji miał w fazie rzepaku BBCH 41-43 – średnio  $0,761 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Wykazano istotny wpływ stosowania nanoFe na transpirację liści w każdej fazie rozwoju roślin rzepaku jarego w hodowlach *in vitro*; od największej w dawce 25 ppm –  $1,295 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (BBCH 34-37), do najmniejszej po zastosowaniu nanoFe w dawce 50 ppm –  $0,321 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (BBCH 57-62). Ponadto, w najwyższej dawce, tj. 500 ppm, na ogół uzyskiwano najmniejsze wskaźniki procesu transpiracji eksplantatów rzepaku jarego, niezależnie od fazy rozwojowej roślin (średnio  $0,447 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Statystycznie, w fazach BBCH od 34-37 do 67, największą transpirację u eksplantatów rzepaku jarego uzyskiwano po zastosowaniu dawki nanoFe 25 ppm –  $0,983 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  i dawki 10 ppm, średnio  $0,970 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

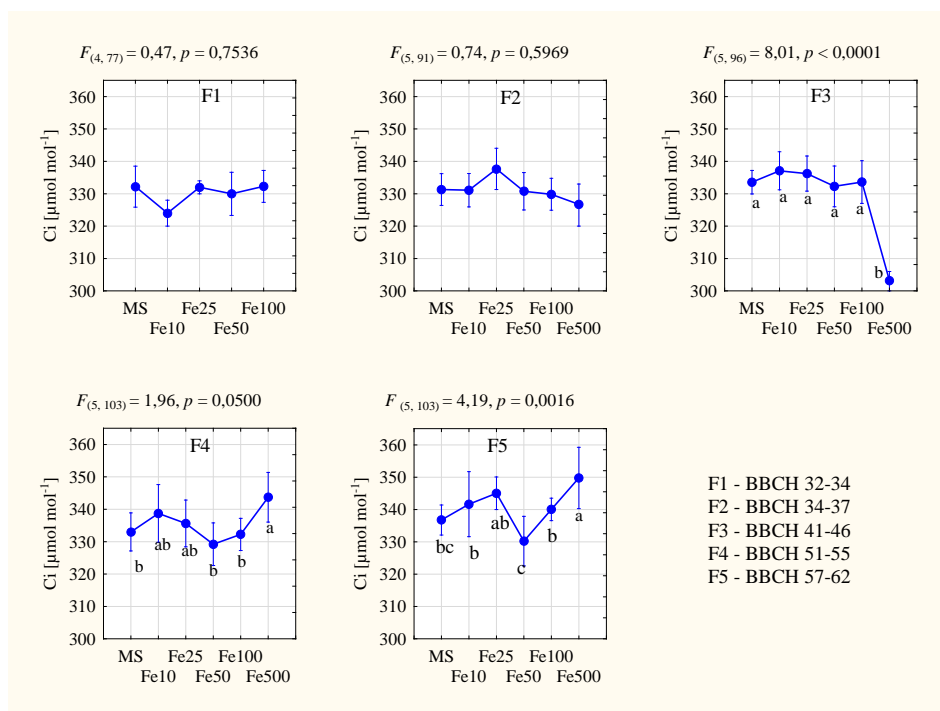


Źródło: opracowanie własne

Rys. 4. Wskaźnik transpiracji liścia (E) eksplantatów rzepaku jarego w zależności od dawek nanoFe zastosowanych w pożywkach *in vitro*

#### 4.1.1.3. Stężenie CO<sub>2</sub> międzykomórkowego

W zakresie pomiaru produktywności fotosyntetycznej roślin rzepaku jarego w hodowlach *in vitro* określono wewnętrzne stężenie CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) w liściu (rys. 5). Niezależnie od fazy rozwojowej, w której wykonywano pomiary uzyskano średnio C<sub>i</sub> na poziomie 333,3  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Najmniejsze stężenie CO<sub>2</sub> w liściu uzyskano w dwóch fazach wydłużenia pędu głównego tj. w BBCH 32-34 i 34-37 oraz w fazie rozwoju wegetatywnych części rośliny tj. w BBCH 41-46, które wynosiło średnio 330,2  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Natomiast największy wskaźnik C<sub>i</sub> otrzymano w fazie rozwoju pąków kwiatowych oraz w fazie kwitnienia, tj. w BBCH 57-62, średnio 340,6  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Statystycznie, uzyskano istotne różnice C<sub>i</sub> po zastosowaniu różnych dawek nanoFe do pożywek w fazach BBCH 41-46, 51-55 i 57-62. W fazach BBCH 51-55 i 57-62 istotnie największy wskaźnik C<sub>i</sub> otrzymano po zastosowaniu największej dawki tj. 500 ppm, odpowiednio 343,7 i 349,8  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Natomiast w fazie BBCH 41-46 istotnie największym parametrem C<sub>i</sub> wykazywały się liście po zastosowaniu 10 ppm nanoFe – 337,1  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  a jednocześnie w tej fazie wzrostu uzyskano istotnie najmniejszą wartość tego wskaźnika po zastosowaniu 500 ppm nanoFe – 303,2  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . W pozostałych fazach wzrostu roślin rzepaku jarego, tj. w BBCH 51-55, 57-62, uzyskano istotne najmniejsze wewnętrzne stężenie CO<sub>2</sub> w liściach po zastosowaniu do pożywki nanoFe w dawce 50 ppm, C<sub>i</sub> odpowiednio dla faz rozwoju 329,2 i 330,2  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ .



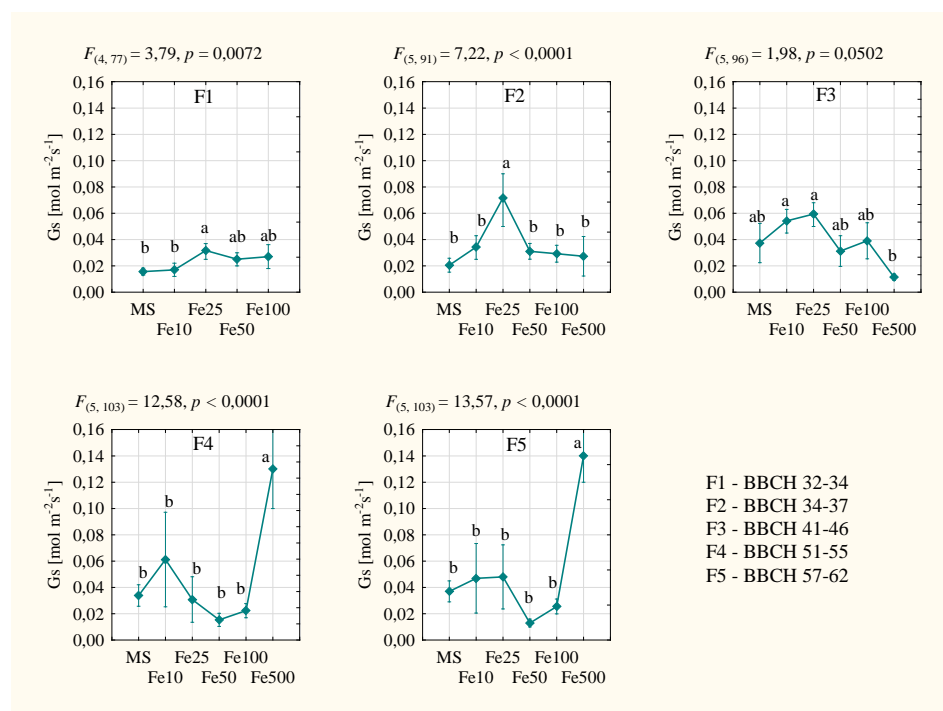
Źródło: opracowanie własne

Rys. 5. Zawartość CO<sub>2</sub> międzykomórkowego (Ci) eksplantatów rzepaku jarego w zależności od dawek nanoFe zastosowanych w pożywkach *in vitro*

#### 4.1.1.4. Przewodność aparatów szparkowych

Bezpośredni pomiar przewodnictwa szparkowego liści (Gs) dotyczył wpływu zróżnicowanych dawek nanoFe w poszczególnych fazach rozwoju rzepaku jarego na wielkość tego parametru (rys. 6). Dla całego doświadczenia uzyskano średnią wartość Gs na poziomie 0,0397 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. Jednoznacznie można wskazać, że wielkość Gs u eksplantatów rzepaku jarego różniła się w zależności od fazy rozwojowej rzepaku i zwiększała się w miarę wzrostu roślin. Najmniejszą wielkością Gs charakteryzowały się liście roślin w początkowych fazach rozwojowych. W fazach wzrostu pędu głównego uzyskano najmniejszą wielkość Gs wynoszącą średnio 0,0233 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (BBCH 32-34) i 0,0357 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (BBCH 34-37). Natomiast największe wskaźniki Gs uzyskano dla roślin w końcowym okresie wzrostu tj. rozwoju pąków kwiatowych oraz kwitnienia, średnio: 0,0489 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (BBCH 51-55) i 0,0518 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (BBCH 57-62). W początkowych fazach wzrostu tj. w BBCH 32-34 i BBCH 34-37 uzyskano największe wartości Gs po zastosowaniu żelaza w dawce 25 ppm, a najmniejsze w obiektach kontrolnych, odpowiednio: 0,0317 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> i 0,0717 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> oraz 0,0157 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> i 0,0206 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. Jednak po zastosowaniu dawki maksymalnej nanoFe, tj. 500 ppm w końcowych fazach wegetacji roślin BBCH 51-55 i 57-62 uzyskano największe parametry wskaźnika Gs odpowiednio: 0,1300 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> i 0,1400 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>

a najmniejsze po dodaniu do pożywek nanoFe w dawce 50 ppm odpowiednio: 0,0154 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> i 0,0130 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. Na uwagę zasługują wartości Gs uzyskane w fazie BBCH 41-46, ponieważ otrzymano najmniejsze przewodnictwo szparkowe po zastosowaniu nanoFe w dawce 500 ppm – 0,0114 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> a największe po dodaniu w ilości 25 ppm – 0,0594 mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>.



Źródło: opracowanie własne

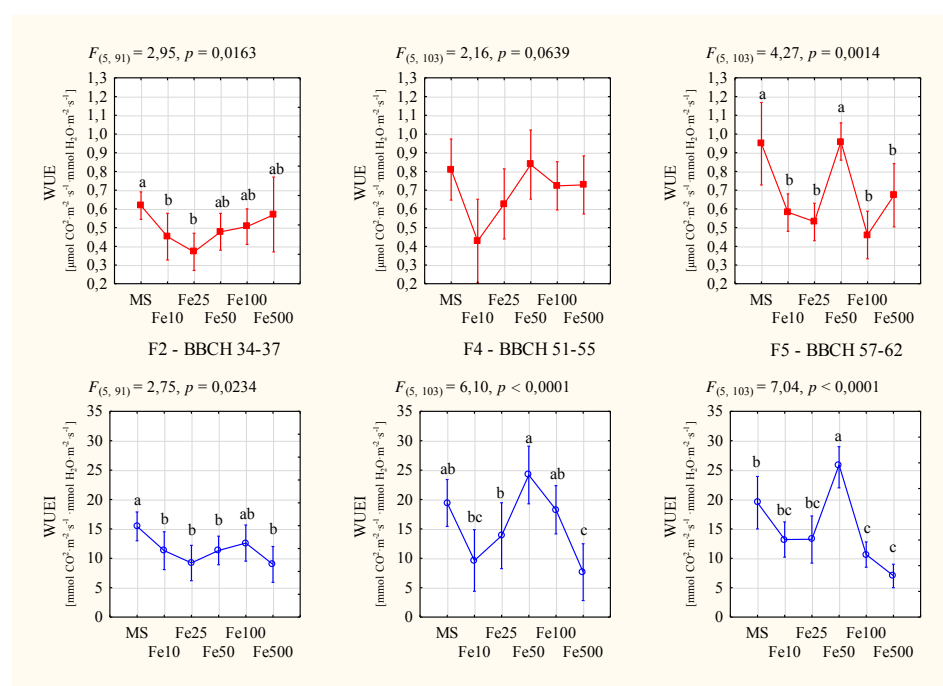
Rys. 6. Przewodność aparatów szparkowych (Gs) eksplantatów rzepaku jarego w zależności od dawek nanoFe zastosowanych w pożywkach *in vitro*

#### 4.1.1.5. Współczynniki wykorzystania wody WUE, WUEI

Faza rozwoju rośliny oraz zastosowane w doświadczeniu dawki nawożenia nanoFe znacząco wpłynęły na wartości badanych współczynników wykorzystania wody WUE i WUEI przez rzepak jary (rys. 7). Dla całego układu doświadczenia uzyskano średnie wartości wskaźników WUE i WUEI odpowiednio na poziomach: 0,628  $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  mmol H<sub>2</sub>O·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> i 13,96 mmol CO<sub>2</sub>·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> mmol H<sub>2</sub>O·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. Najwyższe średnie wykorzystanie wody WUE oraz WUEI stwierdzono w fazach rozwoju pąków kwiatowych oraz kwitnienia rzepaku jarego odpowiednio: 0,692 i 15,50  $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  mmol H<sub>2</sub>O·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (BBCH 51-55, BBCH57-62) oraz 14,92 mmol CO<sub>2</sub>·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> mmol H<sub>2</sub>O·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> i (BBCH 51-55). Natomiast najmniejsze wartości wskaźników WUE i WUEI uzyskano w fazie wzrostu wydłużania pędu głównego (BBCH 34-37) średnio odpowiednio na poziomie: 0,498  $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  mmol H<sub>2</sub>O·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> i 11,48 mmol CO<sub>2</sub>·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> mmol



$\text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . W fazie BBCH 34-37 uzyskano najwyższe wskaźniki WUE i WUEI w obiektach kontrolnych odpowiednio:  $0,617 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  i  $15,43 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Natomiast najmniejsze wartości wskaźników WUE i WUEI w tej samej fazie rozwoju roślin po zastosowaniu nanoFe w dawce 25 ppm, odpowiednio  $0,370 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  i  $9,23 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . W fazie rozwoju roślin BBCH 57-62 uzyskano istotnie najwyższe wartości wskaźnika WUE w kontroli oraz w dawce 50 ppm nanoFe, odpowiednio:  $0,948 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  i  $0,959 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Jednak istotnie najniższy wskaźnik WUE miały rośliny w fazie BBCH 57-62 po zastosowaniu nanoFe w dawce 100 ppm –  $0,461 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Inaczej wyglądały wartości WUEI; zarówno w fazach BBCH 51-55 i BBCH 57-62 rośliny po dodaniu do pożywek nanoFe w ilości 100 ppm uzyskały istotnie najwyższe wartości tego współczynnika odpowiednio na poziomach:  $24,17 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  i  $25,88 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Również w tych samych fazach rozwojowych roślin uzyskano istotnie najmniejsze wartości wskaźnika WUEI lecz po zastosowaniu maksymalnej dawki nanoFe w ilości 500 ppm odpowiednio:  $7,66 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  i  $7,04 \text{ mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .



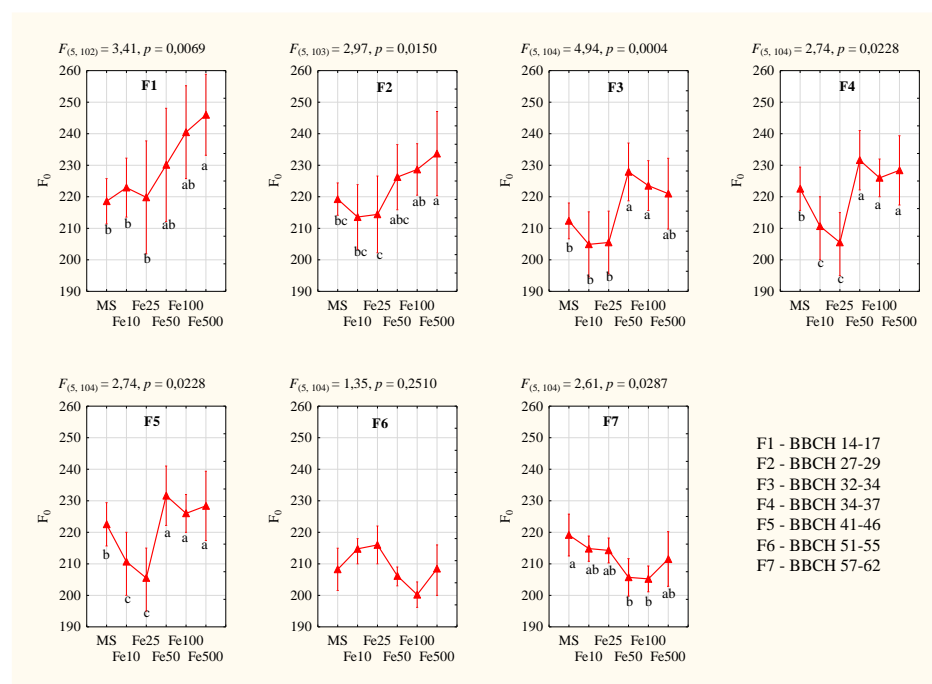
Źródło: opracowanie własne

Rys. 7. Współczynniki wykorzystania wody (WUE i WUEI) przez eksplantaty rzepaku jarego w zależności od dawek nanoFe zastosowanych w pożywkach *in vitro*

## 4.1.2. Wpływ zastosowania nanocząstek Fe na parametry fluorescencji

### 4.1.2.1. Fluorescencja początkowa $F_0$

W badaniach uzyskano różne wartości parametru  $F_0$ , które zależały od fazy rozwojowej rzepaku jarego (rys. 8). Największymi wartościami fluorescencji początkowej wykazywały się liście rzepaku jarego w początkowych fazach rozwojowych, natomiast najmniejszymi w końcowych. Najwyższa średnia wartość  $F_0$  w całym rozwoju rzepaku jarego wyniosła 229,7, natomiast najmniejsza w fazie rozwoju pąków kwiatowych – 209,0.



Źródło: opracowanie własne

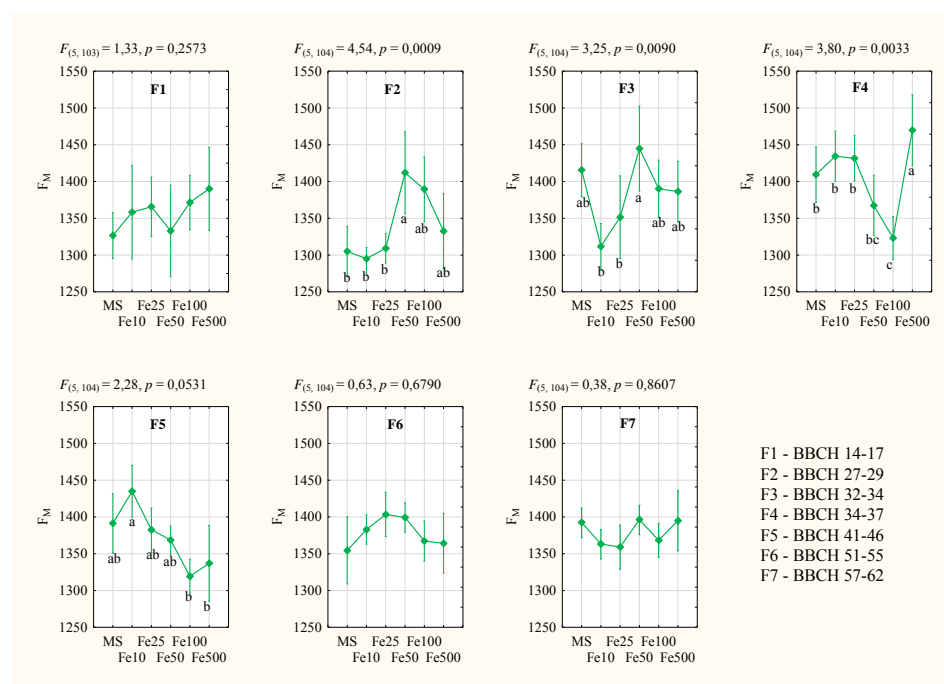
Rys. 8. Wpływ dawek nanoFe w pożywce *in vitro* na fluorescencję początkową rzepaku jarego

Uzyskane wyniki  $F_0$  wykazały istotny wpływ dawek nanoFe na ten parametr we wszystkich fazach rozwojowych roślin poza fazą BBCH 51-55. W fazach początkowego rozwoju rzepaku jarego dawki minimalnie istotnie obniżyły badany parametr, natomiast maksymalne dawki podwyższały jego wartości. Natomiast w trakcie wzrostu rzepaku proporcje wpływu dawek nanoFe zmieniały się i uzyskano największe wartości  $F_0$  po zastosowaniu mniejszych dawek nanoFe. W fazach BBCH 27-29 i 32-34 uzyskano istotnie najmniejszą wartość  $F_0$  po zastosowaniu nanoFe w dawce 10 ppm odpowiednio: 213,6 i 204,9, z kolei w fazach BBCH 34-37 i 41-46 najmniejszą  $F_0$  otrzymano po dodaniu do pożywki 25 ppm nanoFe (średnio 205,5), a w fazie BBCH 57-62 uzy-

skano parametr  $F_0$  na najmniejszym poziomie po zastosowaniu nanoFe w ilości 100 ppm – 205,2. Natomiast maksymalne wartości parametru  $F_0$  uzyskano w fazach rozwoju liści i pędów bocznych po zastosowaniu nanoFe w dawce 500 ppm odpowiednio: 246,0 i 233,7. Dla następnych faz rozwojowych BBCH 32-34 i 34-37 uzyskano największe wartości wskaźnika początkowej fluorescencji dodając do pożywek nanoFe w ilości 50 ppm odpowiednio: 227,9 i 231,6. Natomiast w fazie kwitnienia rzepaku jarego parametr  $F_0$  był maksymalny, jeżeli nie stosowano do pożywek nanoFe – 219,1.

#### 4.1.2.2. Fluorescencja maksymalna $F_M$

W każdej z ocenianych faz rozwojowych rzepaku jarego uzyskano różnice wartości parametru fluorescencji  $F_M$  (rys. 9). Najmniejszą średnią wartością  $F_M$  wykazały się liście roślin w fazie początkowej tj. w rozwoju pędów bocznych oraz w rozwoju liści rzepaku jarego, tj. odpowiednio 1340,6 i 1357,5. Natomiast najwyższe średnie wartości  $F_M$  1406,0 uzyskiwały liście w fazie wydłużania pędu głównego. W pozostałych fazach rozwojowych uzyskane wartości  $F_M$  wynosiły średnio od 1372,3 do 1383,4. Dla czterech ocenianych faz rozwojowych BBCH 27-29, 32-34, 34-37 i 41-46 uzyskano istotne różnice wartości  $F_M$  w zależności od zastosowania nanoFe do pożywek w hodowli *in vitro*. Zarówno w fazie rozwoju pędów bocznych oraz wydłużania pędu głównego uzyskano najniższą wartość tego parametru po dodaniu do pożywki 10 ppm nanoFe odpowiednio 1295,2 i 1311,8.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 9. Wpływ dawek nanoFe w pożywce *in vitro* na fluorescencję maksymalną rzepaku jarego

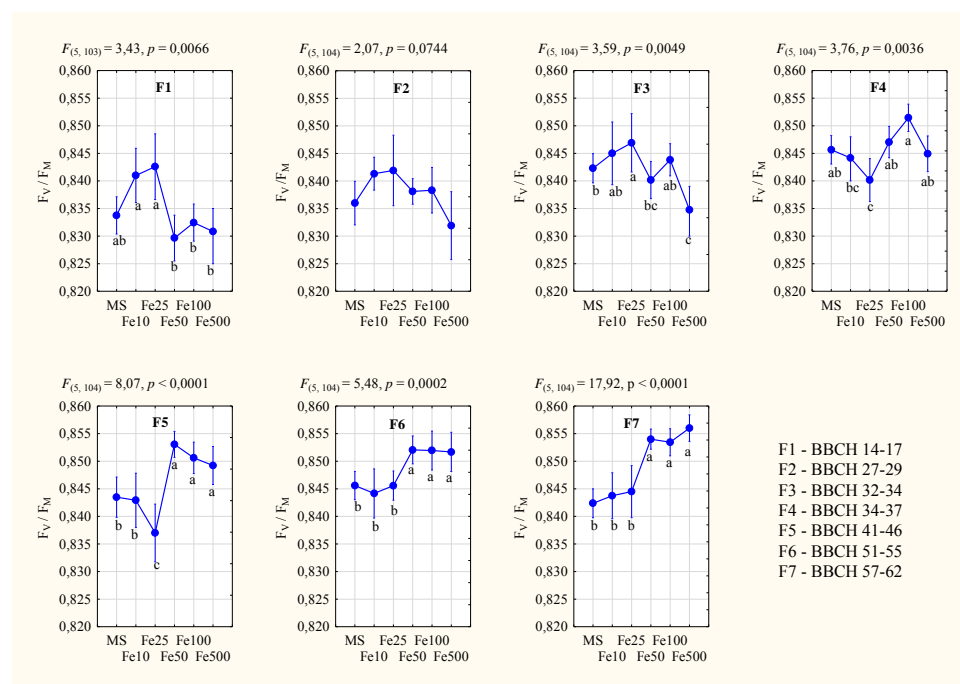
Również dla tych samych faz rozwojowych uzyskano najwyższe wartości  $F_M$  po zastosowaniu nanoFe w dawce 50 ppm odpowiednio 1411,9 oraz 1444,9. Natomiast dla faz rozwojowych BBCH 34-37 i 41-46 otrzymano parametr  $F_M$  na poziomie najniższym odpowiednio 1323,2 i 1319,4, jednakże po zastosowaniu nanoFe w dawce 100 ppm. W fazie rozwoju BBCH 34-37 rzepaku jarego otrzymano maksymalny poziom  $F_M$  po dodaniu nanoFe do pożywki w ilości 500 ppm – 1469,8, natomiast w fazie BBCH 41-46 uzyskano maksymalną wartość  $F_M$  po zastosowaniu nanoFe w dawce 10 ppm – 1435,0. W pozostałych fazach rozwojowych rzepaku jarego zanotowano jedynie tendencje do zmiany parametru  $F_M$  w zależności od wielkości zastosowanych dawek nanoFe. Najmniejszym wskaźnikiem  $F_M$  cechowały się liście rzepaku jarego w fazach rozwojowych BBCH 14-17 i 51-55 w obiektach kontrolnych odpowiednio: 1326,5 i 1354,5, a w fazie BBCH 57-62 po dodaniu do pożywek nanoFe w dawce 25 ppm – 1359,3. Natomiast najwyższymi wartościami parametru  $F_M$  wykazywały się liście rzepaku jarego w fazie BBCH 14-17 po zastosowaniu nanoFe w dawce maksymalnej (500 ppm) – 1390,0, w fazie BBCH 51-55 w dawce 25 ppm – 1403,5 i w fazie BBCH 57-62 w dawce 50 ppm – 1396,4.

#### 4.1.2.3. Sprawność fotochemiczna PSII – $F_V/F_M$

Pomiary fluorescencji chlorofilu a dostarczają informacji o wpływie stresu na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego roślin. Najpowszechniej stosowanym parametrem jest  $F_V/F_M$ , który determinuje maksymalną wydajność kwantową PSII, a u większości roślin w warunkach fizjologicznych ma wartości od 0,78 do 0,84, natomiast w warunkach bez stresu powinien być bliski 0,83. Wszystkie uzyskane wyniki w badaniach własnych wskazują na brak stresu u roślin rzepaku jarego niezależnie od fazy rozwoju oraz zastosowanych dawek nanoFe do pożywek, ponieważ uzyskano wartości wskaźnika  $F_V/F_M$  powyżej 0,83.

W badaniach własnych parametr  $F_V/F_M$  ocenianych liści rzepaku jarego był różny w poszczególnych fazach rozwojowych (rys. 10). Najwyższą sprawnością fotochemiczną PSII cechowały się liście rzepaku jarego w dwóch końcowych fazach rozwoju roślin tj. BBCH 51-55 i 57-62, średnio – 0,849. Natomiast najmniejszy wyróżnik fotoukładu PSII ( $F_V/F_M$ ) dotyczył liści rzepaku jarego w początkowych fazach rozwoju średnio: 0,835 (BBCH 14-17) i 0,838 (BBCH 27-29). Ponadto wykazano istotny wpływ stosowania nanoFe na fluorescencję chlorofilu a w zakresie maksymalnej wydajności kwantowej PSII w następujących fazach rozwojowych rzepaku jarego: rozwoju liści, wydłużania pędu głównego, rozwoju wegetatywnych części roślin oraz rozwoju pąków kwiatowych i kwitnienia. Największym wskaźnikiem  $F_V/F_M$  w fazie BBCH 14-17 i 32-34 cechowały się liście rzepaku jarego po zastosowaniu nanoFe w dawce 25 ppm odpowiednio: 0,843 i 0,847. Natomiast najniższy wskaźnik fotoukładu PSII w tych samych fazach rozwojowych posiadały liście roślin po zastosowaniu nanoFe w ilości 50 oraz 500 ppm do pożywki odpowiednio: 0,830 i 0,831 (BBCH 14-17) oraz 0,840 i 0,835 (BBCH 32-34). Należy podkreślić, że dla pozostałych faz rozwojowych

najmniejsze wartości  $F_V/F_M$  uzyskano dla najmniejszych dawek nanoFe, a największe po zastosowaniu do pożywek największych dawek nanoFe. Jednak w fazach BBCH 34-37 i 41-46 uzyskano najmniejsze  $F_V/F_M$  pod wpływem dawki 25 ppm nanoFe odpowiednio 0,840 i 0,837, a największe po dodaniu nanoFe odpowiednio w dawkach 100 i 50 ppm (średnio 0,852). Ponadto, w tych samych fazach rozwojowych rzepaku jarego uzyskano maksymalne wartości wskaźnika  $F_V/F_M$  odpowiednio po zastosowaniu nanoFe w dawce 50 ppm (BBCH 51-55) oraz 500 ppm (BBCH 57-62) odpowiednio: 0,852 i 0,856.



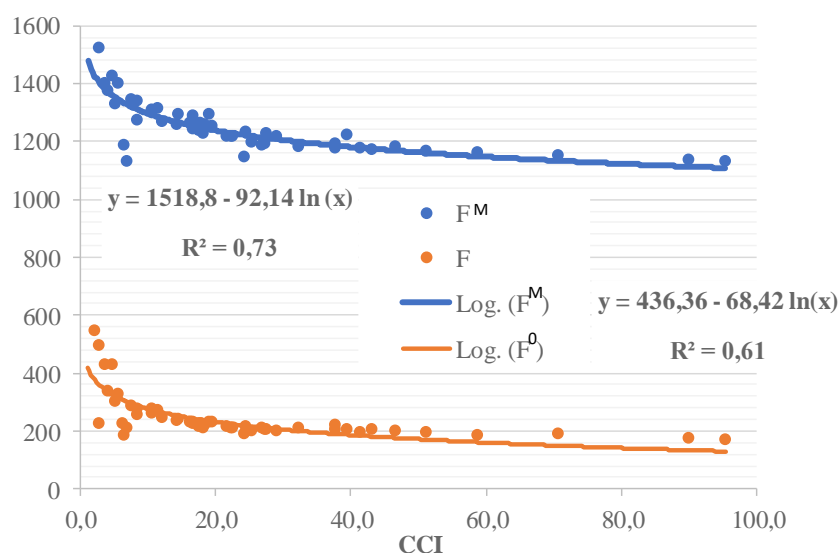
Źródło: opracowanie własne

Rys. 10. Wpływ dawek nanoFe w pożywce *in vitro* na sprawność fotochemiczną PSII rzepaku jarego

#### 4.1.2.4. Zależność $F_0$ i $F_M$ od CCI

Barwa rośliny determinowana jest zawartością barwników chlorofilowych a także jest wskaźnikiem kondycji roślin oraz ich odporności na niekorzystne warunki środowiskowe. Uzyskano wysoko istotne korelacje między wskaźnikami fluorescencji początkowej oraz fluorescencji maksymalnej a zawartością barwników chlorofilowych ogółem w liściach rzepaku jarego (rys. 11). Współczynniki determinacji ( $R^2$ ) wynosiły odpowiednio: 0,61 (dla CCI i  $F_0$ ) i 0,73 (dla CCI i  $F_M$ ). Uzyskane współczynniki wskazują na zależności, w których parametr fluorescencji początkowej zależy w 61% od zawartości chlorofilu ogółem w liściach rzepaku natomiast fluorescencja maksymalna zależy w 73% od koncentracji chlorofilu w tych samych organach wegetatywnych ro-

śliny. Ponadto, obliczone współczynniki determinacji wskazują, że wskaźniki fluorescencji początkowej oraz maksymalnej można uznać za indykatory zawartości barwników chlorofilowych ogółem w liściach rzepaku jarego.

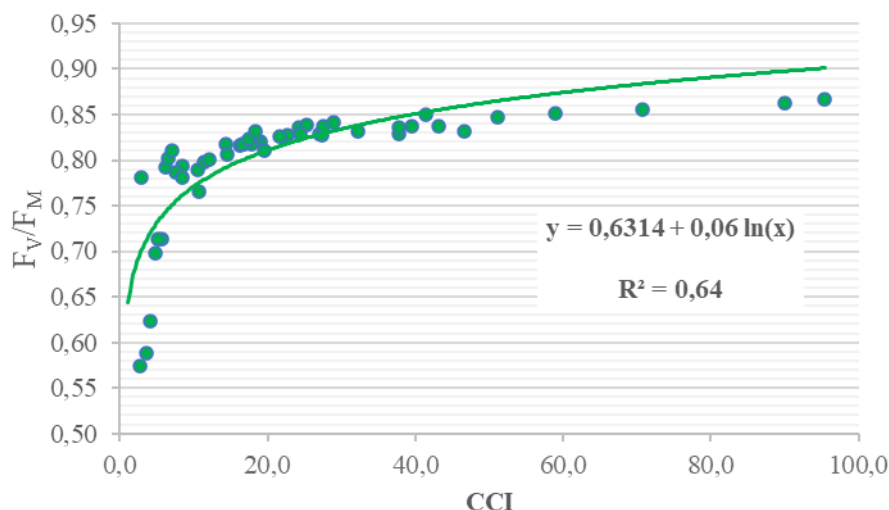


Źródło: opracowanie własne

Rys. 11. Zależność między zawartością chlorofilu (CCI) a fluorescencją początkową ( $F_0$ ) i fluorescencją maksymalną ( $F_M$ ) w liściach rzepaku jarego po zastosowaniu różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.2.5. Zależność $F_V/F_M$ od CCI

Po wykonaniu obliczeń statystycznych określających zależność między zawartością barwnika chlorofilowego a parametrem fluorescencji  $F_V/F_M$  ogółem w liściach rzepaku jarego pochodzącego z kultur *in vitro* otrzymano istotną korelację (rys. 12) oraz współczynnik determinacji na poziomie 0,64. Wskazuje to na wysoko istotną zależność, w której parametr fluorescencji zależy w 64% od zawartości barwnika chlorofilowego ogółem w liściach rzepaku jarego. Na podstawie równania regresji ( $y = 0,6314 + 0,06 \ln(x)$ ) można stwierdzić, że wraz ze wzrostem zawartość chlorofilu ogółem w liściach rzepaku jarego wzrasta logarytmicznie poziom parametru sprawności fotochemicznej PSII.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 12. Zależność między sprawnością fotochemiczną PSII ( $F_v/F_m$ ) a zawartością chlorofilu (CCI) w liściach rzepaku jarego po zastosowaniu różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.2.6. Analiza korelacji między parametrami fluorescencji a zawartością chlorofilu ogółem w liściach rzepaku jarego dla różnych dawek nanoFe

Po wykonaniu analizy statystycznej w zakresie zależności między fluorescencją początkową, maksymalną oraz sprawnością fotochemiczną a zawartością chlorofilu ogółem w liściach eksplantatów rzepaku jarego, dla poszczególnych dawek nanoFe, przedstawiono wartości współczynników determinacji oraz równania regresji w tabeli 7. Uzyskano wysoko istotne współczynniki determinacji między fluorescencją zerową a zawartością chlorofilu ogółem w liściach w badaniach przeprowadzonych w obiektach kontrolnych, po zastosowaniu nanoFe w dawce 25, 50, oraz 500 ppm. Dla obiektu w którym zastosowano 100 ppm nano Fe uzyskano zależność między  $F_0$  a CCI na niskim poziomie. Natomiast dla zależności między fluorescencją maksymalną a zawartością chlorofilu ogółem w liściach uzyskano najwyższe wysoko istotne współczynniki determinacji po dodaniu do pożywek nanoFe w ilości 25 i 50 ppm. Natomiast wysoko istotne współczynniki determinacji między  $F_m$  a CCI uzyskano dla roślin pochodzących z obiektów kontrolnych oraz po dodaniu do pożywek nanoFe w ilości 100 ppm oraz 500 ppm. Jeżeli rozpatrujemy zależność między rozpatrujemy zależność między wyróżnikiem fotoukładu PSII ( $F_v/F_m$ ) a zawartością chlorofilu ogółem w liściach to uzyskano wysoko istotne współczynniki determinacji w obiektach doświadczalnych w których zastosowano nanoFe w następujących ilościach: 25, 50, 100 oraz 500 ppm. Dla pozostałych obiektów uzyskano zależności na niskim poziomie.

Uzyskane wyżej wymienione zależności wskazują, że niezależnie od wariantu z zastosowanym nanoFe w doświadczeniu, na ścisły związek między parametrami fluorescencji chlorofilu a, a zawartością tego barwnika w liściach rzepaku jarego.

Tab. 7. Równania regresji prostoliniowej i współczynniki determinacji dla zależności między parametrami fluorescencji a zawartością chlorofilu ogółem w liściach rzepaku jarego w zależności od dawek nanoFe

Obiekt	Model regresji	R <sup>2</sup>
MS	$Y_{F_0} = 536,8 - 109,8 \ln(x)$	0,86**
	$Y_{F_M} = 1660,8 - 141,9 \ln(x)$	0,95**
	$Y_{F_V/F_M} = 0,544 + 0,100 \ln(x)$	0,74*
Fe10	$Y_{F_0} = 381,7 - 57,4 \ln(x)$	0,23ni
	$Y_{F_M} = 1373,9 - 51,2 \ln(x)$	0,11ni
	$Y_{F_V/F_M} = 0,683 + 0,048 \ln(x)$	0,53*
Fe25	$Y_{F_0} = 580,0 - 126,1 \ln(x)$	0,92**
	$Y_{F_M} = 1638,9 - 133,5 \ln(x)$	0,96***
	$Y_{F_V/F_M} = 0,501 + 0,115 \ln(x)$	0,88**
Fe50	$Y_{F_0} = 480,5 - 90,1 \ln(x)$	0,85**
	$Y_{F_M} = 1494,6 - 89,4 \ln(x)$	0,93***
	$Y_{F_V/F_M} = 0,485 + 0,115 \ln(x)$	0,87**
Fe100	$Y_{F_0} = 229,9 - 0,66(x)$	0,82*
	$Y_{F_M} = 1215,7 - 0,92(x)$	0,91**
	$Y_{F_V/F_M} = 0,81 + 0,0006(x)$	0,90**
Fe500	$Y_{F_0} = 287,6 - 24,4 \ln(x)$	0,88**
	$Y_{F_M} = 1424,9 - 63,1 \ln(x)$	0,89**
	$Y_{F_V/F_M} = 0,755 + 0,024 \ln(x)$	0,91**

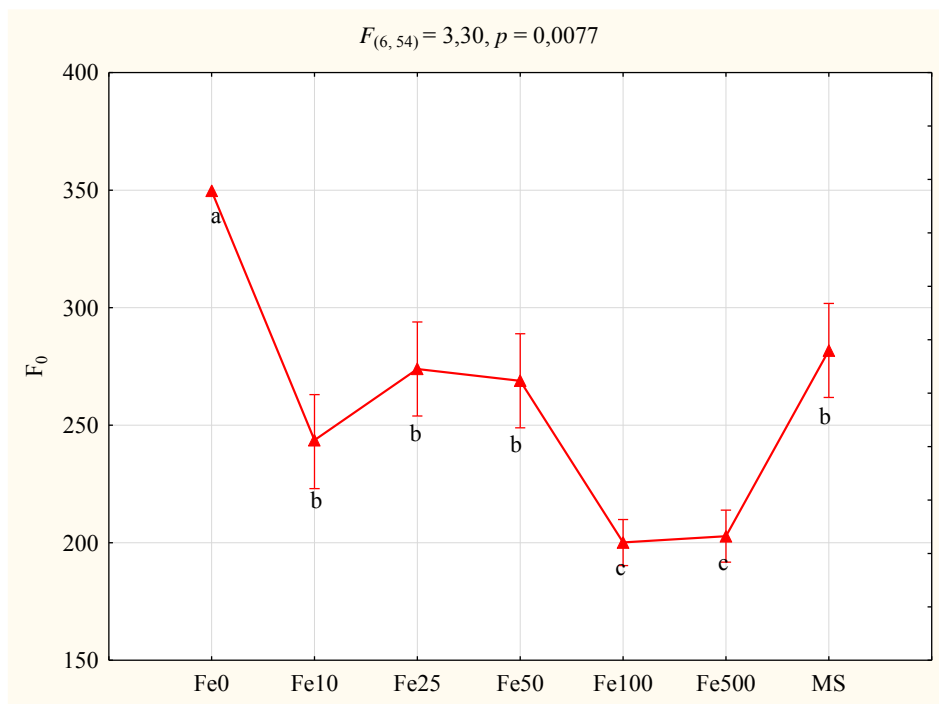
Źródło: opracowanie własne



#### 4.1.3. Parametry fluorescencji oraz powierzchni liści w fazie początkowej rozwoju liści rzepaku jarego pochodzącego z kultur *in vitro*

##### 4.1.3.1. Fluorescencja początkowa ( $F_0$ )

Po wykonaniu badań w fazie rozwoju BBCH 12-14 rzepaku jarego w zakresie pomiaru fluorescencji zerowej obiektów z liści zaadoptowanych do ciemności można wskazać, że brak stosowania nanoFe istotnie wpłynął na zmniejszenie sprawności przekazywania energii wzbudzenia między cząsteczkami barwników w antenie energetycznej PSII. Średnia wielkość fluorescencji dla całego układu doświadczenia z eksplantatów rzepaku jarego wyniósł 260,1 (rys. 13). Natomiast niekorzystną dla roślin wartość parametru  $F_0$  otrzymano w obiektach kontrolnych (bez stosowania nanoFe), ponieważ uzyskano wielkość wskaźnika na poziomie 349,7. Najkorzystniej istotnie na sprawność fluorescencji chlorofilu a wpłynęła dodana do pożywki ilość 100 oraz 500 ppm nanoFe, ponieważ uzyskano wartości fluorescencji początkowej na najniższych poziomach odpowiednio: 200,1 i 202,8. Po zastosowaniu pozostałych dawek nanoFe (10, 25, 50 ppm) oraz żelaza w formie chelatowej (MS) do pożywek uzyskano istotnie średnie wartości wskaźnika fluorescencji początkowej odpowiednio: 243,7, 273,9, 268,9 i 281,8.

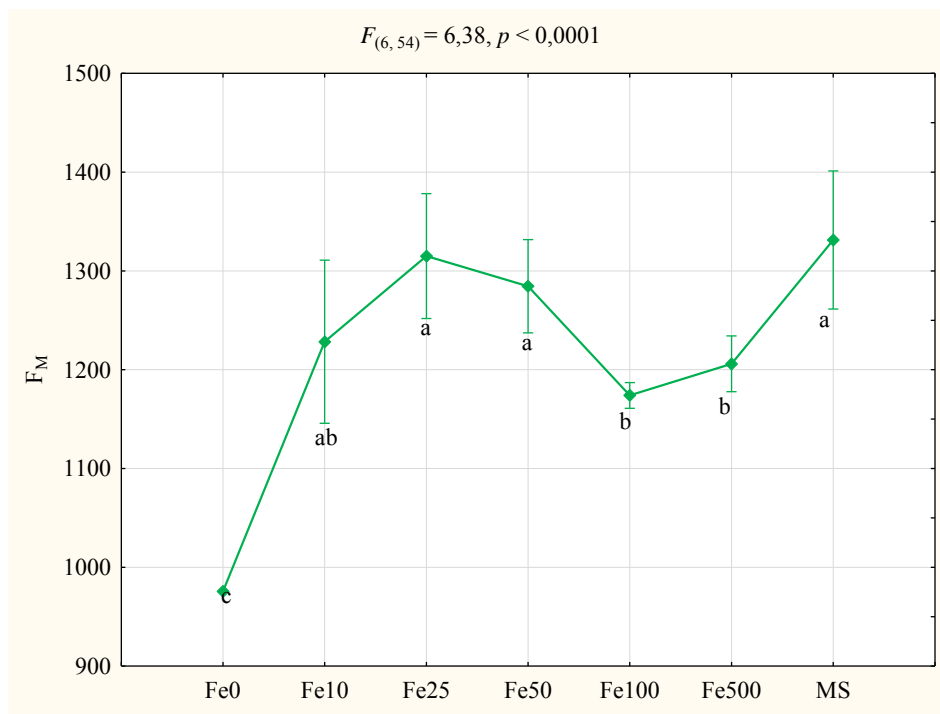


Źródło: opracowanie własne

Rys. 13. Wpływ różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro* na fluorescencję początkową ( $F_0$ ) w fazie rozwoju liści

#### 4.1.3.2. Fluorescencja maksymalna ( $F_M$ )

Po przeprowadzeniu badań fluorescencji maksymalnej wyznaczonej po adaptacji w ciemności liści rzepaku jarego można stwierdzić, że istotnie najwyższymi parametrami tego wskaźnika cechowały się rośliny pochodzące z kultur *in vitro* z dodatkiem do pożywek żelaza w formie chelatu oraz nano w ilości 25 ppm odpowiednio: 1331,3 i 1315,0 (rys. 14). Oznacza to o braku występowania u roślin w fazie rozwoju BBCH 12-14 stresu, ponieważ uzyskano wysokie parametry  $F_M$ . Ogólnie w eksperymencie otrzymano wartość wskaźnika  $F_M$  wynoszącego 1216,4. Natomiast istotnie najniższą wartość fluorescencji maksymalnej uzyskano dla liści eksplantatów rzepaku jarego w obiektach, w których nie zastosowano żelaza – 975,7. Wskazuje to na wielkość wskaźnika  $F_M$  dla obiektów, w których działanie powoduje, że nie wszystkie akceptory elektronów w PSII mogą zostać całkowicie zredukowane. Oznacza to, że rośliny znajdowały się pod wpływem stresu. W pozostałych obiektach doświadczalnych uzyskano wartości fluorescencji maksymalnej liści rzepaku jarego od 1174,0 do 1284,5.

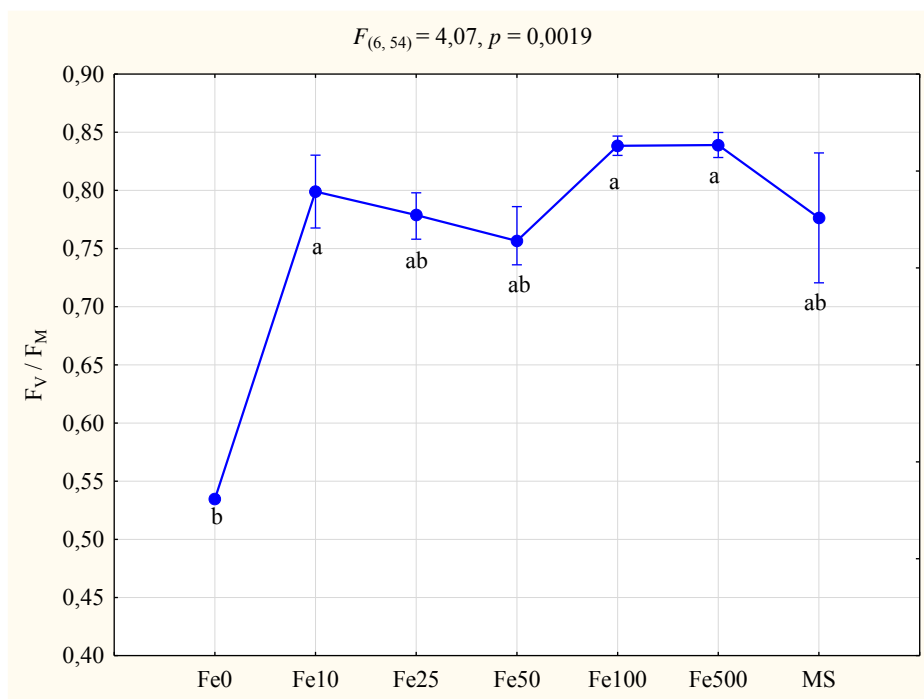


Źródło: opracowanie własne

Rys. 14. Wpływ różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro* na fluorescencję maksymalną ( $F_M$ ) w fazie rozwoju liści

#### 4.1.3.3. Sprawność fotochemiczna PSII ( $F_v/F_m$ )

Wykonanie licznych badań w zakresie określenia maksymalnej fotochemicznej wydajności PSII dla liści eksplantatów rzepaku jarego zaadaptowanych w ciemności wskazuje na podobne zależności jakie uzyskano dla parametrów  $F_0$  i  $F_m$ . Średnia wartość parametru  $F_v/F_m$ , którą otrzymano dla całego eksperymentu wynosiła 0,760 (rys. 15). Natomiast najmniejszą istotnie wartość tego parametru otrzymano dla obiektów, w których nie zastosowano żelaza – 0,535. Uzyskanie tak niskiej wartości  $F_v/F_m$  poniżej 0,790, wskazuje na warunki stresowe u roślin podczas ich rozwoju w fazie BBCH 12-14, gdyż nie zastosowano żelaza. Dla większości roślin w warunkach bezstresowych wartość maksymalna sprawności fotochemicznej PSII wynosi powyżej 0,830. W badaniach własnych istotnie najwyższymi wartościami parametru  $F_v/F_m$  cechowały się liście rzepaku jarego pochodzące z kultur *in vitro* po zastosowaniu nanoFe w ilości 100 ppm (0,838) oraz 500 ppm (0,839). Uzyskane wartości maksymalnej fotochemicznej wydajności PSII na tak wysokim poziomie wskazują, że rośliny rozwijały się w warunkach bez stresowych. Dla pozostałych obiektów doświadczalnych wartości sprawności fotochemicznej PSII liści rzepaku jarego z kultur *in vitro* wskazują na optymalny przebieg procesów fotochemicznych, gdyż wyniki parametru wynosiły od 0,757 (F50) do 0,799 (F10). Należy również dodać, że wskazania optymalne wartości wskaźnika  $F_v/F_m$  dotyczą roślin w fazie pełnego rozwoju a badania własne były przeprowadzone w roślinach w fazie rozwoju początkowego (rozwoju liści rzepaku jarego).

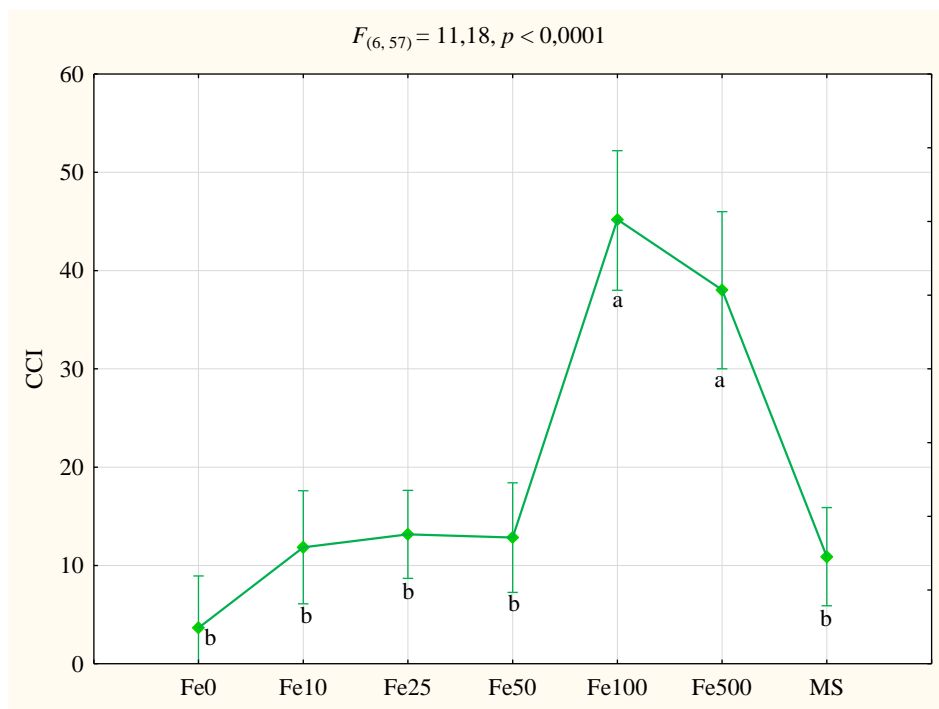


Źródło: opracowanie własne

Rys. 15. Wpływ różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro* na sprawność fotochemiczną PSII ( $F_v/F_m$ ) w fazie rozwoju liści

#### 4.1.3.4. Zawartość chlorofilu (CCI)

Barwniki chlorofilowe to podstawowe składniki roślin decydujące o przekształcaniu energii świetlnej w wysokoenergetyczne związki na drodze fotosyntezy. Tak więc została określona zawartość barwników chlorofilowych w liściach eksplantatów rzepaku jarego. Istotnie największą zawartością chlorofilu ogółem wykazywały się części wegetatywne roślin po zastosowaniu nanoFe w ilości 100 oraz 500 ppm odpowiednio: 45,2 i 38,0 (rys. 16). Natomiast średnia wartość określonego składnika w liściach wyniosła 19,4. Jednak istotnie najmniejszą koncentracją tego barwnika uzyskano w liściach roślin pochodzących z obiektów kontrolnych tj, bez dodatku żelaza (3,7). W liściach roślin pochodzących z pozostałych obiektów również określono zawartości chlorofilu ogółem od 10,9 (żelazo w formie chelatowej) do 13,2 (nanoFe w dawce 25 ppm).



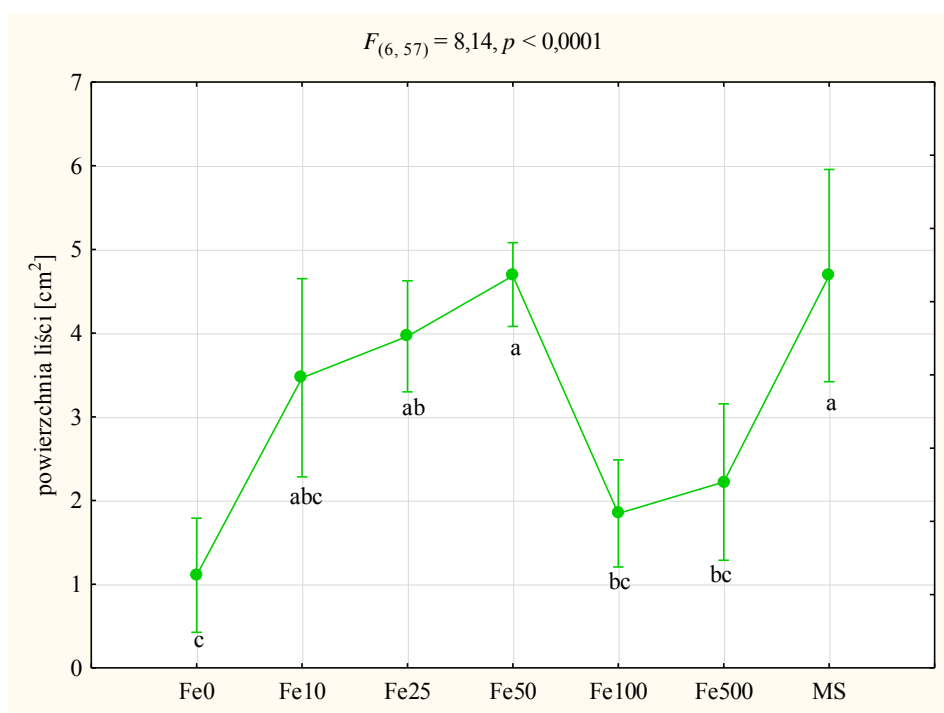
Źródło: opracowanie własne

Rys. 16. Wpływ różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro* na zawartość chlorofilu (CCI) w fazie rozwoju liści

#### 4.1.3.5. Powierzchnia liści (cm<sup>2</sup>)

Powierzchnia asymilacyjna roślin w tym szczególnie liści ma wpływ na wydajność fotosyntetyczną i produkcję suchej masy. Średnie wyniki powierzchni liścia eksplantatów rzepaku jarego wynosiły 3,14 cm<sup>2</sup> (rys. 17). Analiza wariancji wykazała, że powierzchnia liści zależała od ilości dodanego żelaza do pożywek. Najmniejszą

powierzchnią liścia wykazywały się rośliny pochodzące z obiektów, w których nie zastosowano Fe – 1,11 cm<sup>2</sup> oraz po zastosowaniu nanoFe w ilości 100 ppm – 1,85 cm<sup>2</sup>. Natomiast największą powierzchnię uzyskiwały liście po zastosowaniu Fe w formie chelatowej oraz nanoFe w dawce 50 ppm, średnio – 4,69 cm<sup>2</sup>. W pozostałych obiektach, w których dodano nanoFe, liście rzepaku jarego miały powierzchnię na poziomie od 2,22 do 3,96 cm<sup>2</sup>.



Źródło: opracowanie własne

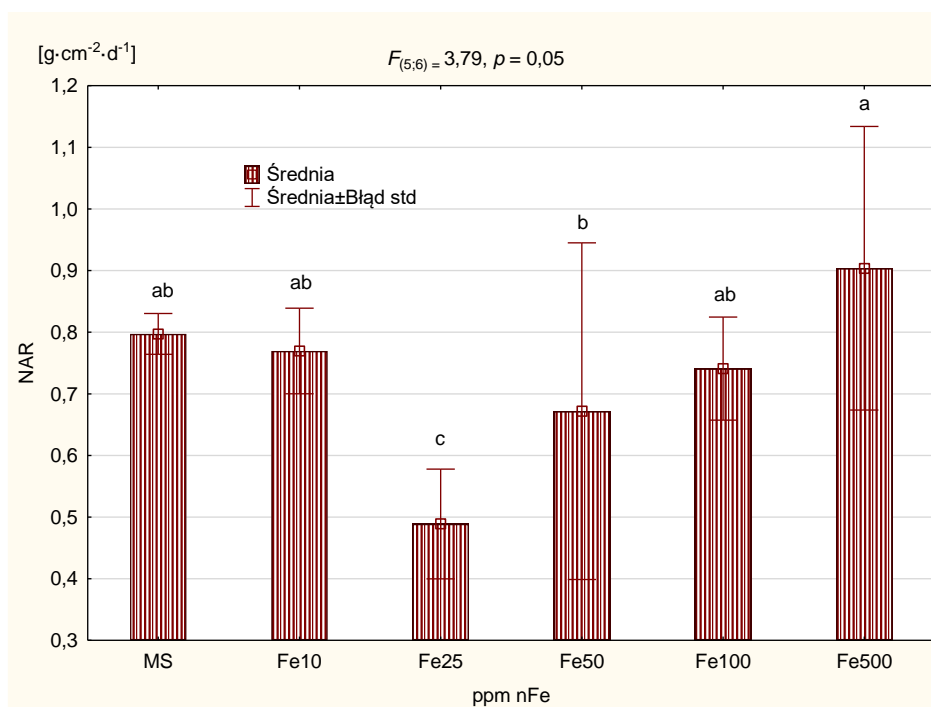
Rys. 17. Wpływ różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro* na powierzchnię liści (cm<sup>2</sup>) w fazie BBCH 12-15

#### 4.1.4. Wpływ nanocząstek żelaza w środowisku *in vitro* na wskaźniki wzrostu i rozwoju eksplantatów rzepaku

##### 4.1.4.1. NAR – intensywność asymilacji netto

Zastosowanie żelaza w pożywce *in vitro* miało istotny wpływ na intensywność asymilacji netto (NAR) roślin rzepaku w fazie BBCH 57-62 (rys. 18). Wskaźnik ten w obiekcie kontrolnym kształtował się na poziomie 0,797 g·cm<sup>-2</sup>·d<sup>-1</sup>. Największą intensywność asymilacji netto wykazały rośliny z obiektu z zastosowaną najwyższą dawką

żelaza (Fe500). W stosunku do kontroli był to wzrost o 13,4%. Natomiast w obiekcie Fe25, rośliny osiągnęły najniższą intensywność asymilacji netto ( $0,488 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ ).

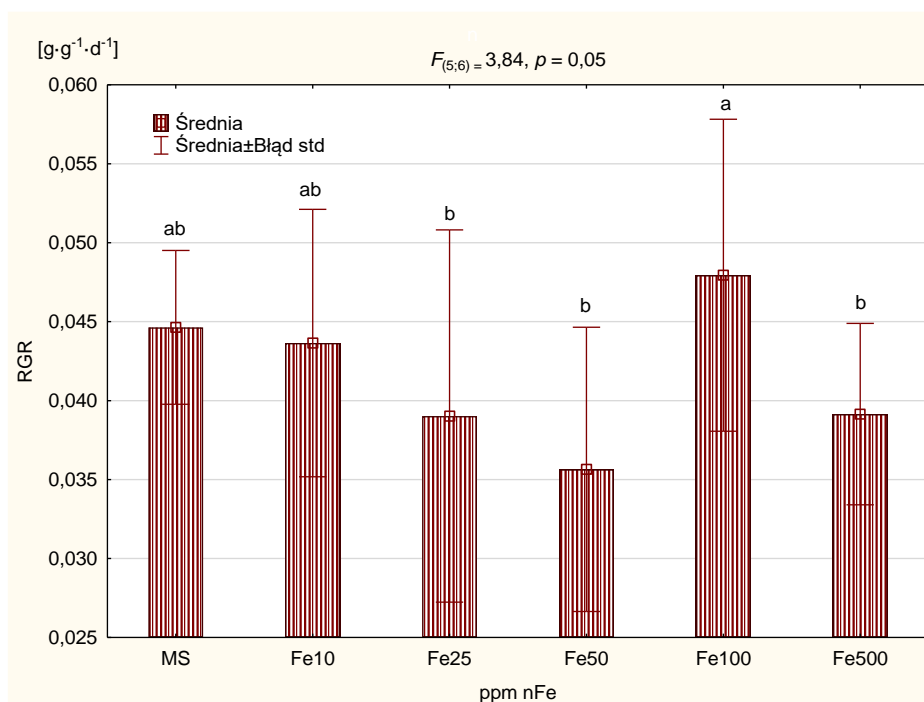


Źródło: opracowanie własne

Rys. 18. Intensywność asymilacji netto (NAR) rzepaku jarego w fazie BBCH 57-62 przy różnych dawkach nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.4.2. RGR – względna intensywność wzrostu

Względna intensywność wzrostu (RGR) roślin rzepaku kształtowała się zróżnicowanie w zależności od dawki zastosowanego żelaza w pożywce *in vitro* (rys. 19). Statystycznie najwyższą względną intensywność wzrostu zaobserwowano po zastosowaniu żelaza w dawce 100 ppm ( $0,048 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). Był to wzrost o 9,1% w stosunku do roślin kontrolnych. Rośliny po zastosowaniu Fe w dawce 25, 50 i 500 ppm wykazały się zmniejszeniem względnej intensywności wzrostu. W stosunku do obiektu kontrolnego spadek RGR wyniósł od 12,8% (Fe25 i Fe500) do 22,2% (Fe50).

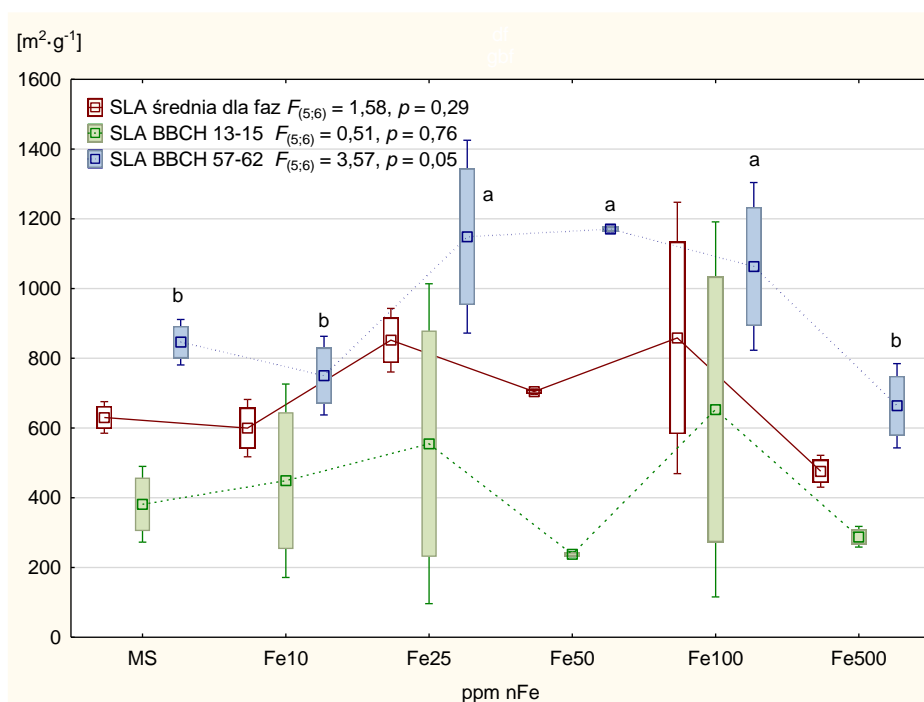


Źródło: opracowanie własne

Rys. 19. Względna intensywność wzrostu (RGR) rzepaku jarego w fazie BBCH 57-62 przy różnych dawkach nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.4.3. SLA – specyficzna powierzchnia liściowa

Zastosowanie żelaza w formie nanocząstek w różnych dawkach w pożywce *in vitro* miało statystycznie istotny wpływ na specyficzną powierzchnię liściową (SLA) tylko w przypadku pomiaru wykonanego w drugim terminie (rys. 20). Najwyższą specyficzną powierzchnię liściową w fazie BBCH 57-62, powyżej 1000,0 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup> osiągnęły rośliny z obiektów Fe25, Fe50 i Fe100. Analizując średnie z dwóch pomiarów można zauważyć, że najwyższe wartości osiągnęły rośliny z obiektów Fe25 i Fe100. W przypadku roślin z obiektu Fe50 na mniejsze średnie wartości miały wpływ najniższe wartości z pierwszego pomiaru. Rośliny pochodzące z obiektu o najwyższej dawce żelaza (500 ppm) wykazały najniższą średnią wartość specyficznej powierzchni liściowej z dwóch pomiarów (476,1 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>).



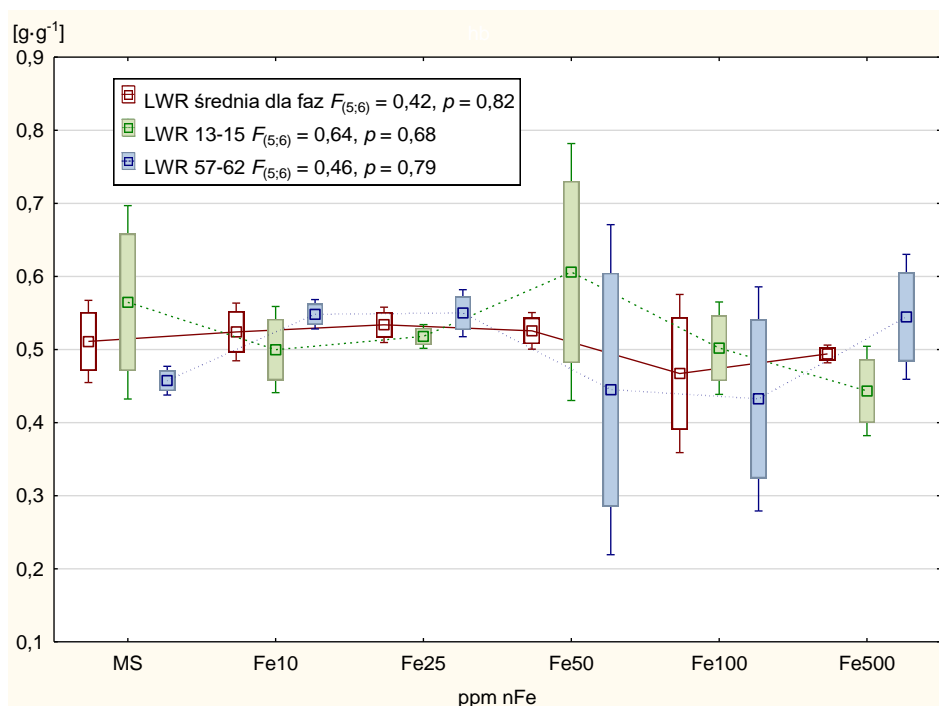
Źródło: opracowanie własne

Rys. 20. Specyficzna powierzchnia liściowa (SLA) rzepaku jarego przy różnych dawkach nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.4.4. LWR – wskaźnik masy liści

Zastosowanie nanoFe w różnych dawkach nie miało istotnego wpływu na wskaźnik masy liści (LWR) roślin rzepaku jarego (rys. 21). W pierwszym terminie (BBCH 12-15) badane rośliny w obiekcie kontrolnym osiągnęły wskaźnik masy liści na poziomie  $0,564 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ . W drugim terminie pomiaru (BBCH 57-62) zarysowała się tendencja wzrostu LWR o 19,9-20,4% w stosunku do roślin kontrolnych. Średnie wartości wskaźnika masy liści z dwóch pomiarów we wszystkich badanych obiektach (z wyjątkiem Fe100) kształtują się na zbliżonym poziomie od  $0,494 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  do  $0,534 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ .



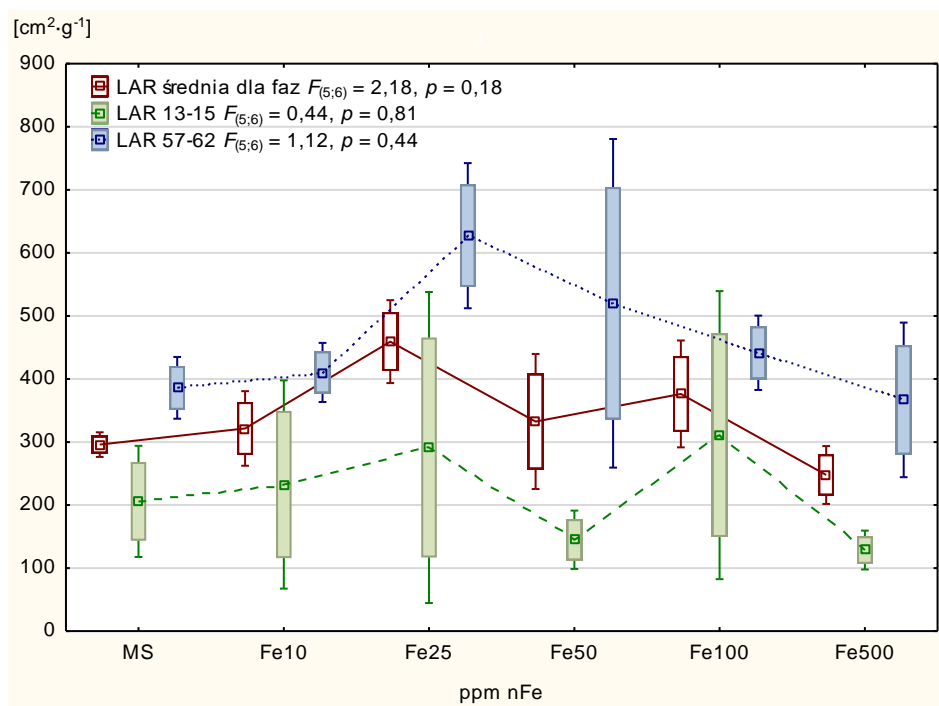


Źródło: opracowanie własne

Rys. 21. Wskaźnik masy liści (LWR) rzepaku jarego przy różnych dawkach nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.4.5. LAR – wskaźnik ulistnienia

Zastosowanie żelaza w formie nano w różnych dawkach w pożywce *in vitro* nie miało statystycznie istotnego wpływu na wskaźnik ulistnienia (LAR) roślin rzepaku jarego (rys. 22). Analizując otrzymane wyniki, można zauważyć, że w pierwszym terminie pomiaru (BBCH 12-15) wartość LAR mieściła się w przedziale od  $128,70 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  po zastosowaniu Fe500 do  $310,95 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  po dawce 100 ppm. W drugim terminie (BBCH 57-62) najwyższy LAR  $627,28 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  po zastosowaniu 25 ppm Fe, w stosunku do kontroli był to wzrost o 62,5%. Każdy kolejny wzrost dawki żelaza w pożywce powodował obniżanie analizowanego wskaźnika. Rośliny kontrolne oraz te po zastosowaniu najwyższej dawki żelaza w pożywce (500 ppm) wykazały najniższy wskaźnik ulistnienia na poziomie 385,90 i  $366,85 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Biorąc pod uwagę średnie z dwóch terminów pomiarów, można zaobserwować tendencję, że najwyższy wskaźnik ulistnienia wykazały rośliny z obiektu Fe25 ( $459,26 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ). Powyżej tej dawki LAR wykazał tendencję spadkową.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 22. Wskaźnik ulistnienia (LAR) rzepaku jarego przy różnych dawkach nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.5. Zawartość żelaza w poszczególnych częściach roślin rzepaku jarego

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż zawartość żelaza w różnych częściach roślin rzepaku jarego była zależna od ilości tego składnika wprowadzonego do pożywki w hodowli *in vitro* (tab. 8). Porównując średnią zawartości Fe w całych roślinach przed przesadzeniem w perlit w fazie BBCH 12-15, stwierdzono, że najmniejsza zawartość tego składnika była w obiekcie kontrolnym ( $175,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s. m.}$ ) oraz w obiekcie po zastosowaniu dawki 10 ppm nanoFe ( $215,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s. m.}$ ). Każdemu zwiększeniu poziomu nanoFe w pożywce odpowiadał wzrost zawartości żelaza w liściach rzepaku. Najwyższą zawartość tego pierwiastka stwierdzono w roślinach rosnących na pożywce z zawartością 500 ppm nanoFe ( $899,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s. m.}$ ). Analizując wpływ dawki zastosowanego żelaza na zawartość w roślinach rzepaku można stwierdzić, że najwięcej tego składnika zawierały liście z obiektu Fe500 ( $314,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s. m.}$ ). W liściach z obiektu traktowanego maksymalną dawką nanoFe uzyskano aż o 247,5% wyższą koncentrację Fe w porównaniu do obiektu kontrolnego, w którym uzyskano najmniejszą zawartość tego pierwiastka. Ogonki liściowe i łodygi roślin rzepaku wykazały największą zawartość Fe przy poziomie nawożenia Fe500, odpowiednio:  $234,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

s. m. i 124,5 mg·kg<sup>-1</sup> s. m. Również w przypadku korzeni, największą zawartość żelaza wykazały rośliny z obiektu Fe500 (3455,0 mg·kg<sup>-1</sup> s. m.). Zawartość Fe dla tych korzeni była od 10 do prawie 20- krotnie wyższa niż w korzeniach z pozostałych obiektów doświadczalnych.

Tab. 8. Średnia zawartość żelaza w różnych częściach roślin rzepaku jarego (mg·kg<sup>-1</sup> s. m.)

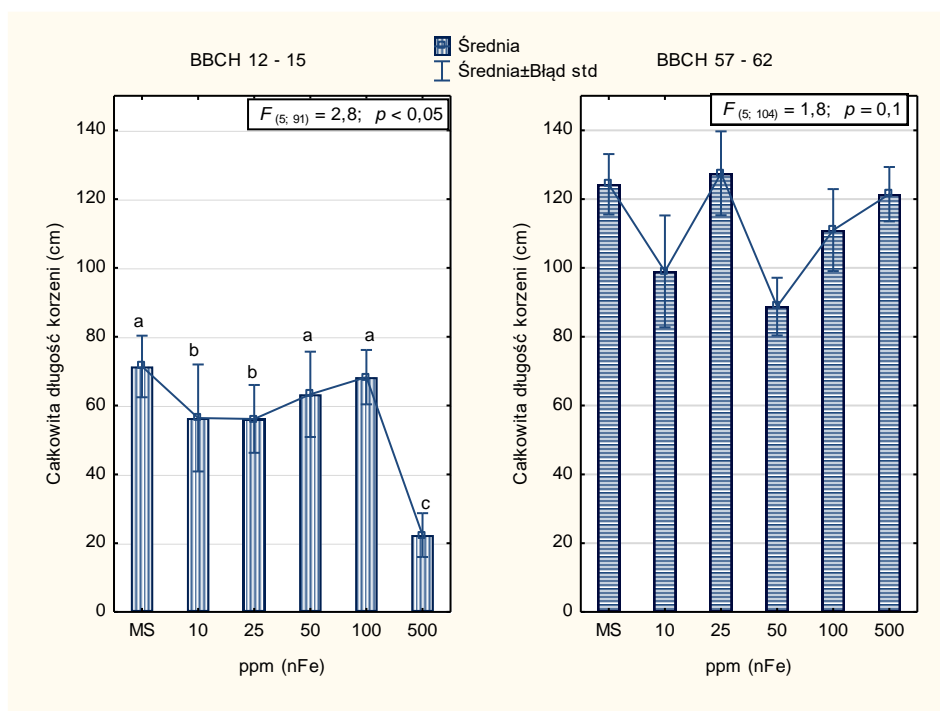
Część rośliny	Obiekt					
	MS	Fe10	Fe25	Fe50	Fe100	Fe500
Całe rośliny*	175,2 d	215,2 d	509,5 c	506,0 c	618,0 b	899,7 a
Liście	90,5 c	157,6 b	173,6 b	121,2 bc	169,5 b	314,5 a
Ogonki liściowe	53,3 b	85,3 b	154,6 ab	86,8 b	70,9 b	234,5 a
Łodygi	71,4 b	103,4ab	101,5 ab	99,2 ab	76,0 b	124,5 a
Korzenie	281,8 b	301,2 b	278,2 b	174,6 b	320,5 b	3455,0 a

Źródło: opracowanie własne (\*rośliny w fazie BBCH 12-15, przed wysadzeniem w perlit)

#### 4.1.6. Wpływ zastosowania nanocząstek Fe na parametry biometryczne systemu korzeniowego

##### 4.1.6.1. Len – całkowita długość korzeni (cm)

Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w całkowitej długości korzeni między obiektami w pierwszym terminie przeprowadzonego pomiaru (BBCH 12-15), natomiast w fazie BBCH 57-62 rośliny statystycznie nie różniły się pod względem analizowanego parametru (rys. 23). Ogólnie dla eksperymentu w fazie BBCH 12-15 uzyskano całkowitą długość korzeni rzepaku jarego wynoszącą średnio 56,3 cm. Jak wykazano na rys. 23 najdłuższe korzenie w fazie BBCH 12-15 uzyskały rośliny pochodzące z obiektów: MS (71,4 cm), Fe50 (63,3 cm) i Fe100 (68,3 cm). Dawka żelaza w ilości 500 ppm w tej fazie rozwoju rzepaku powodowała 2,5- 3-krotnie mniejszą długość korzeni niż w pozostałych obiektach nawozowych (22,4 cm). W fazie rozwoju pąków kwiatowych i kwitnienia stwierdzono tendencję do zmiany długości korzeni rzepaku jarego w zależności od zastosowania nanoFe. Średnia wynosiła 112,0 cm, z tendencją do dłuższych korzeni po zastosowaniu nanoFe w dawce 25 ppm (127,5 cm) a najkrótszych w ilości 50 ppm (88,8 cm).

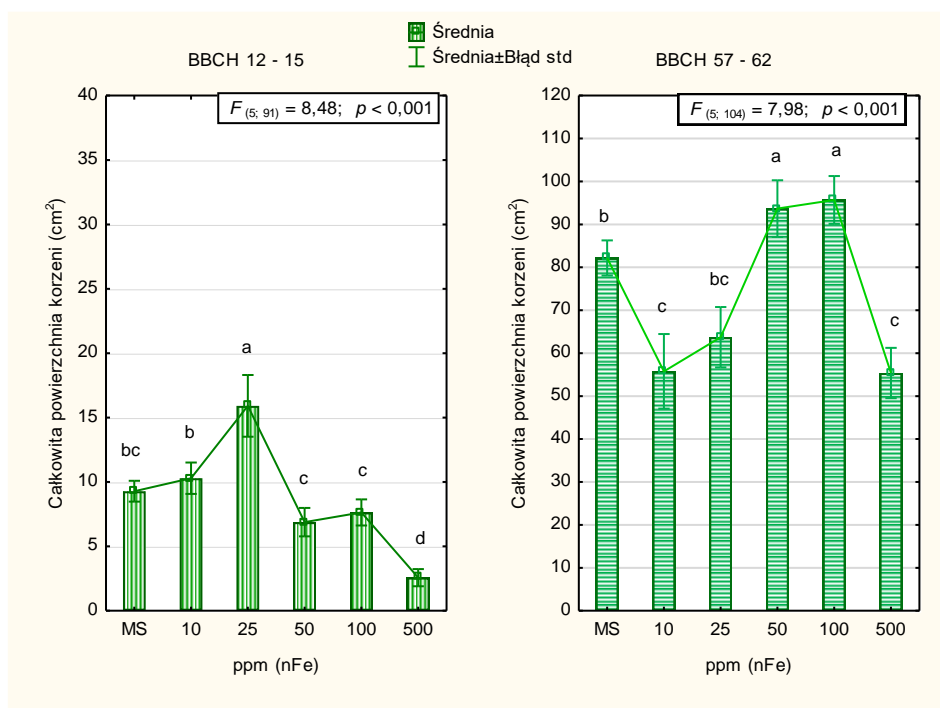


Źródło: opracowanie własne

Rys. 23. Całkowita długość korzeni (Len) rzepaku jarego w zależności od różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.6.2. SA – całkowita powierzchnia korzeni (cm<sup>2</sup>)

Analizując otrzymane wyniki całkowitej powierzchni korzeni można zauważyć istotne różnice między obiektami zarówno w fazie rozwoju liści jak i w fazie początku kwitnienia (rys. 24). Średnia całkowita powierzchnia korzeni w pierwszej fazie pomiaru (BBCH 12-15) wyniosła 8,8 cm<sup>2</sup> i mieściła się w przedziale od 2,6 cm<sup>2</sup> (Fe500) do 15,9 cm<sup>2</sup> (Fe25). W drugiej fazie pomiaru, tj. BBCH 57-62, największą całkowitą powierzchnią korzeni wykazały się rośliny z obiektów: Fe50 (93,7 cm<sup>2</sup>) i Fe100 (95,7 cm<sup>2</sup>). Jednak najmniejszą powierzchnią wykazywały się korzenie rzepaku jarego z obiektów Fe10 i Fe500 (odpowiednio 55,8 cm<sup>2</sup> i 55,4 cm<sup>2</sup>).

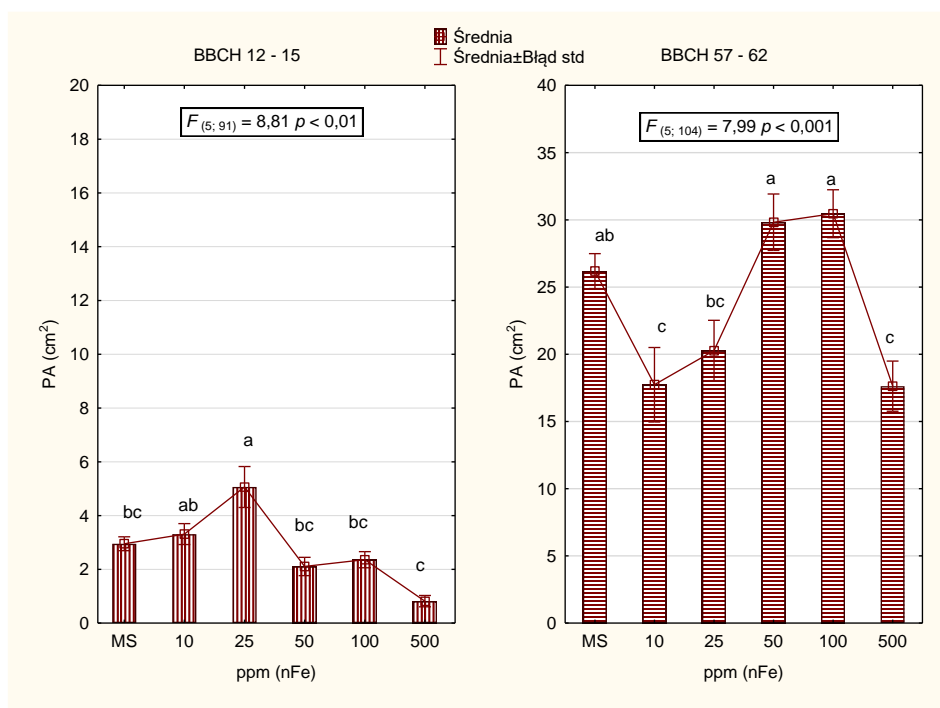


Źródło: opracowanie własne

Rys. 24. Całkowita powierzchnia korzeni (SA) rzepaku jarego w zależności od różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.6.3. PA – całkowita powierzchnia przeliczeniowa (cm<sup>2</sup>)

Analiza statystyczna wykazała, że średnia całkowita powierzchnia przeliczeniowa korzeni rzepaku jarego była istotnie różna w zależności od zastosowanej dawki nanoFe w obu terminach wykonania pomiaru (rys. 25). Średnio w fazie rozwoju liści uzyskano całkowitą powierzchnię przeliczeniową na poziomie 2,77 cm<sup>2</sup>, a w fazie początkowej kwitnienia roślin średnio 23,69 cm<sup>2</sup>. Największym parametrem PA w fazie BBCH 12-15 wykazywały się rośliny z obiektu Fe25 (5,07 cm<sup>2</sup>). Natomiast w tej samej fazie rozwoju roślin uzyskano całkowitą powierzchnię przeliczeniową na najniższym poziomie po zastosowaniu do pożywki nanoFe w ilości 500 ppm (0,82 cm<sup>2</sup>). Wzrost i rozwój rzepaku jarego do fazy BBCH 57-62 spowodował zwiększenie średniej całkowitej powierzchni przeliczeniowej na roślinie. Istotnie największym parametrem PA korzeni wykazywały się rośliny z obiektów po zastosowaniu nanoFe w dawce 50 i 100 ppm, co odpowiadało: 29,82 i 30,46 cm<sup>2</sup>. Jednak rośliny pochodzące z obiektów Fe10 i Fe500 posiadały istotnie najmniejszą całkowitą powierzchnię przeliczeniową korzeni, która wynosiła odpowiednio: 17,74 i 17,63 cm<sup>2</sup>.

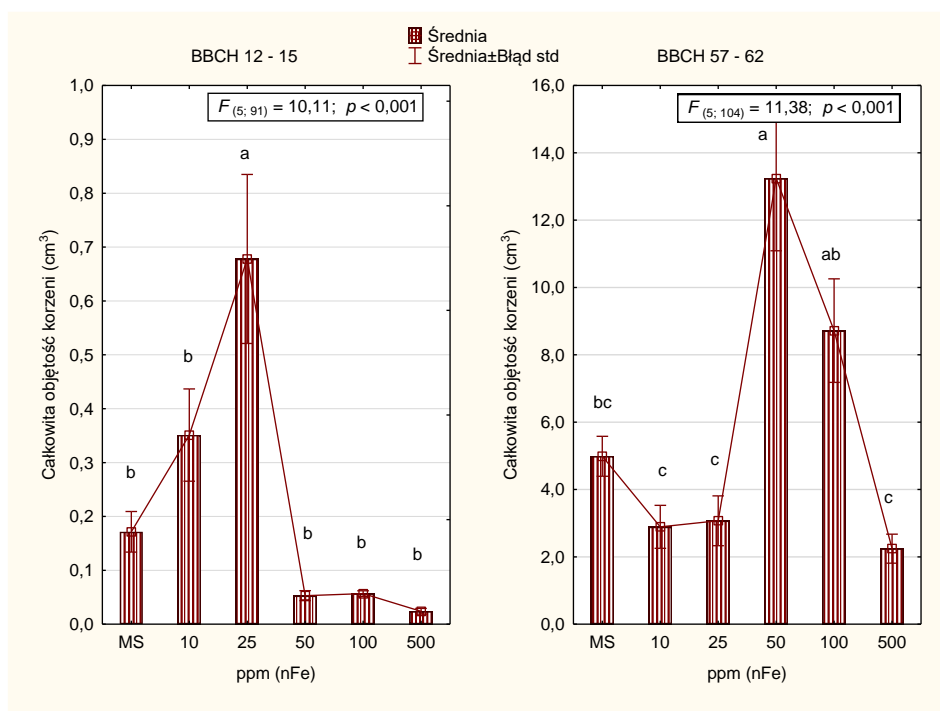


Źródło: opracowanie własne

Rys. 25. Całkowita powierzchnia przeliczeniowa (PA) rzepaku jarego w zależności od różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.6.4. Vol – całkowita objętość korzeni (cm³)

Analiza całkowitej objętości korzeni rzepaku wykazała statystycznie istotne różnice między obiektami po zastosowaniu nanoFe w pożywce dla obu faz rozwojowych, w których przeprowadzono pomiary (rys. 26). W fazie BBCH 12-15 korzenie rzepaku jarego uzyskały średnią całkowitą objętość na poziomie 0,222 cm³. Najwyższą całkowitą objętością korzeni w fazie rozwoju liści wykazały rośliny z obiektu Fe25- 0,678 cm³. Natomiast rośliny z obiektów, w których zastosowano żelazo w dawkach 50, 100 i 500 ppm miały zdecydowanie najmniejszą wartość badanego parametru, która wynosiła odpowiednio: 0,053 cm³, 0,057 cm³ i 0,024 cm³. W porównaniu do fazy rozwoju liści rzepaku jarego, rośliny w fazie początkowego kwitnienia zdecydowanie wykazywały się większą całkowitą objętością korzeni wynoszącą średnio 5,86 cm³. Największą średnią wartość analizowanej cechy (13,24 cm³) w fazie początkowego kwitnienia uzyskano w obiekcie Fe50. Rośliny rzepaku jarego z obiektów: Fe10, Fe25 i Fe500 w analizowanych terminie wzrostu, wykazały najniższą całkowitą objętość korzeni (odpowiednio: 2,89 cm³, 3,07 cm³ i 2,45 cm³).

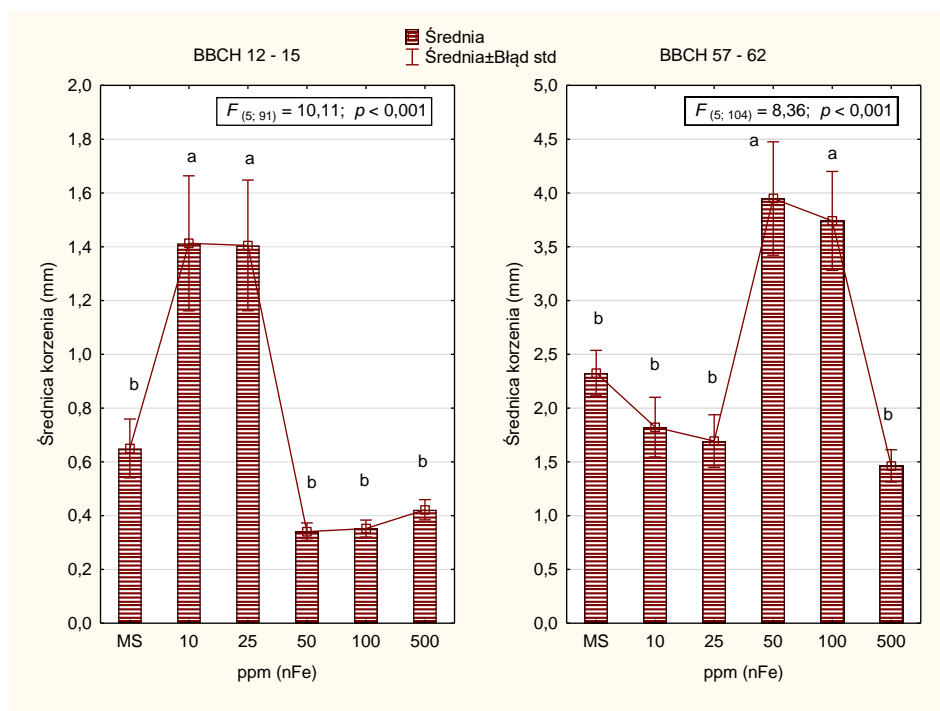


Źródło: opracowanie własne

Rys. 26. Całkowita objętość korzeni (Vol) rzepaku jarego w zależności od różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.6.5. AvgD – średnica korzenia (mm)

Uzyskane wyniki badań dotyczące średnicy korzenia wykazały różnice między wartościami średnimi w obu terminach wykonywania pomiarów (rys. 27). Średnica korzenia rzepaku jarego w fazie BBCH 12-15 wynosiła średnio 0,76 mm, a w fazie BBCH 57-62 2,50 mm. Największą istotnie średnicę korzenia rzepaku jarego w fazie rozwoju liści posiadały rośliny z obiektu Fe10 i Fe 25 odpowiednio: 1,41 i 1,40 mm. Rośliny z pozostałych analizowanych obiektów tj. F50, F100 i F500 miały istotnie najniższe wartości badanego parametru, który wynosił odpowiednio: 0,34, 0,35 i 0,42 mm. Największą istotnie średnicę korzenia w fazie kwitnienia stwierdzono w obiektach: Fe50 (3,95 mm) i Fe100 (3,74 mm). Natomiast w pozostałych obiektach średnica korzenia roślin rzepaku była istotnie mniejsza i wynosiła od 1,46 mm do 2,33 mm (F500, F 25, F10 i kontrola).



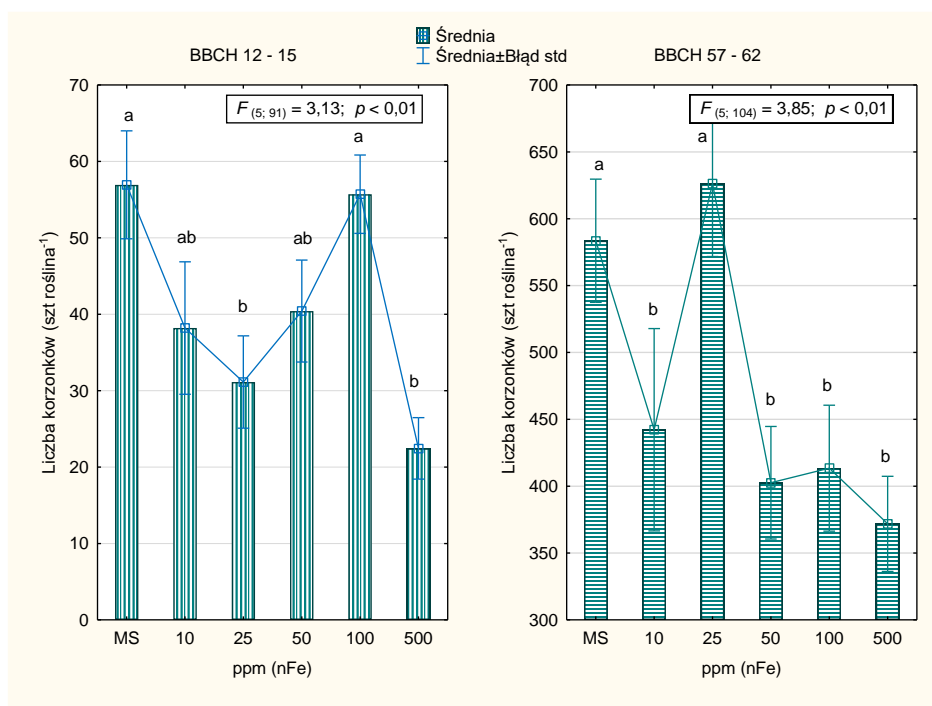
Źródło: opracowanie własne

Rys. 27. Średnica korzenia (AvgD) rzepaku jarego w zależności od różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.6.6. Ntips – liczba korzonków (szt.·roślina<sup>-1</sup>)

Analiza statystyczna wykazała, że średnia liczba korzonków na roślinie rzepaku jarego była istotnie różna w zależności od zastosowanej dawki nanoFe w obu terminach wykonania pomiaru (rys. 28). W fazie rozwoju liści uzyskano średnio liczbę korzonków rzepaku jarego na poziomie 40,8 szt.·roślina<sup>-1</sup>, a w fazie początkowej kwitnienia roślin średnio 473,3 szt.·roślina<sup>-1</sup>. Największą średnią liczbą korzonków w fazie BBCH 12-15 wykazały się rośliny z obiektu kontrolnego (56,9 szt.·roślina<sup>-1</sup>) oraz po zastosowaniu Fe do pożywki w ilości 100 ppm (55,7 szt.·roślina<sup>-1</sup>). Liczba korzonków na roślinie była najniższa po zastosowaniu do pożywki nanoFe w ilości 25 i 500 ppm, odpowiednio: 31,1 i 22,4 szt.·roślina<sup>-1</sup>. Wzrost i rozwój rzepaku jarego do fazy BBCH 57-62 spowodował zwiększenie średniej liczby korzonków na roślinie. Istotnie najwięcej korzonków posiadały rośliny z obiektów po zastosowaniu nanoFe w dawce 25 ppm – 626,3 szt.·roślina<sup>-1</sup> oraz z obiektów kontrolnych 583,5 szt.·roślina<sup>-1</sup>. Jednak rośliny pochodzące z pozostałych obiektów wykazały istotnie mniejszą liczbę korzonków (poniżej 450 szt.·roślina<sup>-1</sup>).



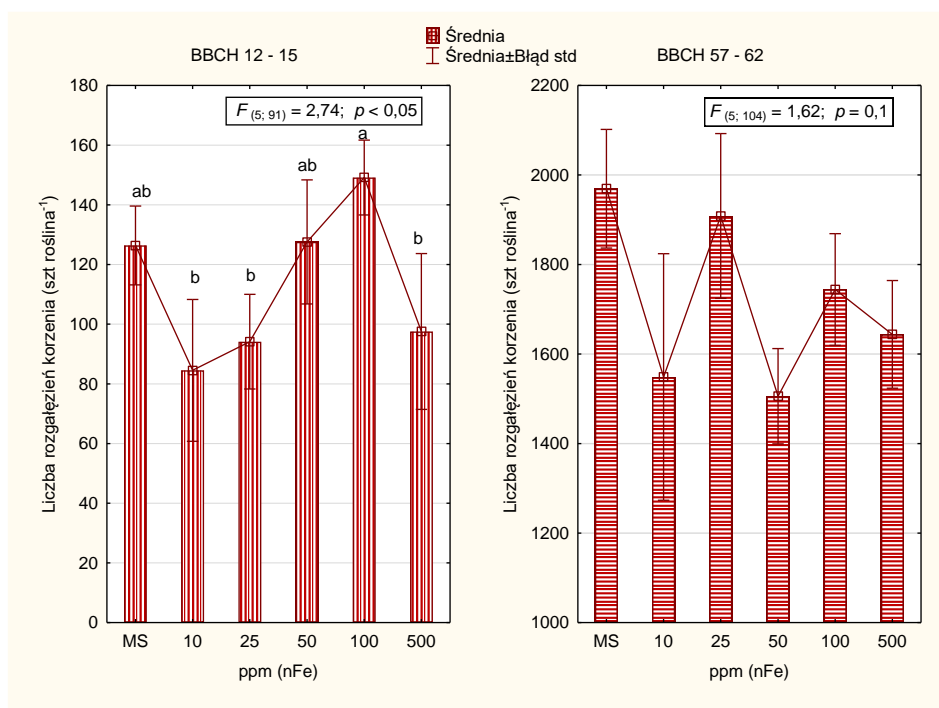


Źródło: opracowanie własne

Rys. 28. Liczba korzonków (Ntips) rzepaku jarego w zależności od różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.6.7. NForks – liczba rozgałęzień korzenia (szt. · roślina<sup>-1</sup>)

Następnym badanym parametrem korzeni rzepaku jarego pochodzącego z hodowli *in vitro* była liczba rozgałęzień korzenia. Średnio w fazie rozwoju liści rzepaku jarego uzyskano 113,2 szt. · roślina<sup>-1</sup> i było to zdecydowanie mniejszą ilością w porównaniu do fazy początku kwitnienia, w której średnio uzyskano 1720,1 szt. · roślina<sup>-1</sup>. Liczba rozgałęzień korzenia na roślinie różniła się istotnie między obiektami z zastosowanym nanoFe w różnych dawkach w fazie wzrostu liści rzepaku jarego (BBCH 12-15) (rys. 29). Aplikacja nanoFe do pożywki w dawce 100 ppm spowodowała, że rośliny rzepaku osiągnęły najwyższą liczbę rozgałęzień korzenia 149,1 szt. · roślina<sup>-1</sup>. Poniżej 100 sztuk NForks wykazały rośliny z obiektów z zastosowanym nanoFe do pożywek w dawkach: 10 ppm (84,5 szt. · roślina<sup>-1</sup>), 25 ppm (94,1 szt. · roślina<sup>-1</sup>) i 500 ppm (97,6 szt. · roślina<sup>-1</sup>). Natomiast analizując uzyskane wyniki liczby rozgałęzień korzenia roślin w fazie pomiaru BBCH 57-62 nie wykazano istotnych różnic tego parametru między obiektami nawozowymi. Jednak liczba rozgałęzień korzenia w drugim terminie pomiaru wahała się między 1505,9 szt. · roślina<sup>-1</sup> (Fe50) a 1969,3 szt. · roślina<sup>-1</sup> (MS).

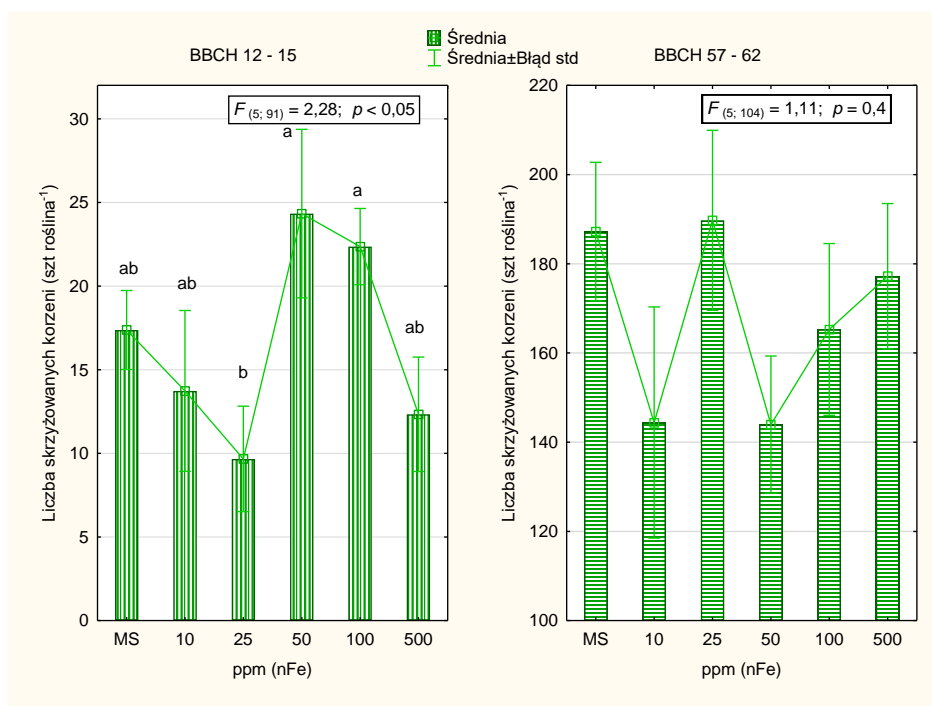


Źródło: opracowanie własne

Rys. 29. Liczba rozgałęzień korzenia (NForks) rzepaku jarego w zależności od różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.6.8. NCross – liczba skrzyżowanych korzeni (szt. · roślin<sup>-1</sup>)

Ponownie uzyskano wyższe wartości parametru korzeni rzepaku w fazie BBCH 57-62. Średnio w tej fazie wzrostu roślin rzepaku jarego otrzymano liczbę skrzyżowanych korzeni na poziomie 168,0 szt. · roślin<sup>-1</sup>, a w fazie BBCH 12-15 – 16,6 szt. · roślin<sup>-1</sup>. Analiza liczby skrzyżowanych korzeni wykazała istotne różnice w wielkości tego parametru dla wariantów z zastosowanym nanoFe do pożywki lecz tylko w fazie BBCH 12-15. Natomiast w fazie początku kwitnienia (BBCH 57-62) nie stwierdzono istotnych różnic badanego parametru korzeni (rys. 30). Rośliny rzepaku jarego pochodzące z obiektów Fe50 i Fe100 w fazie BBCH 12-15 wykazały istotnie największą liczbę skrzyżowanych korzeni, odpowiednio: 24,33 szt. · roślin<sup>-1</sup> i 22,36 szt. · roślin<sup>-1</sup>. Natomiast najmniejszą istotnie liczbą skrzyżowanych korzeni cechowały się rośliny z obiektu Fe25 – 9,67 szt. · roślin<sup>-1</sup>. W fazie BBCH 57-62 liczba skrzyżowanych korzeni mieściła się w przedziale od 143,94 szt. · roślin<sup>-1</sup> (Fe50) do 189,75 szt. · roślin<sup>-1</sup> (Fe25).



Źródło: opracowanie własne

Rys. 30. Liczba skrzyżowanych korzeni (NCross) rzepaku jarego w zależności od różnych dawek nanoFe w pożywce *in vitro*

#### 4.1.6.9. Zależności między całkowitą powierzchnią korzeni a wybranymi parametrami korzeni w fazie BBCH 12-15

Zależności między parametrami korzeni przed przesadzeniem roślin w fazie BBCH 12-15 dla obiektów kontrolnych wykazały, że całkowita powierzchnia korzeni istotnie zależała od długości korzeni ( $r = 0,55$ ) i od objętości korzeni ( $r = 0,57$ ), a także od liczby korzonków ( $r = 0,56$ ) (tab. 9). Wzrost korzeni w obiekcie nanoFe 25 ppm, w którym zanotowano istotnie większą od kontroli (MS) całkowitą powierzchnię korzeni, stwierdzono, że skorelowana ona jest bardzo silnie z objętością korzeni ( $r = 0,93$ ) oraz w mniejszym stopniu ze średnicą korzenia ( $r = 0,59$ ). Należy więc uznać, że zastosowanie w hodowli *in vitro* dawki nanoFe 25 ppm w fazie BBCH 12-15 znacznie poprawiło powierzchnię wchłaniania korzeni poprzez wzrost średnicy i objętości korzeni. W miarę zwiększania w pożywce dawki nanoFe, powyżej 25 ppm, pozytywnie wzrasta korelacja między całkowitą powierzchnią korzeni a liczbą rozgałęzień korzeni oraz liczbą korzeni skrzyżowanych, odpowiednio:  $r = 0,69$  i  $r = 0,92$ . Należy również podkreślić, że dla dawki nanoFe 500 ppm uzyskane zależności były na bardzo wysokim poziomie. Świadczy to o zaburzonym wzroście korzeni w hodowli *in vitro* w fazie BBCH 12-15 pod wpływem dawek nanoFe powyżej 25 ppm.

Tab. 9. Korelacje proste r-Pearsona między powierzchnią całkowitą korzeni ( $Y_{SA}$ ) eksplantatów rzepakowych a wybranymi parametrami korzeni ( $X_N$ ) uwzględniając określone dawki nanoFe w hodowli *in vitro*

Parametr korzenia	nanoFe					
	MS (n=31)	10 (n=15)	25 (n=15)	50 (n=12)	100 (n=14)	500 (n=9)
Całkowita długość ( $x_{LEN}$ )	<b>0,55*</b>	0,47	-0,21	<b>0,87</b>	<b>0,84</b>	<b>0,99</b>
Średnica korzenia ( $x_{AVD}$ )	0,30	-0,11	<b>0,59</b>	-0,13	-0,46	-0,61
Objętość korzeni ( $x_{VOL}$ )	<b>0,57</b>	0,50	<b>0,93</b>	<b>0,71</b>	<b>0,75</b>	<b>0,99</b>
Liczba korzonków ( $x_{NT}$ )	<b>0,56</b>	0,34	-0,41	<b>0,57</b>	-0,02	0,59
Liczba rozgałęzień korzeni ( $x_{NF}$ )	0,27	0,38	-0,35	<b>0,79</b>	<b>0,69</b>	<b>0,92</b>
Liczba skrzyżowanych korzeni ( $x_{NC}$ )	0,04	0,39	-0,51	<b>0,53</b>	<b>0,52</b>	<b>0,96</b>

Źródło: opracowanie własne, \* – korelacje istotne na poziomie  $p = 0,05$

#### 4.1.6.10. Sucha masa korzeni w fazie BBCH 57-62 i jej zależności z wybranymi parametrami korzeni

W obiektach, w których nie stosowano nanoFe uzyskano zawartość suchej masy korzeni rzepaku na poziomie 0,256 g (rys. 31). Jest to średnia zawartość, którą eksplantaty rzepaku miały w fazie BBCH 57-62, po zastosowaniu dawki nanoFe 10-25 ppm i nanoFe 50-100 ppm. Zawartość suchej masy korzeni pochodzących z obiektów kontrolnych była na średnim poziomie i pozytywnie zależała od średnicy korzenia ( $r = 0,48$ ), całkowitej objętości korzeni ( $r = 0,54$ ) i całkowitej powierzchni korzeni ( $r = 0,69$ ). Natomiast ujemną oraz nieistotną zależność uzyskano w stosunku do całkowitej długości korzeni ( $r = -0,35$ ) i liczby korzonków ( $r = -0,25$ ) (tab. 10).

W obiektach z pożywkami w których zastosowano dawki Fe 10 i 25 ppm zawartość suchej masy całego systemu korzeniowego była istotnie mniejsza od koncentracji tego parametru w korzeniach pochodzących z obiektów kontrolnych i wyniosła odpowiednio 0,142 i 0,154 g (rys. 31). Okazało się również, że dla tych samych obiektów (nanoFe10, nanoFe25) uzyskano pozytywną korelację między zawartością suchej masy w korzeniach a ich średnicą ( $r = 0,63$ ) oraz dla obiektów nanoFe25 z objętością korzeni ( $r = 0,68$ ) (tab. 10).

W obiekcie nanoFe50 ppm, masa korzeni na jednej roślinie w fazie BBCH 57-62 była na istotnie najwyższym poziomie i wyniosła 0,299 g (rys. 31). Statystycznie, na podobnym poziomie 0,274 g uzyskano masę korzeni dla dawki nanoFe 100 ppm (rys. 31).

Zawartość suchej masy korzeni po zastosowaniu dawki nanoFe 50 ppm była wysoko pozytywnie zależna od całkowitej powierzchni korzeni ( $r = 0,78$ ), całkowitej objętości korzeni ( $r = 0,63$ ) i średnicy korzenia ( $r = 0,59$ ). Natomiast ujemnie na koncentracji

cję suchej masy korzeni w tym obiekcie wpłynęła całkowita długość korzeni ( $r = -0,74$ ) i liczba korzonków ( $r = -0,72$ ) – (tab. 10).

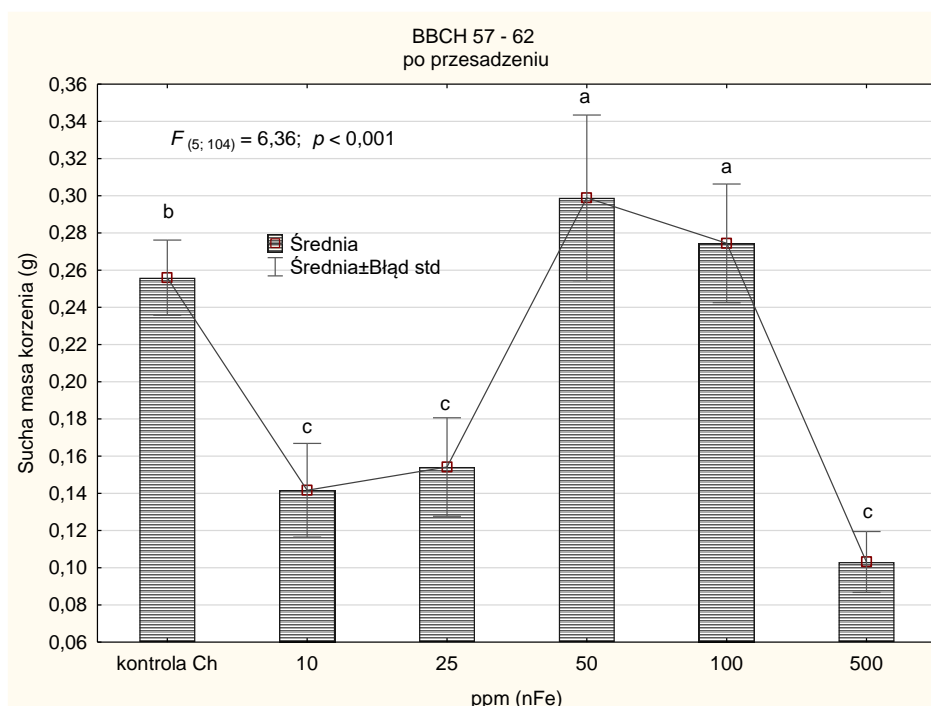
Zawartość suchej masy korzeni po zastosowaniu dawki nanoFe 100 ppm w hodowli *in vitro* była wysoko pozytywnie zależna od całkowitej powierzchni korzeni ( $r = 0,76$ ), całkowitej objętości korzeni ( $r = 0,75$ ) i średnicy korzenia ( $r = 0,65$ ). Natomiast uzyskano ujemną zależność, lecz nieistotną od całkowitej długości korzeni ( $r = -0,45$ ) i liczby korzonków ( $r = -0,45$ ) – (tab. 10).

Istotnie najmniejszą zawartość suchej masy korzeni zanotowano w dawce nanoFe500, która wynosiła 0,103 g na jedną roślinę (rys. 31). Przy takim wpływie dawki nanoFe zawartość suchej masy korzeni eksplantatów rzepaku była pozytywnie skorelowana ze średnicą korzenia ( $r = 0,74$ ), objętością korzeni ( $r = 0,82$ ) i ich powierzchnią całkowitą ( $r = 0,83$ ) – (tab. 10).

Tab. 10. Korelacje proste między zawartością suchej masy korzeni ( $Y_{SM}$ ) eksplantatów rzepakowych a wybranymi parametrami korzeni uwzględniając określone dawki nanoFe w hodowli *in vitro*

Parametr korzenia	nanoFe					
	MS (n=37)	10 (n=12)	25 (n=12)	50 (n=18)	100 (n=18)	500 (n=13)
<b>Całkowita długość</b> ( $\bar{x}_{LEN}$ )	- 0,35	-0,38	-0,26	<b>- 0,74</b>	-0,45	0,29
<b>Średnica korzenia</b> ( $\bar{x}_{AVD}$ )	<b>0,48</b>	<b>0,63</b>	<b>0,63</b>	<b>0,59</b>	<b>0,65</b>	<b>0,74</b>
<b>Objętość korzeni</b> ( $\bar{x}_{VOL}$ )	<b>0,54</b>	0,52	<b>0,68</b>	<b>0,63</b>	<b>0,75</b>	<b>0,82</b>
<b>Powierzchnia całkowita korzeni</b> ( $\bar{x}_{SA}$ )	<b>0,69</b>	0,09	0,54	<b>0,78</b>	<b>0,76</b>	<b>0,83</b>
<b>Liczba korzonków</b> ( $\bar{x}_{NT}$ )	-0,25	-0,32	-0,34	<b>-0,72</b>	-0,42	-0,32

Źródło: opracowanie własne



Źródło: opracowanie własne

Rys. 31. Sucha masa korzeni roślin rzepaku w fazie BBCH 57-62

#### 4.1.6.11. Zależności pomiędzy całkowitą powierzchnią korzeni w fazie BBCH 57-62 a wybranymi parametrami korzeni

Na podstawie uzyskanych współczynników korelacji przy poziomie prawdopodobieństwa  $p = 0,05$  dla obiektów bez stosowania nanoFe można wskazać na istotną dodatnią zależność między całkowitą powierzchnią korzeni a jego średnicą ( $r = 0,45$ ), objętością ( $r = 0,61$ ) oraz zawartością suchej masy ( $r = 0,69$ ). Wskazuje to, że większej powierzchni całkowitej korzeni sprzyja zwiększanie: średnicy, objętości oraz koncentracji suchej masy. Ponadto dla każdej dawki nanoFe do pożywki w hodowli *in vitro* rzepaku jarego uzyskano dodatnie istotne zależności między całkowitą powierzchnią korzeni a jego średnicą oraz objętością. Bardzo wysoką zależność uzyskano przy dawce nanoFe – 500 ppm. Współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio:  $r = 0,82$  i  $r = 0,93$ . Oznacza to, że zwiększenie powierzchni całkowitej korzeni można uzyskać, jeżeli wzrasta jego średnica oraz objętość. Ponadto dodatnio istotnie była skorelowana powierzchnia całkowita korzeni z zawartością suchej masy dla trzech maksymalnych dawek nanoFe, uzyskując średnio zależności na poziomie  $r = 0,79$ . Natomiast bardzo interesujące zależności uzyskano dla dawek 50 i 500 ppm nanoFe między powierzchnią całkowitą korzeni a całkowitą jego długością, ponieważ były one ujemnie istotne.

Wskazuje to, na zależności, w których wzrostowi powierzchni całkowitej korzeni towarzyszy zmniejszenie całkowitej jego długości (tab. 11).

Tab. 11. Korelacje proste r-Pearsona między powierzchnią całkowitą korzeni ( $Y_{SA}$ ) eksplantatów rzepakowych a wybranymi parametrami korzeni uwzględniając określone dawki nanoFe w hodowli *in vitro*

Parametr korzenia	nanoFe					
	MS (n=37)	10 (n=12)	25 (n=12)	50 (n=18)	100 (n=18)	500 (n=13)
<b>Całkowita długość</b> ( $x_{LEN}$ )	0,03	<b>0,67</b>	0,22	<b>-0,61</b>	-0,28	<b>-0,46</b>
<b>Średnica korzenia</b> ( $x_{AVD}$ )	<b>0,45</b>	<b>0,65</b>	<b>0,79</b>	<b>0,72</b>	<b>0,58</b>	<b>0,82</b>
<b>Objętość korzeni</b> ( $x_{VOL}$ )	<b>0,61</b>	<b>0,81</b>	<b>0,86</b>	<b>0,71</b>	<b>0,80</b>	<b>0,93</b>
<b>Sucha masa</b> ( $x_{SM}$ )	<b>0,69</b>	0,09	0,54	<b>0,78</b>	<b>0,76</b>	<b>0,83</b>
<b>Liczba korzonków</b> ( $x_{NT}$ )	-0,07	<b>0,55</b>	0,06	<b>-0,56</b>	-0,34	0,03

Źródło: opracowanie własne

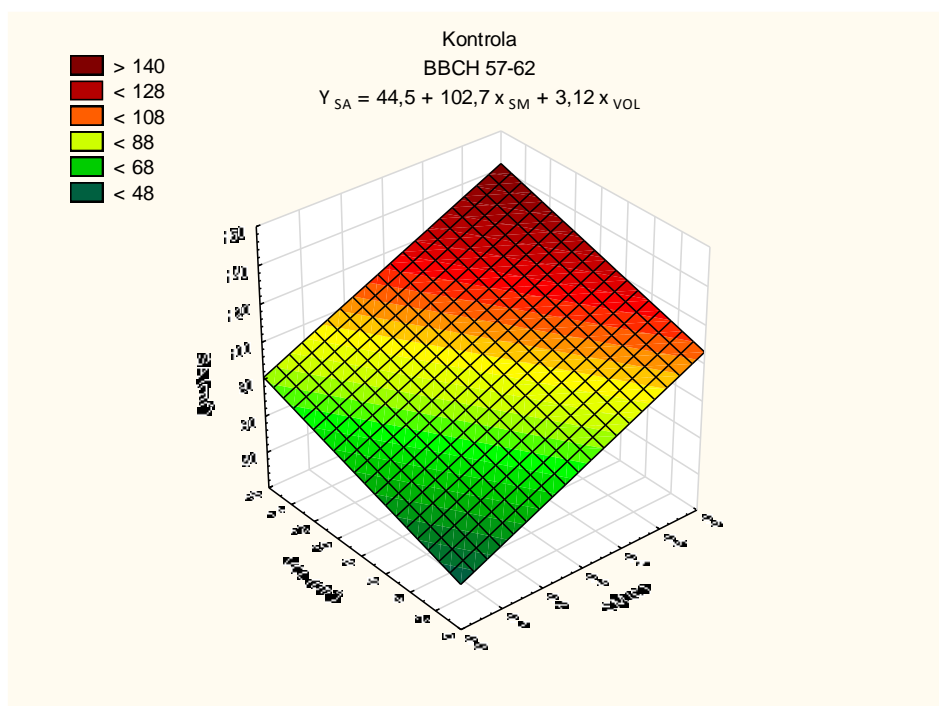
Ponieważ całkowita powierzchnia korzeni świadczy o możliwościach odżywiania rośliny, postanowiono przeanalizować, jak inne parametry wpływały na tę cechę w kontroli oraz dla tych dawek nanoFe, które dały istotnie większy efekt niż w kontroli, tj. dla nanoFe50 i nanoFe100.

Na podstawie regresji wielokrotnej, wykonanej metodą krokową postępującą, uzyskano model, w którym w obiektach kontrolnych (rys. 32) powierzchnia całkowita korzeni ( $Y_{SA}$ ) w istotny sposób zależała od innych parametrów korzeni, tj.:

- zawartości suchej masy ( $x_{SM}$ )  $b = 106,5$  ( $t=4,61_{(df=33)}$ ,  $p<0,001$ ),
- całkowitej objętości ( $x_{VOL}$ )  $b = 3,12$  ( $t=3,81_{(df=33)}$ ,  $p<0,001$ ),
- długości całkowitej ( $x_{LEN}$ )  $b = 0,18$  ( $t=3,53_{(df=33)}$ ,  $p<0,005$ ),

Dobroć dopasowania modelu regresji wielokrotnej ( $R^2$  skorygowane) wynosi dla kontroli 0,62,  $F_{(3,33)} = 20,3$ ,  $p<0,001$ , błąd estymacji = 15,4%.

Przyjmując, że dwa pierwsze parametry w regresji wielokrotnej mają największy udział w wariancji wyjaśnionej model regresji wielokrotnej ma równanie:  $Y_{SA} = 44,5 + 102,7 x_{SM} + 3,12 x_{VOL}$ . Wskazuje to na ścisłą zależność, w której maksymalnej powierzchni całkowitej korzeni odpowiada największa zawartość suchej masy korzeni oraz maksymalna całkowita objętość korzeni. Każdemu wzrostowi całkowitej objętości korzeni o 1 cm<sup>3</sup> odpowiada zwiększenie powierzchni całkowitej o 3,12 cm<sup>2</sup>. Natomiast zwiększeniu koncentracji suchej masy o 0,1 g będzie sprzyjało uzyskaniu całkowitej powierzchni korzeni większej o 103 cm<sup>2</sup>. Ponadto na podstawie analizy uzyskanych zależności metodą krokową można stwierdzić, że powierzchnia całkowita korzeni była maksymalna, jeżeli była największa długość korzeni.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 32. Model regresji wielokrotnej istotnych zależności między parametrami korzeni rzepaku, obiekty kontrolne w hodowli *in vitro*

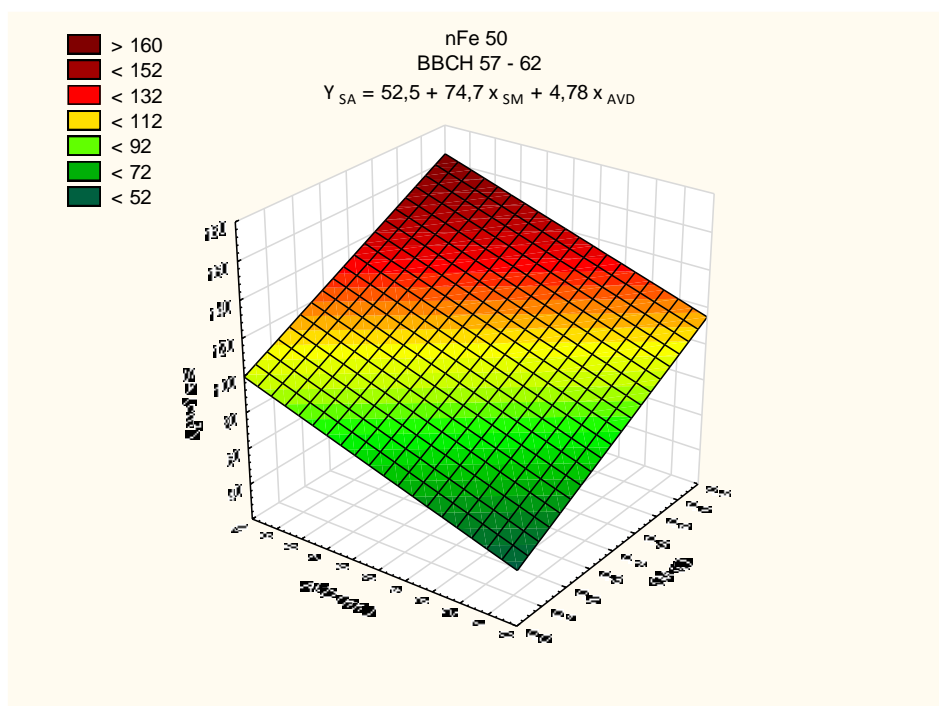
Na podstawie regresji wielokrotnej, wykonanej metodą krokową postępującą, uzyskano model, w którym powierzchnia całkowita korzeni ( $Y_{SA}$ ) w obiekcie nanoFe 50 (rys. 33) w istotny sposób zależała od dwóch innych parametrów korzeni:

- zawartości suchej masy ( $x_{SM}$ )  $b = 74,7$  ( $t=3,01_{(df=15)}$ ,  $p<0,01$ ),
- średnicy korzenia ( $x_{AVD}$ )  $b = 4,78$  ( $t=3,81_{(df=15)}$ ,  $p<0,05$ ),

Dobroć dopasowania modelu regresji wielokrotnej ( $R^2$  skorygowane) wynosi dla nanoFe50 0,62,  $F_{(2,15)} = 15,3$ ,  $p<0,001$ , błąd estymacji = 17,1%.

Model regresji wielokrotnej ma równanie:  $Y_{SA} = 52,5 + 74,7 x_{SM} + 4,78 x_{AVD}$ . Na podstawie uzyskanego modelu można stwierdzić, że największa powierzchnia całkowita korzeni była wprost zależna od jego maksymalnej średnicy oraz największej koncentracji suchej masy. Wzrostowi średnicy korzenia o 1 mm odpowiada zwiększenie powierzchni całkowitej o 4,8 cm<sup>2</sup> a wzrost koncentracji suchej masy o 0,1 g będzie sprzyjało zwiększeniu powierzchni całkowitej o 75 cm<sup>2</sup>.





Źródło: opracowanie własne

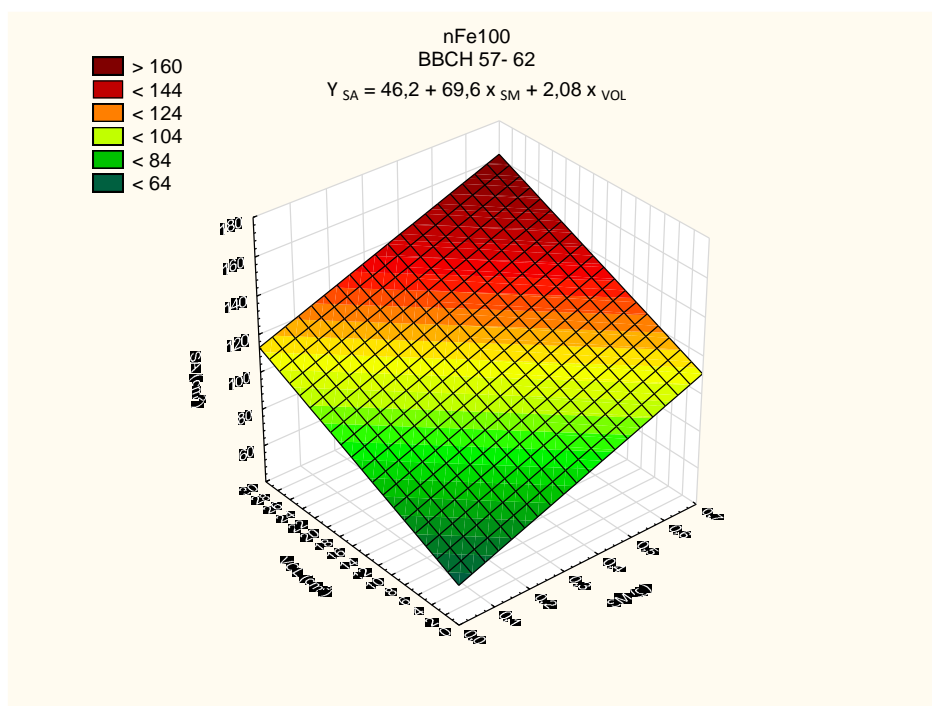
Rys. 33. Model regresji wielokrotnej istotnych zależności między parametrami korzeni rzepaku, obiekty z nanoFe50 w hodowli *in vitro*

Na podstawie regresji wielokrotnej, wykonanej metodą krokową postępującą, uzyskano model, w którym powierzchnia całkowita korzeni ( $Y_{SA}$ ) w obiekcie nanoFe 100 (rys. 34) w istotny sposób zależała od dwóch parametrów korzeni:

- całkowitej objętości ( $x_{VOL}$ )  $b = 2,08$  ( $t=2,60_{(df=33)}$ ,  $p<0,05$ ),
- zawartości suchej masy ( $x_{SM}$ )  $b = 69,6$  ( $t=2,19_{(df=14)}$ ,  $p<0,05$ ).

Dobroć dopasowania modelu regresji wielokrotnej ( $R^2$  skorygowane) wynosi dla nanoFe100 0,61,  $F_{(3,14)} = 9,99$ ,  $p<0,001$ , błąd estymacji = 14,7%.

Model regresji wielokrotnej ma równanie:  $Y_{SA} = 46,2 + 69,6 x_{SM} + 2,08 x_{VOL}$ . Uzyskana zależność w modelu regresji wskazuje, że zwiększenie objętości całkowitej korzeni o  $1 \text{ cm}^3$  spowoduje wzrost powierzchni całkowitej badanej części rośliny o  $2,08 \text{ cm}^2$ . Natomiast zwiększenie zawartości suchej masy o  $0,1 \text{ g}$  spowoduje wzrost powierzchni całkowitej korzeni o  $0,7 \text{ cm}^2$ .



Źródło: opracowanie własne

Rys. 34. Model regresji wielokrotnej istotnych zależności między parametrami korzenia rzepaku, obiekty z nanoFe100 w hodowli *in vitro*

## 4.2. Seria II – Doświadczenia na roślinach rzepaku jarego w perlicie

### 4.2.1. Wpływ efektów badanych czynników na parametry fotosyntezy

Istotnym czynnikiem wpływającym na procesy związane z wymianą gazową (tj. asymilację, transpirację i zawartość CO<sub>2</sub> międzykomórkowego) była faza rozwojowa rośliny rzepaku, w której przeprowadzono pomiary (tab. 12). Procesy asymilacji i transpiracji w badanych roślinach przebiegały bardzo podobnie. Wraz ze wzrostem i rozwojem rzepaku parametry te spadają. W pierwszej fazie pomiaru (BBCH 15-16) Pn kształtowało się na poziomie 0,849  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , natomiast E na poziomie 3,67  $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Siedem dni po dokonaniu aplikacji nanoFe widoczny jest spadek tych parametrów o 11,8% (Pn) i o 13,9% (E). W ostatniej fazie pomiaru (BBCH 50) asymilacja spadła do poziomu 0,575  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , a transpiracja osiągnęła wartość 2,33  $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (był to spadek o odpowiednio 23,2% i 26,3%). Powodem tego może być fakt, że rośliny zwiększają liczbę i powierzchnię liści, oraz przygotowują się do przejścia z fazy wegetatywnej w generatywną. Widoczne różnice w Pn i E można zauważyć również między obiektami nanoFe. Największe wartości (odpowiednio 0,811  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  i 3,48  $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) osiągnęły rośliny z obiektów kontrolnych.

Zastosowane nanoFe spowodowały spadek tych parametrów. Najbardziej jest on widoczny w obiektach Fe10, gdzie Pn i E spadły o 21,5% i 26,2%. Wielkość Ci w badanych liściach kształtowała się na poziomie powyżej 340 ppm. Największą zawartość CO<sub>2</sub> międzykomórkowego wykazywały rośliny w pierwszej i drugiej fazie pomiaru (BBCH 15-16 i BBCH 22-23) tj. 346,7 ppm i 345,7 ppm. Aplikacja nanoFe nie miała istotnego wpływu na Ci. Niewielkie różnice w zawartości CO<sub>2</sub> międzykomórkowego można zauważyć w terminie stosowania mikroelementów. Ci była wyższa o 1 ppm u roślin z obiektów z zastosowanym nawożeniem mikroelementowym wykonanym 3 dni po aplikacji Fe. Fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE) w roślinach rzepaku kształtował się w granicach 0,23-0,25  $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Przyczyną niewielkich wartości WUE była niska asymilacja roślin. Wyraźne różnice można natomiast zauważyć w chwilowym fotosyntetycznym współczynniku wykorzystania wody (WUEI), który spowodowany był niską przewodnością szparkową roślin. Po 24 godzinach od aplikacji Fe, WUEI kształtował się na poziomie 103,40  $\text{mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Pod wpływem wzrostu i rozwoju roślin nastąpił spadek tego współczynnika o 15,9% w fazie BBCH 22-23 i o 19,0% w fazie BBCH 50. WUEI zmieniał się także pod wpływem aplikacji Fe. Na obiektach kontrolnych wynosił on 90,86  $\text{mmol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Zastosowanie Fe spowodowało spadek tego współczynnika o 1,0% na obiektach FeCh, o 5,7% na obiektach Fe5 i o 11,6% na obiektach Fe10. Termin stosowania mikroelementów nie wpłynął istotnie na wartość chwilowego współczynnika (WUEI).

Widoczny wpływ między fazą rozwojową rzepaku, w której dokonano pomiaru a zastosowaną formą Fe można zauważyć w procesie asymilacji i transpiracji (tab. 13).

Tab. 12. Wpływ efektów badanych czynników na parametry fotosyntezy rzepaku jarego 'Felix'

Obiekt doświadczenia	Pn [μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ]	E [mmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ]	Ci [ppm]	WUE [μmol CO <sub>2</sub> ·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> · mmol H <sub>2</sub> O·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ]	WUEI [mmol CO <sub>2</sub> ·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> · mmol H <sub>2</sub> O·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ]
<b>BBCH 15-16</b>	0,849 ± 0,024 a	3,67 ± 0,076 a	346,7 ± 0,50 a	0,23 ± 0,31	103,40 ± 2,15
<b>BBCH 22-23</b>	0,749 ± 0,035 b	3,16 ± 0,102 b	345,7 ± 0,33 a	0,23 ± 0,34	86,96 ± 2,14
<b>BBCH 50</b>	0,575 ± 0,023 c	2,33 ± 0,070 c	343,5 ± 0,62 b	0,25 ± 0,33	70,42 ± 1,19
<i>F</i> (2,85)	32,7 ***	148 ***	12,0 ***		
<b>K</b>	0,811 ± 0,051 a	3,48 ± 0,132 a	345,2 ± 0,78	0,23 ± 0,39	90,86 ± 3,83
<b>FeCh</b>	0,756 ± 0,026 a	3,21 ± 0,120 b	345,6 ± 0,68	0,24 ± 0,22	90,04 ± 3,19
<b>Fe5</b>	0,680 ± 0,031 b	2,88 ± 0,127 c	345,9 ± 0,37	0,24 ± 0,25	85,65 ± 2,94
<b>Fe10</b>	0,637 ± 0,034 b	2,57 ± 0,144 d	344,5 ± 0,54	0,25 ± 0,24	80,28 ± 3,42
<i>F</i> (3,85)	9,18 **	38,8 ***	1,0 ni		
<b>M</b>	0,742 ± 0,030	3,03 ± 0,103	344,8 ± 0,49 b	0,24 ± 0,29	86,16 ± 2,41
<b>BM</b>	0,705 ± 0,025	3,08 ± 0,104	345,8 ± 0,37 a	0,23 ± 0,24	87,81 ± 2,47
<i>F</i> (1,85)	1,69 ni	0,11 ni	4,0 *		
<b>Średnia ogólna</b>	0,725 ± 0,020	3,05 ± 0,073	345,3 ± 0,31	0,24 ± 0,27	86,84 ± 2,64

Źródło: opracowanie własne

Tab. 13. Wpływ współdziałania między fazą rzepaku jarego 'Felix' a formą żelaza na parametry fotosyntezy

Faza	Forma żelaza	Pn [μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ]	E [mmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ]	Ci [ppm]	WUE [μmol CO <sub>2</sub> ·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ·mmol H <sub>2</sub> O·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ]	WUEI [mmol CO <sub>2</sub> ·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ·mmol H <sub>2</sub> O·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ]
BBCH 15-16	K	0,951 ± 0,052 a	4,07 ± 0,057 a	346,9 ± 1,66	0,23 ± 0,91	110,48 ± 2,09
	FeCh	0,831 ± 0,030 b	3,70 ± 0,079 b	347,4 ± 0,59	0,22 ± 0,38	104,04 ± 3,00
	Fe5	0,804 ± 0,047 b	3,51 ± 0,149 b	346,4 ± 0,60	0,23 ± 0,32	100,27 ± 5,05
	Fe10	0,801 ± 0,052 b	3,33 ± 0,188 bc	346,1 ± 0,66	0,24 ± 0,28	97,86 ± 6,02
BBCH 22-23	K	0,942 ± 0,080 a	3,72 ± 0,074 b	345,3 ± 0,93	0,25 ± 1,08	94,95 ± 3,29
	FeCh	0,797 ± 0,021 b	3,52 ± 0,071 b	347,2 ± 0,38	0,23 ± 0,30	95,85 ± 2,65
	Fe5	0,673 ± 0,048 b	2,90 ± 0,136 c	345,9 ± 0,31	0,23 ± 0,35	81,87 ± 3,02
	Fe10	0,554 ± 0,029 c	2,40 ± 0,125 cd	344,4 ± 0,39	0,23 ± 0,23	73,05 ± 2,35
BBCH 50	K	0,539 ± 0,044 d	2,65 ± 0,158 cd	343,3 ± 1,23	0,20 ± 0,28	67,15 ± 2,65
	FeCh	0,640 ± 0,052 c	2,41 ± 0,087 cd	342,4 ± 1,41	0,27 ± 0,60	70,23 ± 2,33
	Fe5	0,563 ± 0,032 c	2,24 ± 0,051 d	345,4 ± 0,90	0,25 ± 0,63	74,80 ± 1,14
	Fe10	0,556 ± 0,046 c	1,98 ± 0,131 e	342,9 ± 1,24	0,28 ± 0,35	69,93 ± 2,63
<i>F</i> (6;79)		4,98 ***	3,09 **	1,40 ni		

Źródło: opracowanie własne

Asymilacja, która osiągnęła wartości w przedziale 0,539-0,951  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  miała najniższy przebieg na obiekcie kontrolnym w najpóźniejszej fazie (BBCH 50). Rośliny z obiektów kontrolnych w fazach BBCH 15-16 i BBCH 22-23 charakteryzowały się najwyższą asymilacją w stosunku do innych roślin, odpowiednio 0,951 i 0,942  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Współdziałanie badanych czynników bardzo zróżnicowało poziom transpiracji u badanych roślin, która kształtuje się ona w przedziale 1,98-4,07  $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Z otrzymanych wyników można zauważyć pewną zależność. W każdej badanej fazie BBCH rośliny z obiektów kontrolnych wykazują najwyższą transpirację, nieco niższą z FeCh, jeszcze niższą z Fe5, a najniższą z obiektów Fe10. Interakcja ta nie miała istotnego wpływu na zawartość  $\text{CO}_2$  międzykomórkowego w badanych liściach. Fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE) w interakcji badanych czynników najniższą wartość osiągnął w obiekcie kontrolnym, tj. 0,20  $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  a najwyższą w obiekcie FeCh 0,28  $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  w fazie BBCH 50. W przypadku WUEI współdziałanie fazy BBCH 15-16 i formy żelaza powoduje spadek tego współczynnika pod wpływem zwiększania dawki Fe. W pozostałych fazach nie dostrzega się tego związku. Najniższy chwilowy współczynniki wykazują rośliny z Fe10 w fazie BBCH 50 (69,93  $\text{mmol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ).

#### 4.2.2. Wpływ efektów badanych czynników na parametry fluorescencji

Największy wpływ na fluorescencję początkową spośród badanych czynników miał termin wykonania pomiaru (tab. 14). Badane liście w kolejności od najstarszego do najmłodszego (1, 2, 3) w pierwszej fazie pomiaru (BBCH 15-16) osiągnęły wartości  $F_0$  odpowiednio 239,4; 233,1 i 235,1. W fazie BBCH 22-23 fluorescencja  $F_0$  spadła o ok. 2%. Dalszy wzrost i rozwój roślin rzepaku do fazy BBCH 50 spowodował wzrost  $F_0$  powyżej 250,0. Aplikacja Fe miała niewielkie znaczenie na wielkość  $F_0$ . Najwyższą wartość tego parametru przyjmują wszystkie badane liście z obiektów kontrolnych (liść 1- 250,1; liść 2- 247,6; liść 3- 243,3). Analizując te wyniki można zauważyć, że im młodszy liść, tym wartość  $F_0$  maleje. Wyjątek stanowią liście z obiektów FeCh, gdzie  $F_0$  jest najwyższa w liściu 2 (240,3) a najniższa w liściu 3 (238,0). Otrzymane wyniki pokazują również, że termin stosowania mikroelementów nie miał istotnego wpływu na fluorescencję początkową. Jednak zastosowanie nawożenia mikroelementowego łącznie z Fe spowodowało nieznaczny wzrost wartości  $F_0$  niż w przypadku stosowania tego nawożenia 3 dni po aplikacji Fe.

Interakcja między fazą wzrostu rzepaku a zastosowaną formą żelaza miała istotne znaczenie na fluorescencję początkową w liściu 2 i 3. Natomiast w liściu 1 (najstarszym) współdziałanie między badanymi cechami nie miało istotnego wpływu (tab. 15). Fluorescencja początkowa w liściu 2 osiągnęła wartości w przedziale 220,1-270,7; natomiast w liściu 3 (najmłodszym) kształtowała się w zakresie 219,0-253,2. Najwyższą fluorescencję początkową w liściu 2 osiągnęły rośliny z obiektu kontrolnego w ostatniej badanej fazie (BBCH 50), natomiast w liściu 3 uzyskiwały rośliny ze wszystkich obiektów w fazie BBCH 50. Interakcja między analizowanymi cechami w liściu 2 i 3 była najniższa (w obu przypadkach) w fazie wzrostu rzepaku BBCH 22-23 w obiekcie Fe10.

Tab. 14. Wpływ efektów badanych czynników na fluorescencję początkową w liściach rzepaku jarego ‘Feliks’

Obiekt doświadczenia	F <sub>0</sub> 1 liść	F <sub>0</sub> 2 liść	F <sub>0</sub> 3 liść
<b>BBCH 15-16</b>	239,4 ± 2,79 b	233,1 ± 2,27 b	235,1 ± 2,27 b
<b>BBCH 22-23</b>	235,4 ± 2,85 b	229,6 ± 2,83 b	228,5 ± 2,38 c
<b>BBCH 50</b>	261,2 ± 3,29 a	264,1 ± 3,33 a	251,9 ± 2,63 a
<i>F</i> (2,85)	25,2 ***	56,6 ***	31,8 ***
<b>K</b>	250,1 ± 3,55 a	247,6 ± 4,57 a	243,3 ± 3,06 a
<b>FeCh</b>	240,0 ± 4,91 b	240,3 ± 4,97 ab	238,0 ± 3,48 ab
<b>Fe5</b>	243,9 ± 4,16 ab	242,4 ± 4,50 ab	236,6 ± 3,63 ab
<b>Fe10</b>	247,5 ± 3,37 ab	238,3 ± 3,62 b	235,5 ± 3,42 b
<i>F</i> (3,85)	2,52 *	2,50 *	2,45 *
<b>M</b>	246,8 ± 2,77	244,1 ± 3,06	239,1 ± 2,20
<b>BM</b>	243,7 ± 3,04	240,2 ± 3,30	237,8 ± 2,64
<i>F</i> (1,85)	1,43 ni	2,29 ni	0,67 ni
<b>Średnia ogólna</b>	245,3 ± 2,05	242,3 ± 2,24	238,5 ± 1,70

Źródło: opracowanie własne

Tab. 15. Wpływ współdziałania między fazą wzrostu a formą żelaza na fluorescencję początkową w liściach rzepaku jarego ‘Feliks’

Faza	Forma żelaza	F <sub>0</sub> 1 liść	F <sub>0</sub> 2 liść	F <sub>0</sub> 3 liść
<b>BBCH 15-16</b>	K	245,6 ± 6,68	229,8 ± 6,25 de	234,6 ± 5,18 b
	FeCh	229,4 ± 4,39	229,0 ± 4,28 de	234,0 ± 5,32 b
	Fe5	239,3 ± 5,53	234,5 ± 3,15 d	235,8 ± 3,94 b
	Fe10	244,0 ± 4,28	240,3 ± 2,80 c	236,3 ± 4,03 b
<b>BBCH 22-23</b>	K	243,3 ± 7,04	242,3 ± 5,21 c	242,1 ± 3,96 ab
	FeCh	229,9 ± 4,97	227,2 ± 5,04 de	227,6 ± 4,68 c
	Fe5	231,3 ± 5,34	227,3 ± 6,34 de	223,9 ± 3,39 c
	Fe10	236,8 ± 4,65	220,1 ± 3,46 e	219,0 ± 2,80 d
<b>BBCH 50</b>	K	261,4 ± 2,04	270,7 ± 5,29 a	253,2 ± 5,16 a
	FeCh	260,6 ± 10,6	264,7 ± 9,26 ab	252,6 ± 5,06 a
	Fe5	261,3 ± 6,52	265,5 ± 5,65 ab	250,3 ± 7,28 a
	Fe10	261,6 ± 5,02	254,5 ± 4,93 bc	251,1 ± 4,19 a
<i>F</i> (6,79)		0,60 ni	2,36 *	2,81 *

Źródło: opracowanie własne

Badane czynniki miały niewielki bądź nieistotny wpływ na fluorescencję maksymalną (tab. 16). W pierwszej fazie pomiaru (BBCH 15-16) F<sub>M</sub> w liściu 1 kształtowała się na poziomie 1125. Po 7 dniach, gdzie nastąpił kolejny pomiar fluorescencja wzrosła o 6,5%, po czym spadła o 3,9% w ostatniej fazie pomiaru. Faza rośliny, w której dokonano pomiaru nie miała wpływu na F<sub>M</sub> w liściu 2 i 3. Ale można zauważyć taką samą

tendencję wzrostowo – spadkową tego parametru. Aplikacja Fe miała mały wpływ na  $F_M$  w liściu 1 i 2, natomiast w przypadku liścia 3 nie miała wpływu. Badanie liścia 1 wykazało, że najmniejszą  $F_M$  mają rośliny kontrolne (1129) oraz po zastosowaniu Fe w formie chelatu (1133) i nanoFe w dawce 5 ppm (1153). Natomiast w liściu 2 fluorescencja ta miała najmniejszą wartość w obiektach FeCh. Zastosowanie Fe w postaci nanocząstek w ilości 10 ppm najkorzystniej wpłynęło na fluorescencję maksymalną we wszystkich liściach. W liściu najmłodszym aplikacja żelaza nie wpłynęła na badany parametr fluorescencji. Termin stosowania mikroelementów również nie miał istotnego wpływu na fluorescencję maksymalną.

Tab. 16. Wpływ efektów badanych czynników na fluorescencję maksymalną w liściach rzepaku jarego ‘Feliks’

Obiekt doświadczenia	$F_M$ 1 liść	$F_M$ 2 liść	$F_M$ 3 liść
<b>BBCH 15-16</b>	1125 ± 25,9 b	1174 ± 22,1	1220 ± 19,8
<b>BBCH 22-23</b>	1198 ± 14,1 a	1201 ± 15,3	1224 ± 16,6
<b>BBCH 50</b>	1151 ± 27,2 ab	1168 ± 25,2	1202 ± 19,3
$F_{(2,85)}$	2,65 *	1,01 ni	0,60 ni
<b>K</b>	1129 ± 31,6 b	1184 ± 29,7 ab	1216 ± 26,2
<b>FeCh</b>	1133 ± 26,8 b	1159 ± 19,0 b	1198 ± 20,7
<b>Fe5</b>	1153 ± 23,4 b	1165 ± 25,9 ab	1214 ± 15,7
<b>Fe10</b>	1224 ± 20,9 a	1218 ± 21,2 a	1235 ± 20,8
$F_{(3,85)}$	3,53 *	2,68 *	1,10 ni
<b>M</b>	1142 ± 20,8	1199 ± 16,1	1220 ± 15,2
<b>BM</b>	1176 ± 16,6	1161 ± 18,4	1210 ± 15,0
$F_{(1,85)}$	2,27 ni	2,03 ni	0,23 ni
<b>Średnia ogólna</b>	1158 ± 13,6	1181 ± 12,2	1215 ± 10,7

Źródło: opracowanie własne

Wpływ interakcji między fazą wzrostu roślin rzepaku a zastosowaną formą żelaza na fluorescencję maksymalną był widoczny we wszystkich badanych liściach (tab. 17). W każdym z liści największy wpływ badanych cech widoczny był w fazie BBCH 15-16 w obiekcie z największą dawką żelaza w postaci nanocząstek (Fe10). Współdziałanie między analizowanymi cechami było najniższe w obiekcie kontrolnym w fazie BBCH 15-16 we wszystkich badanych liściach.

Faza rozwojowa rośliny, w której wykonano pomiar miała istotny wpływ na wskaźnik sprawności fotochemicznej PSII (tab. 18). Liście najmłodsze roślin będących w fazie pierwszej (BBCH 15-16) wykazywały wartość wskaźnika 0,806. Pozostałe liście miały niższą od poziomu 0,800. Rośliny będące w fazie BBCH 22-23 nie wykazywały stresu (wskaźnik powyżej 0,800). Wraz ze wzrostem i rozwojem roślin wartość tego wskaźnika spadała. Liść najstarszy w każdym z badanych obiektów z zastosowanym Fe był pod wpływem stresu. Najkorzystniej na ten wskaźnik wpłynęło stosowanie nanoFe w ilości 10 ppm. Niewielki wpływ na wskaźnik fluorescencji miał termin stosowania mikroelementów, lecz tylko w przypadku liścia najstarszego. Zastosowanie tego nawożenia 7 dni po aplikacji Fe spowodowało jego wzrost o 1,3% w stosunku do



stosowania mikroskładników łącznie z Fe. Spośród wszystkich analizowanych liści, niezależnie od badanego czynnika najmniejszy poziom stresu wykazywał liść najmłodszy (3).

Tab. 17. Wpływ współdziałania między fazą wzrostu a formą żelaza na fluorescencję maksymalną w liściach rzepaku jarego ‘Feliks’

Faza	Forma żelaza	F <sub>M</sub> 1 liść	F <sub>M</sub> 2 liść	F <sub>M</sub> 3 liść
<b>BBCH 15-16</b>	K	962 ± 38,1 d	1060 ± 38,9 d	1114 ± 31,2 d
	FeCh	1118 ± 31,8 cd	1125 ± 25,6 c	1210 ± 34,8 b
	Fe5	1163 ± 42,7 c	1212 ± 30,3 b	1232 ± 26,0 b
	Fe10	1278 ± 24,4 a	1318 ± 21,8 a	1338 ± 22,6 a
<b>BBCH 22-23</b>	K	1242 ± 24,0 ab	1266 ± 26,7 ab	1298 ± 26,8 ab
	FeCh	1200 ± 22,6 b	1197 ± 30,3 b	1207 ± 43,1 bc
	Fe5	1151 ± 36,8 c	1171 ± 37,6 bc	1215 ± 20,6 b
	Fe10	1193 ± 24,2 b	1161 ± 12,6 bc	1169 ± 20,4 c
<b>BBCH 50</b>	K	1184 ± 47,2 bc	1227 ± 58,3 b	1237 ± 52,9 b
	FeCh	1079 ± 67,4 cd	1156 ± 40,3 bc	1178 ± 32,3 c
	Fe5	1146 ± 46,9 c	1111 ± 59,5 c	1195 ± 35,0 bc
	Fe10	1201 ± 50,0 b	1174 ± 40,3 bc	1197 ± 31,6 bc
<i>F</i> (6;79)		5,51 ***	6,79 ***	5,53 ***

Źródło: opracowanie własne

Tab. 18. Wpływ efektów badanych czynników na poziom stresu w liściach rzepaku jarego ‘Feliks’

Obiekt doświadczenia	F <sub>V</sub> /F <sub>M</sub> 1 liść	F <sub>V</sub> /F <sub>M</sub> 2 liść	F <sub>V</sub> /F <sub>M</sub> 3 liść
<b>BBCH 15-16</b>	0,783 ± 0,006 b	0,799 ± 0,004 b	0,806 ± 0,003 a
<b>BBCH 22-23</b>	0,803 ± 0,002 a	0,808 ± 0,002 a	0,812 ± 0,002 a
<b>BBCH 50</b>	0,769 ± 0,005 c	0,771 ± 0,004 c	0,789 ± 0,003 b
<i>F</i> (2;85)	18,9 ***	37,2 ***	21,2 ***
<b>K</b>	0,773 ± 0,008 c	0,788 ± 0,005 b	0,798 ± 0,004 b
<b>FeCh</b>	0,784 ± 0,007 bc	0,792 ± 0,004 b	0,800 ± 0,004 ab
<b>Fe5</b>	0,787 ± 0,004 a	0,789 ± 0,006 b	0,804 ± 0,003 ab
<b>Fe10</b>	0,796 ± 0,004 a	0,803 ± 0,004 a	0,808 ± 0,004 a
<i>F</i> (3;85)	5,1 **	3,0 *	2,34 *
<b>M</b>	0,780 ± 0,005 b	0,794 ± 0,003	0,803 ± 0,003
<b>BM</b>	0,790 ± 0,004 a	0,791 ± 0,004	0,802 ± 0,003
<i>F</i> (1;85)	6,5 *	0,80 ni	0,40 ni
<b>Średnia ogólna</b>	0,785 ± 0,003	0,793 ± 0,003	0,802 ± 0,002

Źródło: opracowanie własne

Największy widoczny wpływ pomiędzy fazą rozwojową rzepaku a zastosowaną formą Fe na poziom stresu wyrażony wskaźnikiem sprawności fotochemicznej PSII, można zauważyć w liściu najstarszym (1) (tab. 19). Najwyższa interakcja wystąpiła w fazie BBCH 15-16 na roślinach z obiektu Fe10 oraz w fazie BBCH 22-23 na roślinach ze wszystkich badanych obiektów. Najmniejsze współdziałanie badanych cech wystąpiło w obiekcie kontrolnym (0,740), gdy rośliny były w fazie BBCH 15-16. Interakcję między fazą rzepaku a zastosowaną formą żelaza zauważyć można także w liściu 2. Najwyższe współdziałanie tych cech widoczne jest w obiekcie Fe10 zarówno w fazie BBCH 15-16 jak i w fazie BBCH 22-23 (odpowiednio 0,818 i 0,810) oraz w obiektach K (0,808) i FeCh (0,809) w fazie BBCH 22-23. W fazie BBCH 50 w obiekcie Fe5 można zauważyć najmniejsze współdziałanie badanych cech. Interakcja pomiędzy fazą rozwojową a formą Fe nie miała istotnego wpływu na poziom stresu w liściu najmłodszym (3).

Tab. 19. Wpływ współdziałania między fazą rzepaku jarego 'Feliks' a formą żelaza na poziom stresu w liściach

Faza	Forma żelaza	F <sub>v</sub> /F <sub>M</sub> 1 liść	F <sub>v</sub> /F <sub>M</sub> 2 liść	F <sub>v</sub> /F <sub>M</sub> 3 liść
BBCH 15-16	K	0,740 ± 0,015 c	0,780 ± 0,011 b	0,788 ± 0,007
	FeCh	0,794 ± 0,005 ab	0,795 ± 0,003 ab	0,805 ± 0,004
	Fe5	0,793 ± 0,005 ab	0,805 ± 0,005 ab	0,807 ± 0,006
	Fe10	0,808 ± 0,003 a	0,818 ± 0,004 a	0,824 ± 0,002
BBCH 22-23	K	0,804 ± 0,004 a	0,808 ± 0,003 a	0,812 ± 0,003
	FeCh	0,807 ± 0,005 a	0,809 ± 0,003 a	0,810 ± 0,006
	Fe5	0,798 ± 0,005 a	0,805 ± 0,004 ab	0,815 ± 0,001
	Fe10	0,801 ± 0,005 a	0,810 ± 0,004 a	0,812 ± 0,003
BBCH 50	K	0,776 ± 0,009 b	0,776 ± 0,008 c	0,772 ± 0,008
	FeCh	0,752 ± 0,013 b	0,770 ± 0,007 c	0,784 ± 0,006
	Fe5	0,770 ± 0,006 b	0,757 ± 0,010 cd	0,790 ± 0,005
	Fe10	0,780 ± 0,008 ab	0,791 ± 0,007 b	0,796 ± 0,007
<i>F</i> (6;79)		7,5 ***	2,90 **	1,40 ni

Źródło: opracowanie własne

#### 4.2.3. Wpływ efektów badanych czynników na zawartość Fe i Mg w liściach

Analiza chemiczna materiału roślinnego wykazała, że zawartość Fe w liściach prawie dwukrotnie była wyższa od ilości tego składnika w ogonkach liściowych (tab. 20). Najwięcej żelaza posiadały liście z obiektu Fe5M (139,77 mg·kg<sup>-1</sup> s. m.) oraz FeChBM (136,21 mg·kg<sup>-1</sup> s. m.). Natomiast liście z obiektów KM i Fe10M zawierały tego składnika najmniej (odpowiednio 99,53 i 95,10 mg·kg<sup>-1</sup> s. m.). Ogonki liściowe z obiektów Fe5M, Fe10BM i FeChBM zawierały najwięcej Fe (71,55; 71,80 i 77,90 mg·kg<sup>-1</sup> s. m.). Zawartość Mg w liściach i ogonkach liściowych była na zbliżonym poziomie w każdym obiekcie (powyżej

0,5%). Największą ilością magnezu wyróżniały się rośliny z obiektów FeChM (0,705% w liściach i 0,715% w ogonkach liściowych) oraz Fe10M (0,701% w liściach). Z otrzymanych wyników można również zauważyć zależność, że im więcej liście i ogonki liściowe zawierają Fe to mniej zawierają Mg i odwrotnie.

Tab. 20. Zawartość Fe i Mg w liściach i ogonkach liściowych rzepaku

Liść			Ogonek liściowy		
Obiekt	Fe [mg·kg <sup>-1</sup> s. m.]	Mg [% s. m.]	Obiekt	Fe [mg·kg <sup>-1</sup> s. m.]	Mg [% s. m.]
KM	99,53	0,660	KM	43,21	0,645
KBM	115,04	0,603	KBM	47,15	0,538
Fe5M	139,77	0,580	Fe5M	71,55	0,559
Fe5BM	103,20	0,585	Fe5BM	54,67	0,553
Fe10M	95,10	0,701	Fe10M	61,13	0,604
Fe10BM	102,04	0,627	Fe10BM	71,80	0,613
FeChM	114,17	0,705	FeChM	63,14	0,715
FeChBM	136,21	0,608	FeChBM	77,90	0,590

Źródło: opracowanie własne

#### 4.2.4. Wpływ efektów badanych czynników na biometrię liści

Pomiary biometryczne na liściach wykonano po przeprowadzeniu ostatnich pomiarów parametrów fotosyntezy oraz fluorescencji. Z tego też względu jeden czynnik, jakim była faza przeprowadzonego pomiaru, nie został uwzględniony. Uzyskane wyniki pokazały, że ani termin zastosowania mikroelementów, ani zastosowane Fe nie miały istotnego wpływu na badane cechy biometryczne liścia najstarszego (1) (tab. 21). Wyjątek stanowi długość ogonka. Najdłuższe ogonki liściowe posiadały rośliny po zastosowaniu nanoFe w ilości 10 ppm (9,45 cm). Liście rzepaku z obiektu FeCh miały ogonki najkrótsze (8,31 cm). Również interakcja między badanymi czynnikami wykazała wpływ na długość ogonka liściowego. Liście posiadały najdłuższe ogonki pochodzące z obiektu Fe10 niezależnie od terminu zastosowania nawożenia mikroelementowego (9,44 cm – łącznie z Fe; 9,47 cm – 3 dni po Fe). Najkrótszymi ogonkami cechowały się liście z obiektu Fe5 w przypadku stosowania Fe łącznie z mikroelementami (8,02 cm) oraz z obiektu kontrolnego po zastosowaniu mikroskładników 3 dni po aplikacji Fe (7,98 cm).

Otrzymane wyniki pokazują, że istotny wpływ na cechy biometryczne liścia 2 miała aplikacja żelaza (tab. 22). Pod wpływem zastosowania nanoFe w ilości 10 ppm zwiększyła się powierzchnia liścia do 84,0 cm<sup>2</sup> (w kontroli wynosiła 61,6 cm<sup>2</sup>). Również rośliny z obiektu Fe10 posiadały największą świeżą i suchą masę liści w stosunku do kontroli (odpowiednio o 46,3 i 40,9%). Liście rzepaku z obiektów kontrolnych wykazywały najmniejszą świeżą i suchą masę (1,34 g i 0,132 g). Aplikacja Fe miała również dodatkowo wpływ na długość ogonka liściowego. Długość ogonków roślin kontrolnych kształtowała się na poziomie 9,67 cm. Największy wzrost tej cechy o 10,6% jest widoczny u roślin z obiektów Fe10.

Tab. 21. Wpływ efektów badanych czynników na cechy biometryczne liścia 1 rzepaku jarego 'Feliks'.

Liść	Fe (A)	Mikro (B)	Powierzchnia liścia (cm <sup>2</sup> )	Świeża masa liścia (g)	Sucha masa liścia (g)	Długość ogonka (cm)	Świeża masa ogonka (g)	Sucha masa ogonka (g)
1	K	M	55,0 ± 11,3	1,21 ± 0,273	0,110 ± 0,023	8,87 ± 0,256 ab	0,410 ± 0,064	0,025 ± 0,003
	FeCh		30,5 ± 5,00	0,47 ± 0,090	0,060 ± 0,011	8,62 ± 0,250 ab	0,306 ± 0,025	0,024 ± 0,004
	Fe5		36,9 ± 8,94	0,85 ± 0,266	0,090 ± 0,023	8,02 ± 0,568 b	0,308 ± 0,052	0,025 ± 0,003
	Fe10		43,6 ± 6,43	0,93 ± 0,181	0,076 ± 0,021	9,44 ± 0,607 a	0,396 ± 0,083	0,020 ± 0,003
	K	BM	39,7 ± 6,43	0,76 ± 0,190	0,086 ± 0,016	7,98 ± 0,489 b	0,276 ± 0,045	0,022 ± 0,004
	FeCh		35,0 ± 8,14	0,66 ± 0,177	0,080 ± 0,018	8,00 ± 0,524 ab	0,308 ± 0,066	0,025 ± 0,003
	Fe5		36,2 ± 6,72	0,77 ± 0,168	0,088 ± 0,013	9,20 ± 0,682 a	0,408 ± 0,042	0,028 ± 0,006
	Fe10		46,9 ± 4,9	0,74 ± 0,068	0,093 ± 0,033	9,47 ± 0,426 a	0,360 ± 0,050	0,027 ± 0,012
	K	Średnia	47,4 ± 9,11	0,98 ± 0,232	0,098 ± 0,020	8,43 ± 0,373 ab	0,343 ± 0,055	0,024 ± 0,004
	FeCh		32,7 ± 6,57	0,57 ± 0,134	0,070 ± 0,015	8,31 ± 0,370 b	0,307 ± 0,046	0,025 ± 0,004
	Fe5		36,6 ± 7,83	0,81 ± 0,227	0,089 ± 0,018	8,61 ± 0,625 ab	0,358 ± 0,047	0,027 ± 0,005
	Fe10		45,2 ± 5,71	0,84 ± 0,125	0,085 ± 0,027	9,45 ± 0,517 a	0,378 ± 0,067	0,024 ± 0,008
	Średnia	M	41,5 ± 7,91	0,87 ± 0,207	0,089 ± 0,020	8,74 ± 0,421	0,355 ± 0,056	0,024 ± 0,003
		BM	39,5 ± 6,67	0,73 ± 0,151	0,087 ± 0,020	8,66 ± 0,532	0,338 ± 0,051	0,025 ± 0,006
	Średnia ogólna		40,5 ± 7,31	0,80 ± 0,179	0,088 ± 0,020	8,70 ± 0,48	0,346 ± 0,053	0,024 ± 0,005
	F <sub>A</sub> (3;22)		1,51 ni	1,43 ni	0,36 ni	2,72 *	0,50 ni	0,13 ni
	F <sub>B</sub> (1;22)		0,20 ni	0,87 ni	0,06 ni	0,10 ni	0,10 ni	0,40 ni
	F <sub>AxB</sub> (3;22)		0,50 ni	0,80 ni	0,23 ni	2,62 **	1,32 ni	0,40 ni

Źródło: opracowanie własne

Tab. 22. Wpływ efektów badanych czynników na cechy biometryczne liścia 2 rzepaku jarego 'Feliks'

Liść	Fe (A)	Mikro (B)	Powierzchnia liścia (cm <sup>2</sup> )	Świeża masa liścia (g)	Sucha masa liścia (g)	Długość ogonka (cm)	Świeża masa ogonka (g)	Sucha masa ogonka (g)
2	K	M	66,0 ± 4,62	1,39 ± 0,077	0,135 ± 0,016	9,95 ± 0,444 b	0,518 ± 0,036	0,028 ± 0,003
	FeCh		63,7 ± 6,48	1,48 ± 0,199	0,142 ± 0,018	10,8 ± 0,753 a	0,596 ± 0,067	0,044 ± 0,004
	Fe5		66,3 ± 8,66	1,50 ± 0,249	0,135 ± 0,014	9,73 ± 0,507 b	0,568 ± 0,063	0,035 ± 0,003
	Fe10		84,3 ± 9,49	2,06 ± 0,299	0,192 ± 0,028	10,9 ± 0,773 a	0,768 ± 0,131	0,048 ± 0,011
	K	BM	57,2 ± 9,07	1,29 ± 0,282	0,128 ± 0,022	9,38 ± 0,943 b	0,512 ± 0,101	0,036 ± 0,006
	FeCh		66,6 ± 12,1	1,46 ± 0,243	0,145 ± 0,024	9,35 ± 0,654 b	0,568 ± 0,119	0,038 ± 0,011
	Fe5		74,5 ± 4,83	1,74 ± 0,096	0,158 ± 0,010	10,9 ± 0,620 a	0,678 ± 0,086	0,045 ± 0,006
	Fe10		83,7 ± 15,8	1,86 ± 0,504	0,180 ± 0,051	10,6 ± 1,342 a	0,800 ± 0,234	0,050 ± 0,020
	K	Średnia	61,6 ± 6,84 b	1,34 ± 0,180 b	0,132 ± 0,019 b	9,67 ± 0,694 c	0,515 ± 0,069 b	0,032 ± 0,005 b
	FeCh		65,2 ± 9,30 b	1,47 ± 0,221 ab	0,144 ± 0,021 ab	10,1 ± 0,704 b	0,582 ± 0,093 ab	0,041 ± 0,008 ab
	Fe5		70,4 ± 6,75 ab	1,62 ± 0,173 ab	0,147 ± 0,012 ab	10,3 ± 0,564 b	0,623 ± 0,075 ab	0,040 ± 0,005 ab
	Fe10		84,0 ± 12,6 a	1,96 ± 0,402 a	0,186 ± 0,040 a	10,7 ± 1,058 a	0,784 ± 0,183 a	0,049 ± 0,016 a
	Średnia	M	70,1 ± 7,31	1,61 ± 0,206	0,151 ± 0,019	10,3 ± 0,619	0,612 ± 0,074	0,039 ± 0,005
		BM	70,5 ± 10,4	1,59 ± 0,281	0,153 ± 0,027	10,0 ± 0,890	0,639 ± 0,135	0,042 ± 0,011
	Średnia ogólna		70,3 ± 8,88	1,60 ± 0,243	0,152 ± 0,023	10,2 ± 0,755	0,626 ± 0,105	0,040 ± 0,008
	F <sub>A</sub> (3;22)		2,94 *	2,73 *	2,36 *	3,72 *	2,74 *	2,13 *
	F <sub>B</sub> (1;22)		0,20 ni	0,47 ni	0,26 ni	0,21 ni	0,10 ni	0,40 ni
	F <sub>AxB</sub> (3;22)		0,50 ni	0,70 ni	0,49 ni	2,52 *	1,32 ni	0,40 ni

Źródło: opracowanie własne

Wykazano również wpływ na tą cechę interakcji między aplikacją Fe a terminem stosowania mikroelementów. Najdłuższymi ogonkami liściowymi cechowały się rośliny z obiektów FeCh (10,8 cm) i Fe10 (10,9 cm), gdzie aplikowano Fe łącznie z nawożeniem mikroskładnikami. Natomiast w przypadku zastosowania nawożenia 3 dni po Fe liście miały najdłuższe ogonki z obiektów Fe 5 i Fe10 (odpowiednio 10,9 i 10,6 cm). Świeża i sucha masa ogonków liściowych także zwiększyła się po zastosowaniu Fe. W obiektach kontrolnych cechy te kształtowały się na poziomie 0,515 g i 0,032 g. Po zastosowaniu nanoFe w ilości 10 ppm świeża i sucha masa ogonków liściowych zwiększyła się do 0,784g i 0,049g.

Również w przypadku liścia najmłodszego (3) istotny wpływ na cechy biometryczne liści miało zastosowanie żelaza (tab. 23). Powierzchnia liści zwiększyła się o 18% po aplikacji nanoFe w ilości 10 ppm w stosunku do kontroli. Rośliny kontrolne wykazały także najmniejszą świeżą i suchą masę liści (2,14 g i 0,191 g). Zastosowanie Fe spowodowało wzrost tych cech do poziomu 2,67g i 0,278 g u roślin z obiektu Fe10. Pozytywny wpływ działania Fe można również zauważyć w przypadku ogonków liściowych. Ich długość wzrosła o ok. 12% po zastosowaniu Fe w dawce 10 ppm. Interakcja pomiędzy badanymi czynnikami istotnie wpłynęła tylko na jedną z badanych cech, jaką była długość ogonka liściowego. Zastosowanie Fe łącznie z mikroelementami spowodowało wydłużenie ogonków o 24% w obiekcie FeCh, o 9% w Fe5 i o 22% w Fe10. Natomiast rośliny pochodzące w obiekcie kontrolnego wykazały najkrótsze ogonki liściowe (10,0 cm). Stosowanie Fe i mikroelementów w osobnych terminach także wpłynęło na długość ogonków liściowych. Najkrótsze ogonki uzyskano w obiekcie kontrolnym (11,1 cm) i w obiekcie FeCh (10,8 cm). Okazało się, że nanocząstki żelaza w dawce 5 ppm najkorzystniej wpłynęły na badaną cechę. Ogonki na tym obiekcie osiągnęły długość 13,0 cm. Nieco krótszymi ogonkami (11,9 cm) wykazały się rośliny w drugim obiekcie z nanocząstkami (Fe10). Ogonki liściowe z obiektu kontrolnego posiadały również najmniejszą świeżą masę (0,77g). Aplikacja nanocząstek Fe (10 ppm) spowodowała wzrost badanej cechy o 53,2%. Pod wpływem zastosowanego żelaza (FeCh, Fe5 i Fe10) zwiększyła się również sucha masa ogonków liściowych w porównaniu do kontroli (powyżej 30%).

Tabela 23. Wpływ efektów badanych czynników na cechy biometryczne liścia 3 rzepaku jarego ‘Feliks’

Liść	Fe (A)	Mikro (B)	Powierzchnia liścia (cm <sup>2</sup> )	Świeża masa liścia (g)	Sucha masa liścia (g)	Długość ogonka (cm)	Świeża masa ogonka (g)	Sucha masa ogonka (g)
3	K	M	94,9 ± 19,5	2,12 ± 0,424	0,188 ± 0,042	10,0 ± 1,18 b	0,77 ± 0,239	0,050 ± 0,011
	Fech		95,8 ± 12,9	2,34 ± 0,327	0,230 ± 0,034	12,4 ± 0,61 a	1,03 ± 0,138	0,072 ± 0,010
	Fe5		100,7 ± 6,64	2,32 ± 0,292	0,208 ± 0,023	10,9 ± 0,66 ab	0,85 ± 0,028	0,055 ± 0,005
	Fe10		118,9 ± 15,7	2,95 ± 0,464	0,268 ± 0,042	12,2 ± 0,85 a	1,15 ± 0,200	0,078 ± 0,016
	K	BM	98,1 ± 14,3	2,16 ± 0,344	0,194 ± 0,028	11,1 ± 0,82 c	0,78 ± 0,098	0,054 ± 0,008
	Fech		99,4 ± 9,44	2,35 ± 0,193	0,228 ± 0,023	10,8 ± 0,27 c	0,92 ± 0,116	0,068 ± 0,009
	Fe5		107,1 ± 16,8	2,78 ± 0,487	0,238 ± 0,042	13,0 ± 1,11 a	1,20 ± 0,276	0,080 ± 0,017
	Fe10		108,1 ± 5,32	2,38 ± 0,083	0,287 ± 0,037	11,9 ± 0,25 b	1,22 ± 0,146	0,067 ± 0,022
	K	Średnia	96,5 ± 16,9 b	2,14 ± 0,384 b	0,191 ± 0,035 b	10,6 ± 1,00 b	0,77 ± 0,169 b	0,052 ± 0,010 b
	Fech		97,6 ± 11,2 b	2,34 ± 0,260 ab	0,229 ± 0,029 ab	11,6 ± 0,44 ab	0,98 ± 0,127 ab	0,070 ± 0,010 a
	Fe5		103,9 ± 11,7 ab	2,55 ± 0,390 ab	0,223 ± 0,033 ab	11,9 ± 0,89 a	1,03 ± 0,152 ab	0,068 ± 0,011 a
	Fe10		113,9 ± 10,2 a	2,67 ± 0,274 a	0,278 ± 0,040 a	12,0 ± 0,55 a	1,18 ± 0,173 a	0,073 ± 0,019 a
	Średnia	M	102,6 ± 13,7	2,43 ± 0,377	0,223 ± 0,035	11,4 ± 0,83	0,95 ± 0,151	0,064 ± 0,010
		BM	103,2 ± 11,5	2,42 ± 0,277	0,236 ± 0,032	11,7 ± 0,61	1,03 ± 0,159	0,067 ± 0,014
	Średnia ogólna		102,9 ± 12,6	2,43 ± 0,327	0,230 ± 0,034	11,5 ± 0,72	0,99 ± 0,155	0,065 ± 0,012
	F <sub>A</sub> (3;22)		2,87 *	2,53 *	2,41 *	3,72 *	2,24 *	2,25 *
	F <sub>B</sub> (1;22)		0,52 ni	0,37 ni	0,42 ni	0,71 ni	0,56 ni	0,89 ni
	F <sub>AXB</sub> (3;22)		0,84 ni	0,68 ni	0,52 ni	2,42 *	1,28 ni	1,21 ni

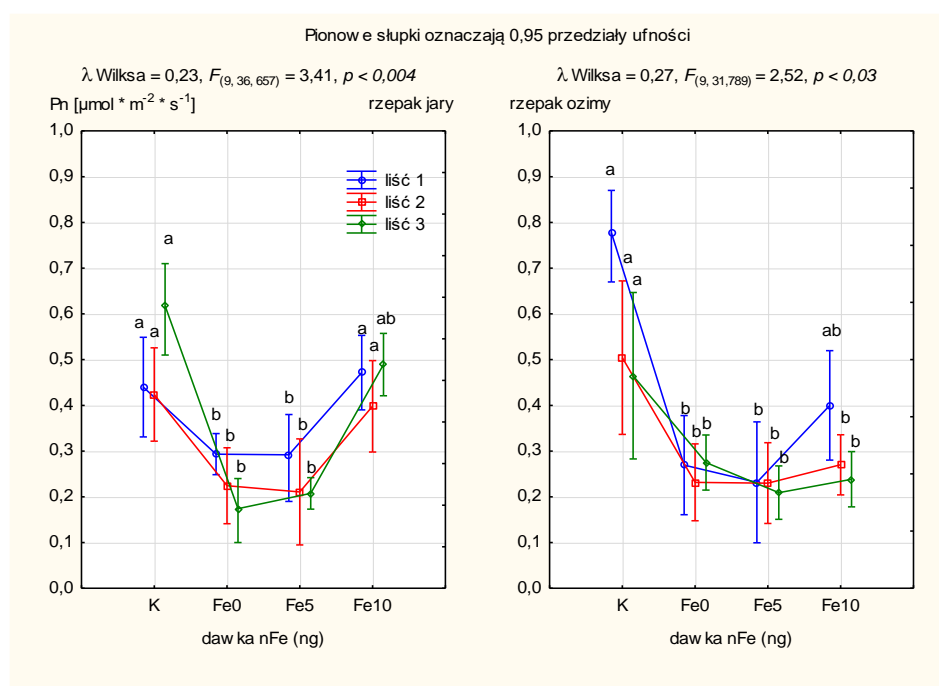
Źródło: opracowanie własne

### 4.3. Seria III – Doświadczenia na roślinach rzepaku jarego i ozimego w ziemi ogrodniczo-uprawnej

#### 4.3.1. Wpływ nalistnego zastosowania nanocząstek Fe na parametry fotosyntezy

Pomiar natężenia procesów asymilacji (Pn), transpiracji (E), stężenia dwutlenku węgla w przestworach międzykomórkowych (Ci) oraz przewodności szparkowej (Gs) przeprowadzono dwukrotnie podczas okresu wegetacji roślin rzepaku jarego i ozimego. Średnie wyniki tych pomiarów dla trzech liści z każdego badanego obiektu przedstawiono na rysunkach 3-6.

Zastosowanie Fe istotnie wpłynęło na proces asymilacji we wszystkich badanych liściach w obu formach rzepaku (jara i ozima) (rys. 35). Najwyższą wartość asymilacji CO<sub>2</sub> odnotowano we wszystkich liściach rzepaku jarego w fazie BBCH 31-32 (7 dni przed zastosowaniem Fe) oraz w liściu 1 i 2 14 dni po zastosowaniu Fe w ilości 10 ppm (BBCH 60). W rzepaku ozimym najwyższą wartość tego procesu osiągnęły wszystkie liście będące w fazie BBCH 22-23 (powyżej 0,45  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Zastosowanie Fe znacznie obniżyło sprawność procesu asymilacji w liściach rzepaku jarego z obiektów Fe0 i Fe5 (poniżej 0,3  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Aplikacja żelaza spowodowała spadek Pn również we wszystkich liściach rzepaku ozimego. Najniższą wartość asymilacji CO<sub>2</sub> stwierdzono we wszystkich badanych liściach w obiektach Fe0, Fe5, i Fe10 (za wyjątkiem liścia najstarszego).

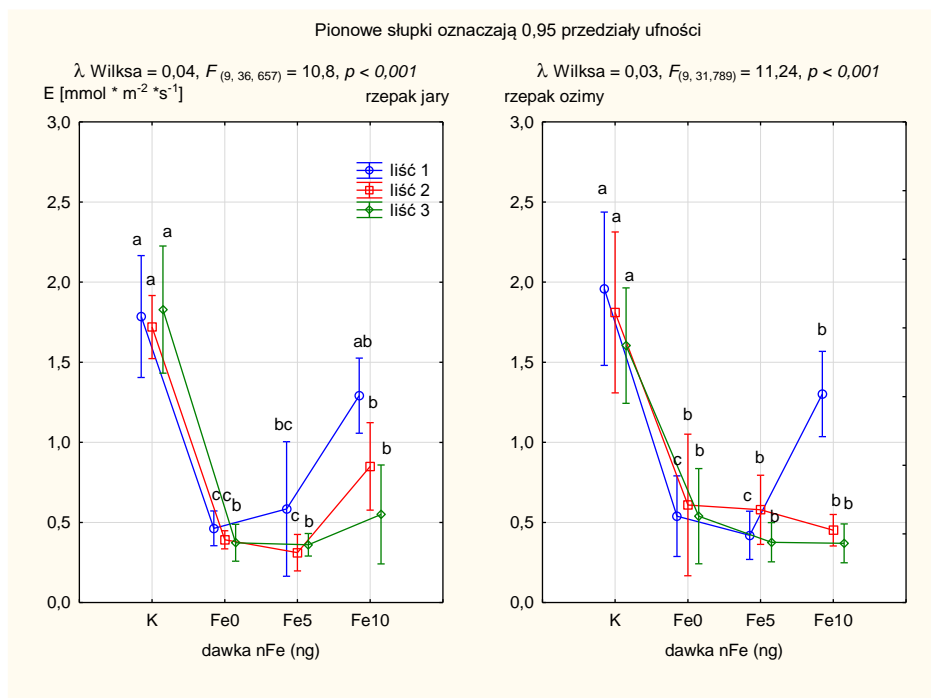


Źródło: opracowanie własne

Rys. 35. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na asymilację (Pn) rzepaku jarego i ozimego



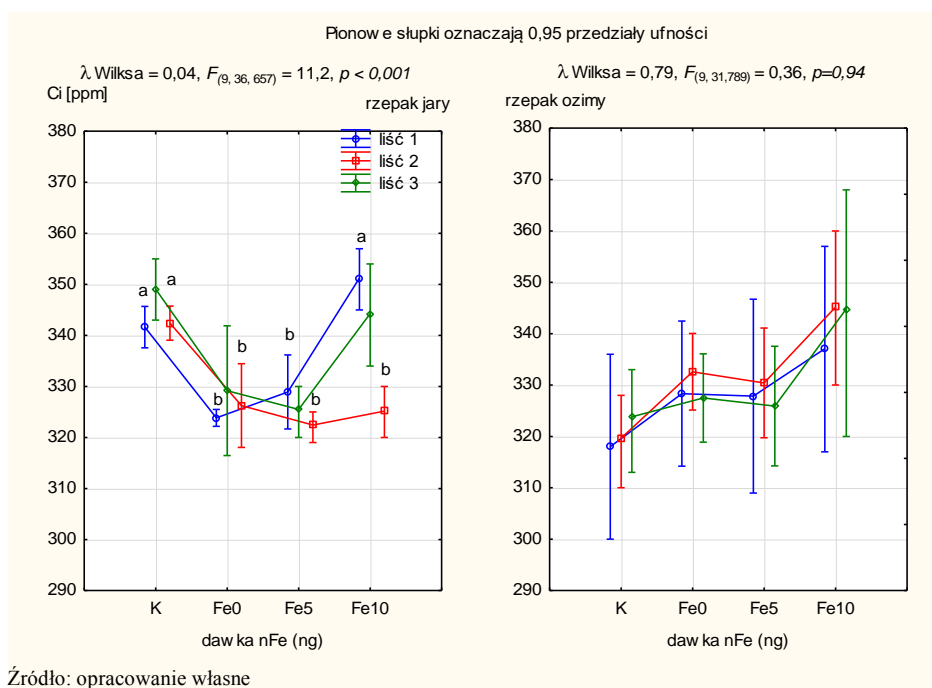
Zastosowanie nanoFe miało istotny wpływ na proces transpiracji we wszystkich badanych liściach w obu formach rzepaku (jara i ozima) (rys. 36). Najwyższą wartość transpiracji odnotowano 7 przed zastosowaniem żelaza we wszystkich liściach rzepaku jarego w fazie BBCH 31-32 oraz rzepaku ozimego w fazie BBCH 22-23. Parametr ten w obu formach rzepaku kształtował się na podobnym poziomie i mieścił się w przedziale  $1,5\text{--}2,0 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Zastosowanie Fe znacznie obniżyło transpirację w liściach rzepaku jarego we wszystkich badanych obiektach (poza liściem najstarszym w obiekcie Fe10). Aplikacja żelaza spowodowała również spadek E we wszystkich liściach rzepaku ozimego. Najniższą wartość transpiracji stwierdzono w przypadku liścia najstarszego w obiektach Fe0, Fe5. Natomiast dla pozostałych liści we wszystkich badanych obiektach.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 36. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na transpirację (E) rzepaku jarego i ozimego

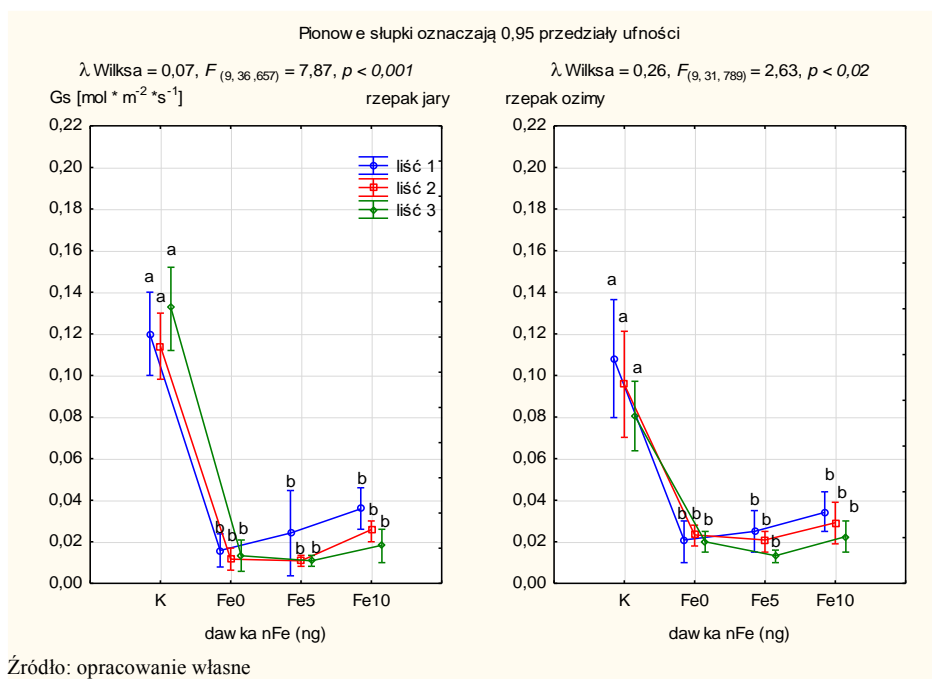
Wpływ nawożenia nanoFe miał istotne znaczenie na zawartość dwutlenku węgla w przestworach międzykomórkowych liścia 1 i 2 rzepaku jarego (rys. 37). Najwyższe wartości tego parametru dla liścia najstarszego zaobserwowano w obiekcie kontrolnym (K) oraz w obiekcie po aplikacji żelaza w dawce 10 ppm (Fe10). Dla liścia 2 stężenie  $\text{CO}_2$  było najwyższe w obiekcie kontrolnym i wynosiło nieco poniżej 350 ppm. W pozostałych obiektach uzyskane przez badane liście wartości parametru były statystycznie najniższe (poniżej 330 ppm). Aplikacja nanoFe nie miała istotnego wpływu na stężenie  $\text{CO}_2$  w przestworach międzykomórkowych dla wszystkich badanych liści rzepaku ozimego.



Rys. 37. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na zawartość  $\text{CO}_2$  w przestworach międzykomórkowych (Ci) rzepaku jarego i ozimego

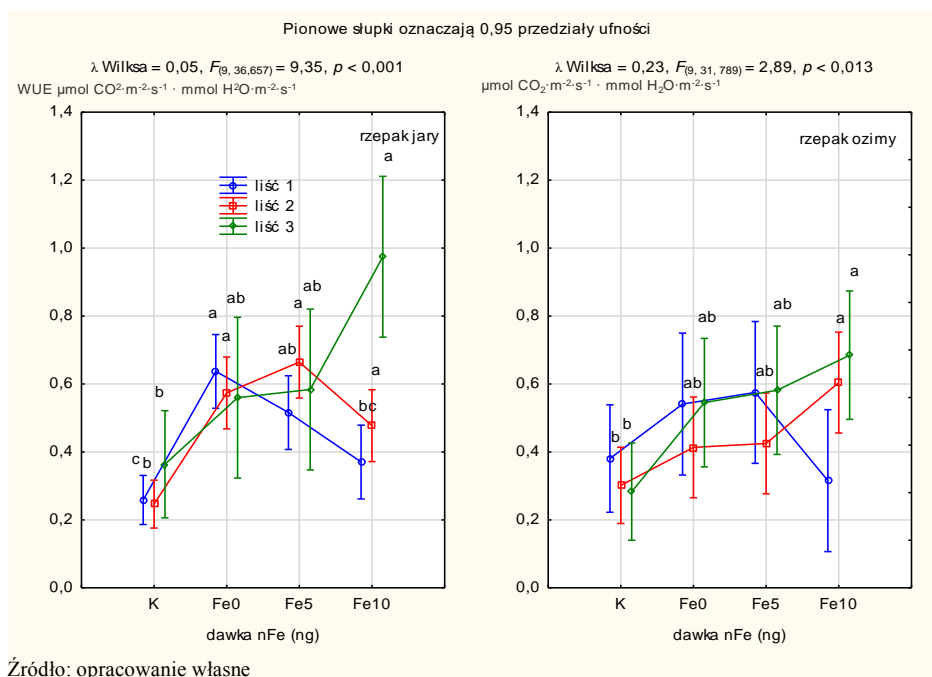
Analizując otrzymane wyniki wykazano, że zastosowanie Fe miało istotny wpływ na przewodność szparkową we wszystkich badanych liściach rzepaku jarego i ozimego (rys. 38). Najwyższą wartość tego parametru wykazały liście z obiektu kontrolnego przed zastosowaniem żelaza. Dwutygodniowa stabilizacja roślin po zastosowanym nawożeniu nanocząstkami żelaza spowodowała kilkukrotny spadek badanego parametru (poniżej  $0,4 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

Fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE) był statystycznie różny we wszystkich liściach rzepaku jarego oraz w liściu 2 i 3 rzepaku ozimego (rys. 39). Największy wzrost współczynnika po aplikacji nanoFe nastąpił w przypadku liścia najmłodszego (3) rzepaku jarego (o 169,4%). Wzrost WUE w liściu pośrednim (2) kształtował się w przedziale od 92,0% (Fe10) do 164,0% (Fe0). Po 14 dniach od momentu zastosowania żelaza w liściu najstarszym (1) wzrost współczynnika WUE nastąpił w obiekcie Fe0 o 246,2%. W przypadku rzepaku ozimego dwutygodniowa stabilizacja roślin po zastosowaniu żelaza spowodowała proporcjonalny wzrost badanego współczynnika do dawki Fe. Aplikacja żelaza w ilości 10 ppm spowodowała wzrost WUE o 100,0% w liściu 2 i o 142,8% w liściu 3.



Źródło: opracowanie własne

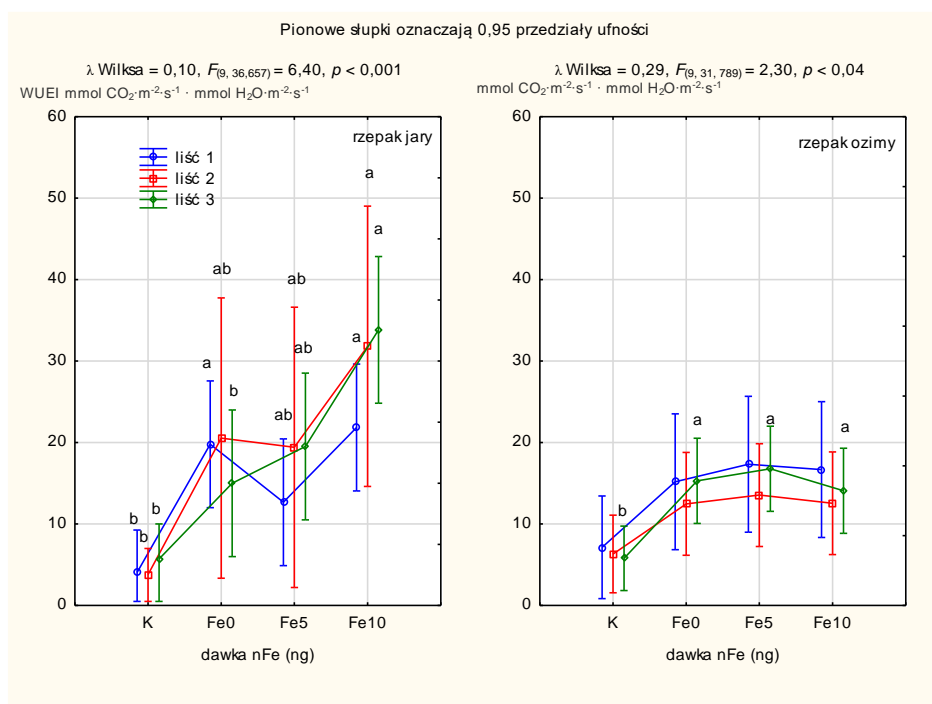
Rys. 38. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na przewodność szparkową (Gs) rzepaku jarego i ozimego



Źródło: opracowanie własne

Rys. 39. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE) rzepaku jarego i ozimego

Wpływ zastosowania żelaza miał statystycznie istotny wpływ na chwilowy fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUEI) na wszystkie liście rzepaku jarego oraz na liść najmłodszy (3) rzepaku ozimego (rys. 40). Analizując współczynnik WUEI w rzepaku jarym, można zauważyć, że po zastosowaniu nanoFe otrzymane dane są bardziej rozproszone. Informują o tym długie wąsy, które świadczą o występowaniu obserwacji skrajnych- znacząco oddalonych od średniej. W liściu najstarszym największy wzrost badanego współczynnika występuje w obiekcie Fe10 (o 436,8%) oraz Fe0 (o 386,2%). Natomiast w obiekcie Fe5 wzrost ten jest nieco niższy i wynosił 211,3%. Zastosowanie Fe w dawce 10 ppm spowodowało największy wzrost WUEI w liściu pośrednim (2) o 739,6%. Na pozostałych obiektach wzrost ten był na podobnym poziomie i wynosił 442,2% w Fe0 i 412,4% w Fe5. Również w przypadku liścia najmłodszego (3) największy wzrost chwilowego fotosyntetycznego wykorzystania wody miał miejsce po zastosowaniu najwyższej dawki żelaza (o 491,4%). W obiekcie Fe0 wzrost ten był najniższy (o 162,2%). Zastosowanie żelaza spowodowało wzrost chwilowego współczynnika w liściu najmłodszym rzepaku ozimego o 189,8% w obiekcie Fe5 i 164,4% w obiekcie Fe0. Najmniejszy wzrost można zauważyć po aplikacji najwyższej dawki żelaza (10 ppm) o 143,0%.

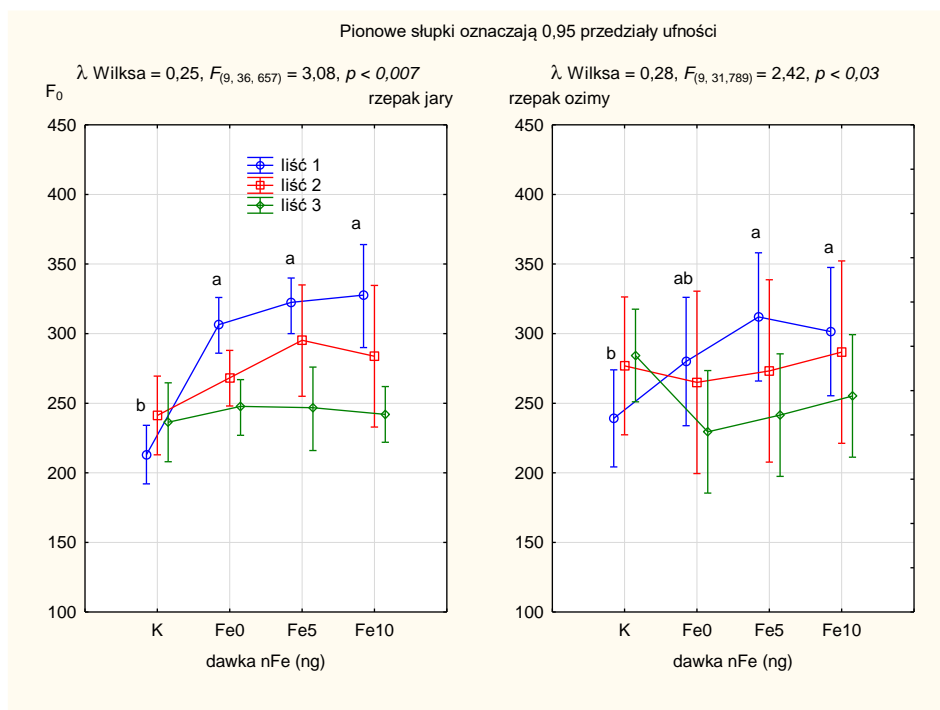


Źródło: opracowanie własne

Rys. 40. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na chwilowy fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUEI) rzepaku jarego i ozimego

#### 4.3.2. Wpływ nalistnego zastosowania nanocząstek Fe na parametry fluorescencji

Istotny wpływ zastosowania nanocząstek żelaza na fluorescencję początkową w obu formach rzepaku (jarej i ozimej), można zauważyć jedynie w liście najstarszym (1) (rys. 41). Badane liście w pierwszym terminie pomiaru (7 dni przed zastosowaniem Fe) osiągnęły wartości  $F_0$  najniższe, poniżej 250. Najwyższą wartość tego parametru dla rzepaku jarego uzyskano we wszystkich pozostałych obiektach (powyżej 300). Natomiast w przypadku rzepaku ozimego najwyższą wartość  $F_0$  posiadały liście z obiektów z zastosowanym Fe (niewiele powyżej 300). Otrzymane wyniki pokazują również, że aplikacja Fe nie miała statystycznie istotnego znaczenia na fluorescencję początkową dla liścia 2 i 3 zarówno w rzepaku jarym jak i ozimym. Analizując wyniki przedstawione na wykresie, można zauważyć, że im młodszy liść, tym wartość  $F_0$  maleje.

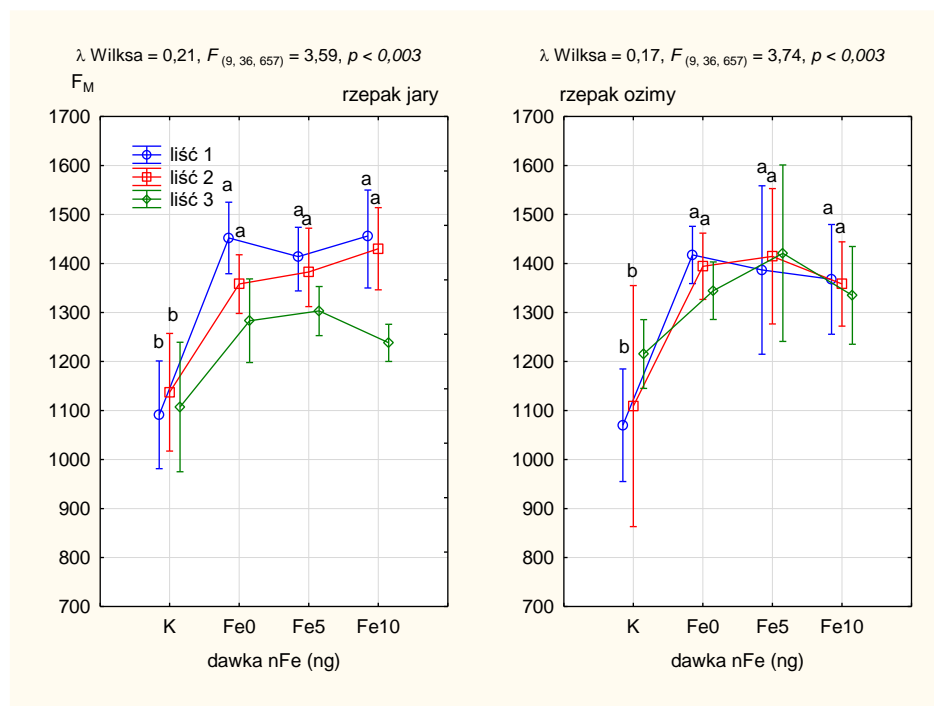


Źródło: opracowanie własne

Rys. 41. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na fluorescencję początkową ( $F_0$ ) rzepaku jarego i ozimego

Wpływ aplikacji nanocząstek żelaza miał istotne znaczenie na fluorescencję maksymalną liścia 1 i 2 rzepaku jarego i ozimego (rys. 42). W obu formach rzepaku najniższe wartości  $F_M$  posiadały liście z obiektu kontrolnego (K) przed zastosowaniem Fe (w przedziale 1050-1250). Po 14 dniach od aplikacji żelaza fluorescencja maksymalna

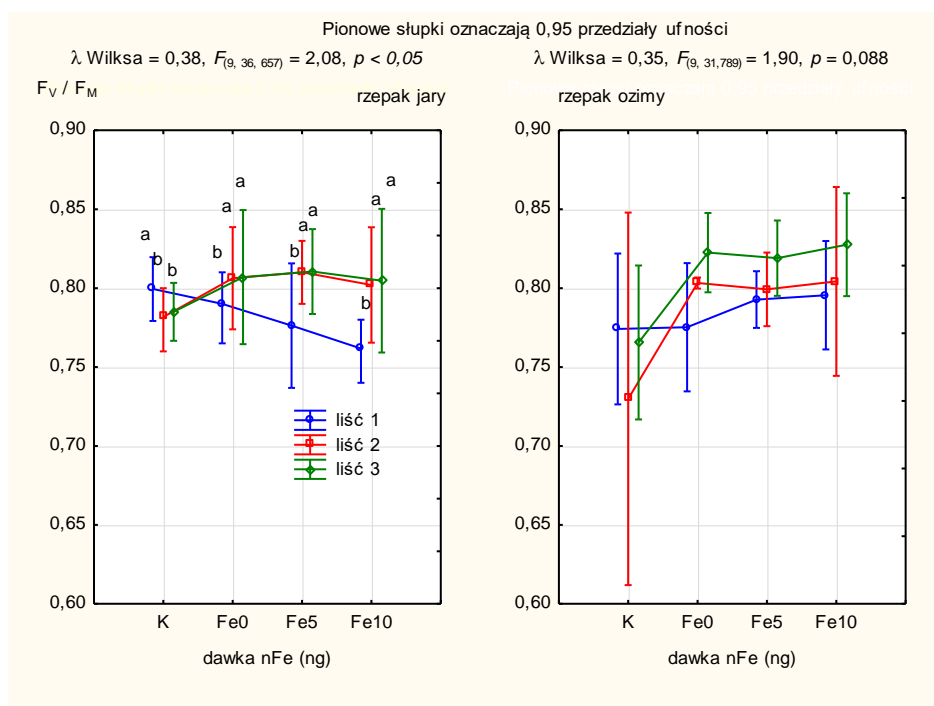
wzrosła, nawet na liściach rzepaku bez zastosowanego Fe. W liściu najmłodszym (3) rzepaku jarego i ozimego aplikacja żelaza nie wpłynęła istotnie na badany parametr fluorescencji. Fluorescencja maksymalna miała bardzo podobny przebieg w rzepaku jarym i ozimym.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 42. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na fluorescencję maksymalną ( $F_M$ ) rzepaku jarego i ozimego

Nalistna aplikacja nanocząstek Fe miała istotny wpływ na wskaźnik sprawności fotochemicznej PSII ( $F_v/F_m$ ) wszystkich badanych liści rzepaku jarego (rys. 43). Liście najstarsze (1) roślin będących w pierwszym terminie pomiaru (BBCH 31-32) wykazywały najwyższą wartość wskaźnika równą 0,800. Zastosowanie Fe spowodowało znaczny spadek parametru dla badanego liścia rzepaku jarego. Pozostałe liście miały najniższą sprawność fotochemiczną PSII przed aplikacją Fe. Liście (2 i 3) roślin będące w fazie BBCH 60 nie wykazywały stresu (wskaźnik powyżej 0,800). Liść najstarszy w każdym z badanych obiektów przed i po zastosowaniu Fe był pod wpływem stresu. W przypadku rzepaku ozimego zastosowanie Fe nie miało istotnego znaczenia na wskaźnik sprawności fotochemicznej PSII.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 43. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na wskaźnik sprawności fotochemicznej PSII ( $F_V/F_M$ ) rzepaku jarego i ozimego

#### 4.3.3. Wpływ nalistnego zastosowania nanocząstek Fe na biometrię liści

Pomiary biometryczne wszystkich liści przeprowadzono po wykonaniu pomiarów fotosyntezy oraz fluorescencji. Uzyskane wyniki pokazują, że zastosowanie Fe miało istotny wpływ na długość liścia rzepaku jarego we wszystkich badanych liściach (tab. 23). Otrzymane wyniki wskazują, że najkrótsze liście (1,2,3) posiadały rośliny w obiektach bez zastosowanego żelaza (Fe0). Aplikacja Fe w fazie BBCH 31-32 zwiększyła długość wszystkich liści, a zmienność tej cechy była w stopniu umiarkowanych (Cv od 7,81 do 13,0%). Najdłuższe liście znajdowały się w obiektach: Fe5 (13,33 cm) i Fe10 (13,23 cm) dla liścia 1, Fe5 (12,85 cm) dla liścia 2 i Fe10 (11,35 cm) dla liścia 3. Zastosowanie żelaza miało również istotny wpływ na szerokość liścia 2 i 3, kształtując tę cechę w stopniu małej zmienności (Cv poniżej 11%). Najszersze liście zaobserwowano w obiekcie Fe10 zarówno dla liścia 2 (11,35 cm), jak i 3 (10,10 cm). Z kolei rośliny rzepaku jarego miały najwęższe liście w obiekcie bez zastosowanego żelaza (Fe0), zaś nalistna aplikacja Fe nie miała istotnego wpływu na szerokość liścia najstarszego (1) oraz na długość ogonka liściowego we wszystkich badanych liściach. W przypadku tej ostatniej cechy, zaobserwowano zmienność w zakresie Cv od 8,6 do 29%, wraz ze wzrostem dawek nanoFe.

Tab. 23. Charakterystyka morfologiczna liści rzepaku jarego pod wpływem dawek nano żelaza

Długość liścia [cm]						
Dawka nFe	Liść 1		Liść 2		Liść 3	
	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)
0	11,28 ± 0,71 b	12,65	9,88 ± 0,50 b	10,17	9,33 ± 0,29 b	6,21
5	13,33 ± 0,52 a	7,81	12,85 ± 0,52 a	8,15	10,70 ± 0,66 ab	12,43
10	13,23 ± 0,78 a	11,85	12,18 ± 0,90 ab	14,76	11,35 ± 0,74 a	13,00
<i>F</i> (2;9)	3,88*		5,47**		3,99*	
Szerokość liścia [cm]						
Dawka nFe	Liść 1		Liść 2		Liść 3	
	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)
0	10,93 ± 0,26	4,81	9,75 ± 0,48 b	9,78	8,38 ± 0,52 b	12,35
5	12,08 ± 0,50	8,24	10,85 ± 0,55 ab	10,14	9,18 ± 0,23 ab	4,90
10	11,23 ± 0,41	7,36	11,35 ± 0,61 a	10,68	10,10 ± 0,49 a	9,80
<i>F</i> (2;9)	2,19 ni		3,24*		3,97*	
Długość ogonka liściowego [cm]						
Dawka nFe	Liść 1		Liść 2		Liść 3	
	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)
0	13,50 ± 0,58	8,60	11,35 ± 1,14	20,17	7,98 ± 0,67	16,87
5	15,65 ± 1,44	18,41	13,23 ± 0,91	13,78	10,83 ± 1,50	27,67
10	12,45 ± 0,95	15,22	11,25 ± 1,35	24,03	9,28 ± 1,34	28,99
<i>F</i> (2;9)	2,41 ni		0,94 ni		1,36 ni	

Źródło: opracowanie własne

Analizując uzyskane wyniki biometrii liści rzepaku ozimego, można zauważyć, że zastosowanie żelaza w fazie BBCH 22-23 miało istotny wpływ na długość i szerokość liścia 1 i 2 (tab. 24). Najdłuższe liście (1 i 2) posiadały rośliny z obiektów, na których zastosowano najwyższą dawkę żelaza (Fe10) odpowiednio: 13,09 cm i 13,60 cm. Liście z pozostałych obiektów były statystycznie najkrótsze. Aplikacja Fe miała również istotny wpływ na szerokość 1 i 2 liścia rzepaku ozimego. Najszersze liście miały rośliny rzepaku z obiektów z zastosowanym żelazem w dawce 10 ppm (Fe10). Liście roślin z pozostałych obiektów (z wyjątkiem liścia 1 w obiekcie Fe5) były najkrótsze. Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu nalistnego zastosowanie żelaza na długość i szerokość liścia najstarszego (1) oraz na długość ogonka liściowego we wszystkich badanych liściach.

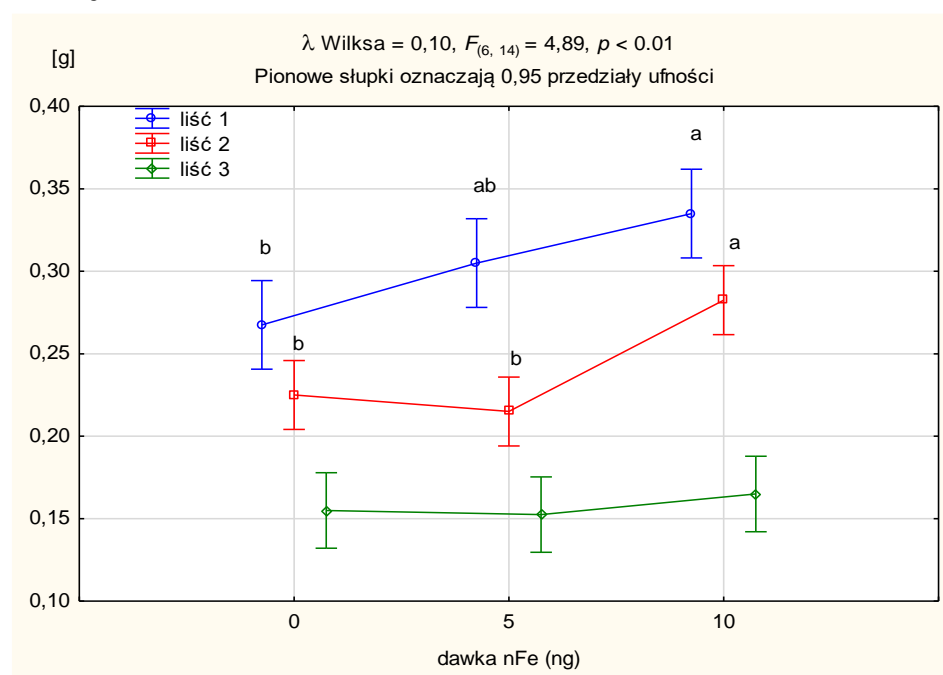
Zastosowanie Fe miało istotny wpływ na zawartość suchej masy w liściach jedynie w przypadku liścia 1 i 2 rzepaku ozimego (rys. 44). Liście najstarsze (1) osiągnęły najwyższą zawartość suchej masy w obiektach z zastosowanym Fe w dawce 5 i 10 ppm (powyżej 0,30 g). Natomiast w przypadku liścia 2 najwyższą koncentracją suchej masy wykazały rośliny z obiektu Fe10 (0,28g). Zawartość suchej masy liści najmłodszych (3) we wszystkich badanych obiektach była na zbliżonym poziomie i statystycznie nie istotna.



Tab. 24. Charakterystyka morfologiczna liści rzepaku ozimego pod wpływem dawek nano żelaza.

Długość liścia [cm]						
Dawka nFe	Liść 1		Liść 2		Liść 3	
	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)
0	10,90 ± 0,70 b	12,87	10,50 ± 0,51 b	9,71	9,28 ± 0,89	19,29
5	12,70 ± 0,15 b	2,32	11,15 ± 0,31 b	5,50	10,90 ± 0,43	7,89
10	13,09 ± 0,40 a	6,08	13,60 ± 0,80 a	11,78	10,50 ± 0,61	11,66
F (2;9)	5,95**		8,05**		1,58 ni	
Szerokość liścia [cm]						
Dawka nFe	Liść 1		Liść 2		Liść 3	
	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)
0	10,28 ± 0,08 b	1,46	9,83 ± 0,09 b	1,74	8,48 ± 0,44	10,30
5	11,15 ± 0,39 ab	7,04	9,50 ± 0,35 b	7,34	8,98 ± 0,29	6,52
10	11,83 ± 0,52 a	8,77	11,50 ± 0,26 a	4,60	9,33 ± 0,59	12,76
F (2;9)	4,22*		17,36**		0,86 ni	
Długość ogonka liściowego [cm]						
Dawka nFe	Liść 1		Liść 2		Liść 3	
	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)	$\bar{x} \pm s_e$	Cv (%)
0	16,50 ± 1,15	13,97	16,25 ± 1,01	12,46	15,78 ± 0,27	3,37
5	19,40 ± 1,30	13,44	16,10 ± 1,90	23,61	15,95 ± 1,49	18,64
10	17,40 ± 1,50	17,22	18,08 ± 0,94	10,45	17,43 ± 1,41	16,20
F (2;9)	1,25 ni		0,66 ni		0,56 ni	

Źródło: opracowanie własne



Źródło: opracowanie własne

Rys. 44. Wpływ nalistnej aplikacji nanocząstek Fe na zawartość suchej masy liści rzepaku ozimego

Na podstawie uzyskanych wyników można zauważyć, że zastosowanie nanocząstek Fe nie wpłynęło istotnie na zawartość suchej masy analizowanych liści rzepaku jarego (tab. 25). Podane wyniki przeprowadzonych analiz pokazują, że im liście są starsze, tym zawartość suchej masy jest wyższa. Najwyższe zawartości suchej masy wykazały liście najstarsze roślin z obiektów Fe5 i Fe10 (0,28g), natomiast liście 2 i 3 tylko z obiektów Fe5 (odpowiednio 0,24g i 0,16g),

Tab. 25. Zawartość suchej masy liści rzepaku jarego po aplikacji nanocząstek Fe

Dawka nFe	$\bar{x}$ zawartość suchej masy [g]		
	liść 1	liść 2	liść 3
0	0,24	0,20	0,14
5	0,28	0,24	0,16
10	0,28	0,22	0,14
<i>P</i>	0,60 ni	0,22 ni	0,36 ni

Źródło: opracowanie własne

Zastosowanie nanocząstek żelaza nie miało statystycznie istotnego wpływu na zawartość suchej masy ogonków liściowych rzepaku jarego i ozimego (tab. 26). W obu formach rzepaku największą zawartością suchej masy ogonków liściowych wykazały rośliny z obiektu, na którym zastosowano żelazo w ilości 5 ppm. Najmłodsze liście (3) rzepaku jarego, w porównaniu do pozostałych liści, wykazały najniższą koncentrację suchej masy ogonków liściowych we wszystkich badanych obiektach. Natomiast w przypadku rzepaku ozimego, wszystkie liście, niezależnie od dawki Fe, miały bardzo zbliżoną zawartość suchej masy ogonków liściowych.

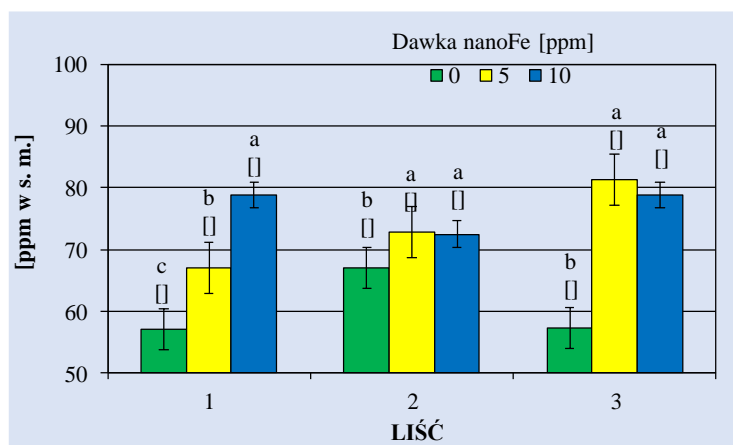
Tab. 26. Zawartość suchej masy ogonków liściowych rzepaku jarego i ozimego po aplikacji nanocząstek Fe

Dawka nFe	$\bar{x}$ zawartość suchej masy w ogonkach liściowych [g]		
	1	2	3
Rzepak jary			
0	0,11	0,08	0,05
5	0,12	0,11	0,08
10	0,11	0,08	0,06
<i>p</i>	0,40 ni	0,26 ni	0,26 ni
Rzepak ozimy			
0	0,14	0,14	0,14
5	0,18	0,17	0,15
10	0,16	0,15	0,16
<i>p</i>	0,26 ni	0,36 ni	0,42 ni

Źródło: opracowanie własne

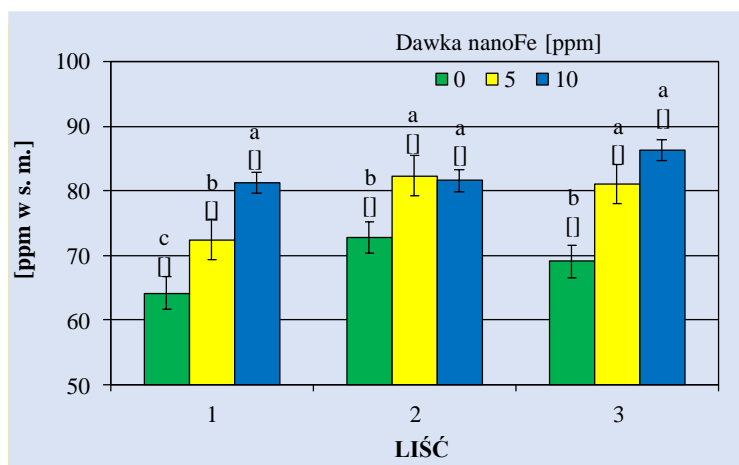
#### 4.3.4. Wpływ nalistnego zastosowania nanocząstek Fe na zawartość żelaza w liściach

Analiza chemiczna materiału roślinnego wykazała, że zawartość żelaza w badanych liściach w obu formach rzepaku oraz w każdym z obiektów miała niemalże identyczny rozkład (rys. 45 i 46). Zawartość Fe w liściach rzepaku jarego kształtowała się w przedziale od 57,1 do 81,3 ppm s. m.; natomiast w liściach rzepaku ozimego w zakresie 64,2 do 86,4 ppm s. m. Najmniejszą zawartość żelaza stwierdzono w liściu najstarszym (1) w obiekcie Fe0 zarówno w rzepaku jarym (57,1 ppm s. m.) jak i rzepaku ozimym (64,2 ppm s. m.). Największą ilość Fe dla obu form rzepaku cechowały się liście 2 i 3 z obiektu Fe5 oraz wszystkie liście z obiektu Fe10. Na podstawie uzyskanych wyników można również stwierdzić, że zastosowanie żelaza znacznie zwiększa zawartość tego pierwiastka w każdym z badanych liści.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 45. Zawartość Fe w suchej masie liści rzepaku jarego (ppm)



Źródło: opracowanie własne

Rys. 46. Zawartość Fe w suchej masie liści rzepaku ozimego (ppm)

## 5. DYSKUSJA O WYNIKACH

### 5.1. Wskaźniki procesu fotosyntezy roślin rzepaku w zależności od fazy rozwoju, stosowania nanoFe oraz mikroelementów

Aparat szparkowy jest podstawowym elementem odpowiedzialnym za przewodność dyfuzyjną powierzchni liści. Jest wykorzystywany przez roślinę zarówno do kontroli utraty wody, jak i do asymilacji CO<sub>2</sub> w procesie fotosyntezy, ale jest bardzo wrażliwy na zmiany warunków środowiskowych. W stanach stresu abiotycznego (np. niedobór wody lub składników odżywczych), aparaty szparkowe są zamknięte, co ogranicza wiązanie CO<sub>2</sub> z atmosfery do wnętrza komórek. Jest to jedna z głównych przyczyn spadku produktywności roślin. Z drugiej strony zamknięcie aparatów szparkowych chroni roślinę przed utratą wody (Reddy i in., 2004).

Natężenie procesów wymiany gazowej było zróżnicowane w zależności od fazy rozwoju rzepaku oraz od czynnika doświadczenia. Wyższe wartości Pn, podstawowego procesu warunkującego wzrost i plonowanie roślin, świadczy o tym, że rośliny były lepiej odżywione (Carlson, 1985; Neukirchen i Lammel, 2002; Kocoń i in., 2004). W badaniach przeprowadzonych na roślinach rzepaku wysadzonych do perlitu uzyskano najwyższą aktywność fizjologiczną wyrażoną w Pn i E w okresie rozwoju liści, natomiast w okresie rozwoju pędów bocznych oraz pąków kwiatowych stwierdzono prawie 2-krotny spadek intensywności Pn i E. Spadek parametrów wymiany gazowej w miarę rozwoju roślin wykazali Fu i in. (2000), którzy stwierdzili, że najwyższą wydajność fotosyntetyczną rośliny osiągają między 10 a 17 dniem po kwitnieniu. Z kolei według Geng i in. (2021), w momencie rozwoju owoców (łuszczyń) zachodzi proces starzenia się liści i wydajność fotosyntezy słabnie, nawet trzykrotnie. W badaniach własnych, dotyczących upraw w ziemi ogrodniczo-uprawnej, uzyskano również obniżenie intensywności procesów Pn i E u roślin rzepaku zarówno jarego jak i ozimego w fazie kwitnienia, w porównaniu do fazy wydłużania pędu głównego. Pater i in. (2017) donoszą, że zarówno wydajność asymilacji oraz transpiracji zależy przede wszystkim od genotypu rzepaku, co nie znalazło potwierdzenia w badaniach własnych. W badaniach *in-vitro* prowadzonych na eksplantatach rzepaku jarego otrzymano najmniejsze Pn oraz E w początkowej fazie rozwoju a najwyższymi wskaźnikami Pn cechowały się rośliny w odpowiednio w fazach rozwoju pąków kwiatowych oraz rozwoju wegetatywnych części roślin. Pater i in. (2017) oraz Dellero i in. (2021) również zwrócili uwagę, że intensywność tych procesów może ulegać dużej zmienności. Tłumaczyć to należy różnym zapotrzebowaniem roślin na produkty fotosyntezy, zależnym nie tylko od odmiany, ale także od stadium rozwojowego i warunków siedliskowych. Takie zmiany w aktywności fotosyntetycznej roślin obserwowali również Luquez i in. (1997), Starck (1999) oraz Wróbel (2002).

Koncepcja badań własnych dotyczyła stosowania nanocząstek. Powszechne stosowanie nanocząstek metali (CuO, Ag, Au, CeO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>, ZnO, Co i Pt) wzbudza obawy, biorąc pod uwagę wpływ, jaki mogą mieć one na rośliny (Tighe-Neira i in., 2018).

Nanocząstki te mogą wpływać degradacyjnie na aparat fotosyntetyczny i jego produktywność, powodując ostre i przewlekłe skutki (Arruda i in., 2015; Da Costa i Sharma, 2016). Zwłaszcza CuO i Ag, ma szkodliwy wpływ na strukturę i funkcję aparatu fotosyntetycznego. Nanocząstki doprowadzają do zmniejszenia zawartości barwników fotosyntetycznych, zwłaszcza chlorofilu, oraz powodują wady w rozwoju chloroplastów (Tighe-Neira i in., 2018). W przeciwieństwie do tego, pozytywny wpływ różnych nanocząstek na różne parametry fotosyntezy a także wzrost i rozwój odnotowano u kilku gatunków roślin m. in. soi, szpinaku, paproci wodnej (Hong i in., 2005; Mingyu i in., 2007; Sarmast i Salehi, 2016; Zarate-Cruz i in., 2016; Cao i in., 2018). W badaniach własnych nad wpływem nanocząstek żelaza na procesy asymilacji CO<sub>2</sub> i transpiracji roślin można zauważyć, że istotnie największy wzrost parametrów fotosyntezy: Pn i E uzyskano po zastosowaniu 25 i 50 ppm nanocząstek żelaza w początkowych fazach rozwoju eksplantatów rzepaku jarego w porównaniu do obiektów kontrolnych. Natomiast największe obniżenie intensywności fotosyntezy netto oraz transpiracji miało miejsce po zastosowaniu najwyższej dawki nanoFe, tj. 500 ppm. Wpływ większych dawek nanocząstek metali na obniżenie asymilacji i transpiracji potwierdzają badania (Da Costa i Sharma, 2016; Hong i in., 2016; Majumdar i in. 2016; Zhao i in. 2015). Określili wpływ nanocząstek metali na funkcje aparatu fotosyntetycznego i wykazali, że nanocząstki w dawkach: 50, 100, 1000 mg·l<sup>-1</sup> CuO (Da Costa i Sharma, 2016); 100, 200 mg·l<sup>-1</sup> CeO<sub>2</sub> i 200 mg·l<sup>-1</sup> CuO (Hong i in., 2016); 125 mg·kg<sup>-1</sup> CeO<sub>2</sub> (Majumdar i in., 2016); 800 mg·kg<sup>-1</sup> ZnO (Zhao i in., 2015) przyczyniły się do spadku wydajności fotosyntezy fotosystemu II wraz ze zmniejszeniem Pn i E. Jednak w badaniach Li i in. (2021) oraz Feng i in. (2022) uzyskano odpowiednio wzrost asymilacji netto liści pszenicy po zastosowaniu nanocząstek żelaza w dawce 500 mg·l<sup>-1</sup> (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) oraz liści *Pseudostellaria heterophylla* - 50 mg·l<sup>-1</sup> (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>).

Spadek procesu fotosyntezy wynika ze stresu roślin, które broniąc się przed utratą wody zamykają aparaty szparkowe, równocześnie ograniczając dostęp CO<sub>2</sub> do wnętrza komórki (Sowiński i in. 1991; Michałek, 1999; Chaves i in., 2002). Aparaty szparkowe są istotnymi strukturami w liściach roślin, które decydują o ich produktywności, ponieważ regulują aktywność fotosyntetyczną oraz kontrolują utratę wody, jak i asymilację CO<sub>2</sub> (Jones, 1998; Maleszewski i Kozłowska-Szerenos, 1998). Klamkowski i in. (2008) oraz Lawson i in. (2014) twierdzą, że im więcej występuje aparatów szparkowych na powierzchni liści to zachodzi intensywniejsze przewodnictwo szparkowe oraz transpiracja.

Najwyższe przewodnictwo aparatów szparkowych odnotowano u roślin rzepaku jarego pochodzących z kultur *in vitro* w fazach rozwoju pąków kwiatowych oraz kwitnienia. Wyższe przewodnictwo aparatów szparkowych (Gs) wynika z postępujących procesów fizjologicznych w starzejących się liściach rzepaku, które charakteryzują się niższą efektywnością wykorzystania wody w porównaniu z młodymi i dojrzałymi liśćmi przy intensywnym natężeniu światła (Dellero i in., 2021). Ponadto, wykazano, że starzeniu się liści rzepaku towarzyszy zmniejszenie grubości ściany komórkowej, co powinno ułatwiać dyfuzję CO<sub>2</sub> do chloroplastów (Musse i in., 2013). Z drugiej strony starzenie się liści zwiększa rozmiar komórek miękiszu palisadowego oraz zmniejsza objętość chloroplastów (Musse i in., 2013; Chrobok i in., 2016; Tamary i in., 2019). Niektórzy autorzy

(Poddar i in., 2020) wskazują, że nanocząstki, takie jak tlenek żelaza i srebro, hamują fotosyntezę poprzez swoje toksyczne działanie. Może to wynikać z warunków stresowych roślin, w których proces fotosyntezy jest utrudniony, aparaty szparkowe zamykają się, przez co zmniejsza się stężenie CO<sub>2</sub> w chloroplastach. W konsekwencji wpływa to na produkcję NADPH<sup>+</sup> i pozwala elektronom ferredoksyny na redukcję O<sub>2</sub> w roślinach. Ostatecznie zachodzi tworzenie reaktywnych form tlenu, takich jak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH<sup>-</sup> (Vranová i in., 2000; Li i in., 2015). Jednak w badaniach własnych uzyskano wzrost przewodności aparatów szparkowych liści rzepaku jarego z kultur *in vitro* w początkowych fazach rozwojowych roślin (do BBCH 46) po zastosowaniu 25 ppm nanoFe. Natomiast w końcowym okresie wzrostu eksplantatów rzepaku jarego uzyskano zdecydowany wzrost przewodności aparatów szparkowych po zastosowaniu największej dawki nanoFe, tj. 500 ppm. Wskazuje to na pozytywny wpływ nanoFe na zmiany fizjologiczne aparatu fotosyntetycznego w roślinach rzepaku. Należy jednak podkreślić, że dotyczyło to późniejszych faz rozwojowych rzepaku, w którym nanocząstki metalu nie wywołują stresu abiotycznego (Poddar i in., 2020). Również w badaniach Li i in. (2015) nad wzrostem rzepaku, otrzymano zwiększenie przewodności aparatów szparkowych po zastosowaniu nanocząstek tytanu (TiO<sub>2</sub>).

Ponieważ zmiany w wielkości aparatu szparkowego mogą wpływać na dyfuzję CO<sub>2</sub> w przestrzeniach międzykomórkowych, a w konsekwencji na proces fotosyntezy, przeanalizowano również międzykomórkowe stężenie CO<sub>2</sub> – wskaźnik Ci (Dellero i in., 2021). Niezależnie od podłoża, w którym hodowano rzepak, uzyskano obniżenie Ci w początkowych fazach rozwojowych roślin. Gromadzenie CO<sub>2</sub> w przestrzeniach międzykomórkowych liścia zachodzi, gdy nie jest on zasymilowany przez Rubisco (karboksylaza/oksygenaza rybulozo-1,5-bisfosforanowa). Jednak aktywność enzymów (Rubisco) jest głównie aktywowane przez stężenie CO<sub>2</sub> chloroplastowego, które zależy od wielkości aparatu szparkowego oraz zdolności międzykomórkowego CO<sub>2</sub> do dyfuzji przez ściany komórkowe, błony plazmatyczne i otoczki chloroplastowe (przewodnictwo mezofilu) (Gago i in., 2020; Dellero i in., 2021). Ponadto zwiększeniu aparatów szparkowych w starzejących się liściach rzepaku można postrzegać jako strategię adaptacyjną wspierającą fotosyntezę w odniesieniu do zmian anatomicznych liści spowodowanych starzeniem i ilości Rubisco, poprzez zwiększenie dyfuzji CO<sub>2</sub> w kierunku chloroplastów (Dellero i in., 2021).

W badaniach własnych nad rzepakiem jarym uprawianym w perlicie uzyskano dodatkowy efekt zastosowanych mikroelementów (B, Cu, Mn, Mo, Zn) po 3 dniach od aplikacji nanoFe, na istotny dla wzrostu Ci. Dostępność niezbędnych makro- i mikroelementów ma wpływ na proces fotosyntezy, jak również na wzrost i rozwój całej rośliny. Korzystny wpływ mikroelementów polega na poprawie wydajności roślin w optymalnych i/lub stresujących warunkach (Piccolo i in., 2021). Fotosynteza to proces, który napędza naszą biosferę a niektóre mikroelementy, takie jak Cu, Fe i Mn, są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania fotosyntezy, ponieważ są składnikami lub kofaktorami wielu białek i enzymów (Aggarwal i in. 2012, Piccolo i in., 2021). Jednak jak wykazują autorzy (Qin i in., 2017) nadmiar stosowania mikroelementów np. molibdenu prowadzi

do obniżenia wskaźników fotosyntezy. Analizując wyniki tych autorów można zaobserwować, że Mo w dawce najmniejszej ( $0,15 \text{ mg kg}^{-1}$ ) korzystnie wpływał na proces fotosyntezy, natomiast zwiększenie dawki Mo powyżej  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  obniża proces fotosyntezy. Zarówno w rzepaku jarym oraz ozimym uprawianym w ziemi ogrodniczo-uprawnej uzyskano obniżenie Ci po zastosowaniu każdej ilości nanoFe. Natomiast w liściach eksplantatów rzepaku jarego uzyskano obniżenie Ci w fazie rozwoju wegetatywnego części roślin po zastosowaniu dawki nanoFe 500 ppm. Jednak inaczej było w końcowych fazach wzrostu rzepaku jarego (rozwój pąków kwiatowych oraz kwitnienie), ponieważ Ci uległa zwiększeniu po zastosowaniu maksymalnej dawki nanoFe (500 ppm). W badaniach dotyczących wpływu nanokompozytów na parametry fotosyntezy pszenicy i rzepaku uzyskano również wzrost Ci w tych roślinach (Wang i in., 2022). W badaniach Li i in., (2015) nie uzyskano wpływu nanocząstek metali bezpośrednio po ich zastosowaniu na zawartość  $\text{CO}_2$  w przestrzeniach międzykomórkowych roślin. Jednak wraz ze zwiększaniem stężenia stosowanych nanocząstek metalu wzrastała zawartość  $\text{CO}_2$  międzykomórkowego liści (Li i in., 2015; Mariz-Ponte i in., 2022). Ponadto w badaniach Gao i in. (2018) zaobserwowano, że stężenie  $\text{CO}_2$  międzykomórkowego wzrastało wraz ze wzrostem stężenia nanokompozytów w pszenicy. Również dane dotyczące parametrów wymiany gazowej pokazują, że po zastosowaniu większych dawek nanocząstek dochodzi do spadku  $P_n$  a przy braku zmian w przewodnictwie szparkowym uzyskano wyższy poziom  $\text{CO}_2$  wewnątrz liścia (Ci) (Mariz-Ponte i in., 2022). Ponadto zastosowanie biologicznych nanocząstek selenu w stężeniu  $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  zwiększa produktywność roślin poprzez poprawę wzrostu roślin, tempa fotosyntezy i wymiany gazowej w podwyższonych temperaturach (El-Saadony i in., 2021b). Natomiast według Kareem i in. (2022) spadek zawartości  $\text{CO}_2$  międzykomórkowego w liściach wywołanego stresem cieplnym można złagodzić przez dolistne zastosowanie nanoZnO. Wynika to z rozmiaru zastosowanych nanocząstek ZnO, który wynosił  $20 \pm 5 \text{ nm}$ . Dzięki temu mogą one łatwo przedostawać się z aparatów szparkowych do naczyń łyka przez plazmodesmy (o średnicy  $40 \text{ nm}$ ) i stać się łatwo dostępne (Mahil i Kumar, 2019). Ponadto jak zauważyli Kareem i in. (2022) zastosowanie nanoZnO wpływa na wymianę gazową ponieważ dochodzi do zwiększenia mechanizmu obrony antyoksydacyjnej i obniżenia reaktywnych form tlenu (ROS). Natomiast w badaniach Wanga i in. (2019) nie uzyskano wpływu nanocząstek Cu na poziom  $\text{CO}_2$  w przestworach międzykomórkowych w liściach sałaty. Ogólnie można przyjąć, że nie jest jednoznacznie określony wpływ nanocząstek na zawartość  $\text{CO}_2$  międzykomórkowego, który również uzyskano w badaniach własnych.

Fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE) oraz chwilowy fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUEI) są ważnymi wskaźnikami wydajności roślin. Ponadto, parametr WUE dostarcza informacji o ilości węgla, która jest asymilowana w postaci biomasy lub ilości ziarna produkowanego na jednostkę wody zużywanej przez uprawę (Hatfield i Dold, 2019). Szczegółowa analiza wykorzystania wody przez rośliny może przyczyniać się do rozwoju kryteriów hodowlanych, opartych o charakterystyczne dla genotypu parametry fizjologiczne i morfologiczne (Dellero i in., 2021). W badaniach własnych na roślinach uprawianych w perlicie WUE i WUEI nie

różnicowało się pod wpływem stosowania nanoFe i nawożenia mikroelementami. Należy jednak podkreślić, że badania wykonano we wczesnych fazach rozwoju rzepaku oraz stosowano niewielkie dawki nanocząstek żelaza (maksymalnie 10 ppm). Uzyskane wskaźniki wskazują na brak stresu u roślin w wyniku niedoboru wody lub innych zaburzeń wpływających na deficyt wody w roślinach. Studia literaturowe wskazują, że starzenie się liści zmienia strukturę tkanek i wewnątrzkomórkowy przepływ wody (Musse i in., 2013; Sorin i in., 2015). W konsekwencji dochodzi do podwyższenia WUE oraz obniżenia WUEI (Dellero i in. 2021), co w badaniach nad roślinami jęczmienia w fazach rozwoju liści, krzewienia i kłoszenia odczuwających stres wodny wykazano poprzez wskaźnik WUE (Jastrzębska i in., 2016). W badaniach analizowanych tutaj, wyniki roślin rzepaku jarego i ozimego uprawianych w ziemi ogrodniczo-uprawnej wskazują na wzrost parametru WUE w późniejszych fazach rozwoju rzepaku oraz, że każda z zastosowanych dawek nanoFe spowodowała wzrost badanych parametrów. Natomiast eksplantaty rzepaku wykazały gwałtowny wzrost badanych wskaźników fotosyntezy WUE oraz WUEI przy dawce nanoFe 50 ppm. Koresponduje to z badaniami Pietkiewicza i in. (2005) oraz Cao i in., (2018), w których uzyskano wzrost fotosyntetycznego WUE jeżeli występuje stres abiotyczny roślin w postaci niedoboru wody w podłożu. Natomiast w badaniach Dellero i in. (2021) stwierdzono, że starzejące się liście rzepaku mają niższy fotosyntetyczny wskaźnik WUEI w porównaniu z innymi stadiami fenologicznymi liści. Wynika to głównie z wyższego współczynnika transpiracji i ograniczenia wielkości aparatów szparkowych. Jednak w badaniach Tighe-Neira i in. (2020) chwilowa efektywność zużycia wody była 2-krotnie wyższa, a samoistna efektywność zużycia wody była o 70% niższa w roślinach traktowanych nanocząstkami metalu w porównaniu z kontrolą. Zwiększony parametr WUE wskazuje na większą szybkość fotosyntezy netto przy dużej zawartości wody. Ponadto należy podkreślić, że zastosowanie nanocząstek metalu znacznie poprawia WUE przy większym uwilgotnieniu, ale nie w warunkach niedoboru wody (Cao i in. 2018).

## **5.2. Intensywność fluorescencji chlorofilu a w roślinach rzepaku**

Fluorescencja chlorofilu a to jeden z podstawowych wskaźników roślin decydujący o ich produktywności. Wszystkie organizmy, które posiadają zdolność do fotosyntezy wykazują fluorescencję chlorofilu (Kalaji 2011). Badania fluorescencji chlorofilu a są szeroko rozpowszechnioną metodą analizy wydajności fotosyntetycznej roślin poddanych działaniu abiotycznych i biotycznych czynników stresowych (Dai i in., 2009; Singh i in., 2022). Pomiar parametrów indukcji fluorescencji chlorofilu pozwala na szybką ocenę sprawności aparatu fotosyntetycznego roślin (Michałek i Sawicka, 2005; Cegielski i in., 2016). Do pomiaru wydajności aparatu fotosyntetycznego roślin służy m. in. fluorescencja początkowa lub zerowa ( $F_0$ ) po adaptacji do ciemności. Duże wartości tego wskaźnika świadczą o mniejszej sprawności przekazywania energii wzbudzenia pomiędzy cząsteczkami chlorofilu (Roháček, 2002; Strasser i in., 2010). W badaniach nie uzyskano



jednoznacznych wyników fluorescencji początkowej chlorofilu a dla liści rzepaku. Rośliny uprawiane w perlicie (niezależnie od wieku liści) oraz w ziemi ogrodniczo-uprawnej w początkowym okresie wzrostu (faza rozwoju liści) miały najmniejsze (korzystne dla procesu fotosyntezy) wskaźniki  $F_0$  w porównaniu do późniejszych faz rozwojowych zwłaszcza rozwoju pąków kwiatowych. Natomiast rośliny w kulturach *in vitro* cechowały się najmniejszymi wartościami parametru fluorescencji w końcowych fazach rozwojowych (rozwój pąków kwiatowych i kwitnienie) w porównaniu do początkowej fazy rozwoju rzepaku jarego. Według Halfhill i in. (2001) fluorescencja liści ulega zmianie podczas całego cyklu rozwoju rzepaku. Należy również podkreślić, że w roślinach, które zostały poddane testowaniu w ziemi ogrodniczo-uprawnej, liście najmłodsze nie wykazywały zmian wielkości wskaźnika fluorescencji początkowej. Autorzy (Halfhill i in., 2003) prowadząc eksperymenty w komorze wzrostowej i w warunkach polowych wykazali, że fluorescencja rzepaku (*Brassica napus*) jest zmienna w czasie i zależy od wieku liści na roślinie. Ponadto rzepak wykazuje się najwyższą fluorescencją w początkowej fazie wzrostu, a następnie intensywność fluorescencji ulega obniżeniu. Halfhill i in. (2001) zasugerowali, że zwiększenie stężenia chlorofilu w dojrzewających liściach może powodować zróżnicowaną fluorescencję liści. Ponadto w badaniach z pszenżytem ozimym (Janušauskaite i Feiziene, 2012) zaobserwowano wpływ fazy rozwoju na fluorescencję początkową liści. Uzyskano wzrost parametru  $F_0$  w czasie wzrostu zboża, co świadczy o niewłaściwym przebiegu procesu fotosyntezy w późniejszych fazach rozwoju roślin. Jednak w ostatnim etapie rozwoju po fazie kłoszenia roślin uzyskano obniżenie fluorescencji zerowej co oznaczało fizjologiczne starzenie się liści i transport asymilatów do ziarna (Weng i in., 2005). Ponadto jak podkreśla Tahir i in. (2009) prowadząc doświadczenia z pszenicą ozimą, fluorescencja chlorofilu znacznie się zmienia w zależności od temperatury. Obecność nanożelaza w środowisku wzrostu roślin wpłynęło istotnie na zmianę wartości fluorescencji początkowej chlorofilu a obu form rzepaku. Po zastosowaniu każdej ilości nanoFe do perlitu niezależnie od fazy rozwoju liści uzyskano obniżenie fluorescencji początkowej. Również współdziałanie fazy rozwoju rzepaku oraz stosowanie nanoFe miało wpływ na parametr  $F_0$ . Zwiększanie dawki nanożelaza do podłoża wpłynęło na obniżenie fluorescencji minimalnej w każdej fazie rozwoju rzepaku jarego w liściach najmłodszych. Jest to korzystne dla roślin, ponieważ wskazuje na brak stresu podczas ich wzrostu. Niskie wartości  $F_0$  świadczą o wyższej sprawności przekazywania energii wzbudzenia (Kalaji, 2011). Ponadto, w badaniach własnych w późniejszych fazach rozwoju roślin w kulturach *in vitro* najmniejsze dawki nanożelaza tj. 10 oraz 25 ppm wpłynęły na obniżenie parametru  $F_0$  a większe dawki nanoFe zwiększyły badany parametr fluorescencji chlorofilu a. Jedynie w fazie kwitnienia rzepaku jarego uzyskano obniżenie fluorescencji minimalnej po zastosowaniu każdej ilości nanożelaza do pożywki. W badaniach (Rostami i in., 2023) dolistna aplikacja nanocząstek tlenku molibdenu istotnie wpłynęła na właściwości fotosyntetyczne rzepaku ozimego. Okazało się, że zastosowanie nanocząstek tlenku molibdenu zmniejszyło fluorescencję początkową ( $F_0$ ) chlorofilu a, zarazem zwiększyło zawartość pigmentu fotosyntetycznego, co z kolei przyczyniło się do zwiększenia maksymalnej wydajności kwantowej fotosystemu II (Rostami i in.,

2023). Najlepsze okazało się w tym zakresie zastosowanie nanoMoO<sub>3</sub> w dawce 25 mg l<sup>-1</sup>. Ponadto w badaniach Mariz-Ponte i in. (2020) oraz Torresa i in. (2018) uzyskano również obniżenie fluorescencji początkowej roślin stosując odpowiednio nanocząstki tytanu oraz złota. Natomiast prowadząc badania z użyciem ziemi ogrodniczo-uprawnej okazało się, że stosowanie nanocząstek żelaza przyczyniło się do wzrostu fluorescencji początkowej w liściach najstarszych rzepaku jarego oraz ozimego. Również w początkowych fazach rozwoju eksplantatów rzepaku jarego uzyskano zwiększenie fluorescencji minimalnej po zastosowaniu 50 ppm oraz wyższych dawek nanoFe do podłoża. Potwierdza to wyniki, które uzyskali Singh i in. (2018a), badając wpływ nanocząstek cynku na parametry fluorescencji początkowej w ryżu. Badacze uzyskali również wzrost parametru F<sub>0</sub> po zastosowaniu nanoZnO. Należy także zauważyć, że brak nanożelaza w pożywce spowodował zmniejszenie wartości tego parametru w roślinach obu badanych form rzepaku. Z drugiej strony brak zmian parametrów fluorescencji w porównaniu z kontrolą jest pozytywnym wskaźnikiem, że badane dawki nie stanowią stężenia toksycznego dla roślin uprawianych w systemach hydroponicznych, wykorzystujących fotosyntezę i węgiel metabolizm jako kontrolne punkty końcowe (Mariz-Ponte i in., 2020).

Następnym parametrem fluorescencji świadczącym o przebiegu procesu fotosyntezy roślin jest fluorescencja maksymalna. Parametr F<sub>M</sub> jest mierzony, gdy wszystkie centra reakcji są zamknięte. Obniżona wartość maksymalnej fluorescencji liścia przystosowanego do ciemności świadczy o większym udziale procesów fotochemicznych konkurujących o wykorzystanie energii (Kalaji i Łoboda, 2009). Parametr F<sub>M</sub> wykazał podobny trend do F<sub>0</sub>, co wskazuje na silną zależność obu parametrów w liściach roślin. Zmiany obu parametrów fluorescencji sugerują występowanie aklimatyzacji roślin do zacienienia. W badaniach nad rzepakiem jarym w perlicie i ziemi ogrodniczo-uprawnej uzyskano wzrost fluorescencji maksymalnej w początkowych fazach rozwoju roślin. Podobne rezultaty uzyskali Janušauskaite i Feiziene (2012), którzy również wykazali korzystny wzrost procesu fotosyntezy roślin, ponieważ maksymalna fluorescencja rzepaku ulegała zwiększeniu wraz z rozwojem rzepaku a jedynie w fazie kwitnienia rzepaku parametr F<sub>M</sub> uległ obniżeniu w porównaniu do fazy rozwoju pąków kwiatowych (BBCH 59). Potwierdzają taką zależność uzyskane wartości fluorescencji maksymalnej liści rzepaku z kultur *brassica*. Natomiast, obniżenie fluorescencji liści kapusty w późniejszych fazach rozwoju roślin uzyskali badacze Ullah i in. (2020). Może to dotyczyć zmiany kinetyki wzrostu F<sub>M</sub>, która zależy i/lub wpływa na dynamikę etapów fotosyntezy PSII i PSI, oraz procesów fizjologicznych roślin (Mishra i in., 2016). Ponadto, należy również mieć na uwadze warunki stresowe u roślin, ponieważ niewłaściwe lub niezbilansowane odżywianie roślin może wywoływać stres i może być jedną z przyczyn zaburzeń wzrostu i rozwoju roślin (Janušauskaite i Feiziene, 2012). Niektóre nawozy, a zwłaszcza dolistne, mogą powodować stres u roślin w momencie ich stosowania (Chitu i in., 2009). Ponadto, podobnie jak w przypadku F<sub>0</sub> można przypuszczać, że obniżenie F<sub>M</sub> jest zmienne w czasie i zależy od wieku liści na roślinie a procesy zachodzące w roślinach wykazują wyższą fluorescencję w początkowych fazach wzrostu, a pod koniec okresu wegetacji fluorescencja chlorofilu a ulega obniżeniu (Halfhill i in., 2003). Także Halfhill i in. (2001)

zasugerowali, że wzrost zawartości chlorofilu w dojrzewających liściach może być przyczyną zróżnicowanej fluorescencji liści. Z drugiej strony wskaźniki fluorescencji znacznie lepiej odzwierciedlały oczekiwane zmiany wydajności fotosyntezy liści, co wykazano już wcześniej (Van Heerden i in., 2003; Van Heerden i in., 2004). Wynika to głównie ze znacznego wpływu niedoboru składników odżywczych roślin na ilość centrów reakcji (Lu i in., 2001; Li i in., 2012). Różnice między poziomem fluorescencji maksymalnej stwierdzone w najmłodszym (liść 1) i najstarszym liściu (liść 3) stanowią dobry przykład wpływu redystrybucji nanoFe na wydajność fotosyntezy, która dominowała u roślin słabo zaopatrywanych w Fe. Można jednoznacznie wskazać, że dla liścia najstarszego uzyskano zdecydowanie pozytywny wpływ nanocząstek żelaza w dawce 10 ppm, ponieważ uzyskano największe wartości fluorescencji maksymalnej rzepaku jarego stosując uprawę roślin w perlicie oraz ziemi ogrodniczo-uprawnej. Także współdziałanie czynników (fazy rozwoju i stosowania nanoFe) wykazuje wyższe wartości  $F_M$  w fazie rozwoju liści zarówno najmłodszych jak i najstarszych rzepaku (BBCH 15-16) równocześnie stosując 10 ppm nanoFe. w perlicie. W badaniach Giglou i in. (2022) również uzyskano pozytywny wpływ nanożelaza w dawce 10  $\mu\text{M}$  na fluorescencję maksymalną roślin, gdyż uzyskano największe wartości tego parametru. Ponadto, wyniki badań uzyskane przez autorów (Singh i in., 2018a), wskazują na pozytywny wpływ każdej ilości zastosowanych nanocząstek cynku na fluorescencję maksymalną w ryżu. W badaniach własnych w rzepaku jarym pochodzącym z kultur *in vitro* zaobserwowano obniżenie wskaźnika  $F_M$  chlorofilu a wynikającej z nadmiaru nanoFe w pożywce. Uzyskano najmniejsze wartości fluorescencji maksymalnej w eksplantatach w fazie wydłużania pędu głównego oraz rozwoju wegetatywnego stosując dawkę 100 ppm nanożelaza. Zmniejszenie fluorescencji maksymalnej chlorofilu a w stosunku do próby kontrolnej świadczy o wystąpieniu stresu, w wyniku którego nie wszystkie akceptory elektronów w PSII zostały całkowicie zredukowane (Kalaji i Łoboda, 2009). A według Blankenshi (2021) oraz Sulkiewicz i Ciereszko (2016) obniżona wartość  $F_M$  świadczy o większym udziale procesów fotochemicznych konkurujących o wykorzystanie energii wzbudzenia centrów reakcji PSII. Uzyskane wyniki w badaniach własnych nie są jednoznaczne, ponieważ uzyskano również wzrost  $F_M$  w roślinach pochodzących z kultur *in vitro* dla dawki największej, tj. 500 ppm nanoFe (BBCH 34-37), co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez Singh i in. (2018a), gdyż badacze uzyskali również maksymalne wartości  $F_M$  stosując największe ilości nanocząstek. Można wskazać brak reakcji eksplantatów niezależnie od ich fazy rozwoju na najmniejsze ilości stosowania nanocząstek żelaza do podłoża (10 i 25 ppm nanoFe).

Rośliny w naturalnych warunkach są narażone na różne stresy abiotyczne, na przykład wysoką i niską temperaturę, niedobór składników odżywczych, zasolenie, suszę, stres świetlny i oksydacyjny. Rośliny lądowe są organizmami pozbawionymi zdolności ruchu i nie są w stanie unikać stresów, zmieniając siedlisko, dlatego rozwinęły specyficzną strategię „radzenia sobie” z niesprzyjającymi warunkami środowiska (Golan i in., 2004). W toku ewolucji rośliny wykształciły mechanizmy zintegrowanych reakcji w przebiegu procesu fotosyntezy, które maksymalizują wykorzystanie energii świetlnej (Paul i Foyer, 2001). Jednakże, rosnąc w warunkach naturalnych, dość często są one

narażone na „kryzysy energetyczne” z powodu niekorzystnych wpływów niektórych elementów środowiska (Starck, 2008). Sytuacja taka występuje na przykład, gdy roślina zaabsorbuje więcej energii świetlnej, niż może przetworzyć na energię chemiczną w procesie fotosyntezy. Powstały brak równowagi energetycznej powoduje inicjację lub aktywizację specyficznych mechanizmów dostosowawczych. W odpowiedzi na sygnały środowiskowe mogą następować zmiany stanu redoks w PSII (Kramer i in., 2004; Kalaji, 2011). Badania wykazały, że najbardziej przydatną metodą detekcji i kontroli takiego stanu nierównowagi energetycznej w aparacie fotosyntetycznym jest pomiar sygnału fluorescencji chlorofilu (Nedbal i Whitmarsh, 2004; Kalaji, 2011).

Stosunek  $F_v/F_m$  jest powszechnie stosowany jako wskaźnik konwersji energii fotosyntezy w roślinach wyższych (Maxwell i Johnson, 2000). Dla wszystkich badanych liści rzepaku jarego uprawianego w perlicie oraz dla liścia najstarszego rzepaku jarego uprawianego w ziemi ogrodniczo- uprawnej uzyskano najwyższe wartości maksymalnej wydajności fotoukładu PSII (powyżej 0,800) odpowiednio w fazie rozwoju pędów bocznych oraz wydłużania pędu głównego. Według Delleri i in. (2021) maksymalna wydajność kwantowa PSII pozostaje stabilna i wynosi dla liści rzepaku ozimego w średnim wieku około 0,835, podczas gdy liście młodsze wykazują wartość około 0,804. Dlatego, chociaż zawartość chlorofilu jest różna między młodymi, dojrzałymi i starzejącymi się liśćmi rzepaku, integralność PSII wydaje się stabilna. W badaniach Hooks i in. (2019) uzyskano wartości  $F_v/F_m$  powyżej 0,820 niezależnie od genotypu rzepaku w fazie rozwoju wegetatywnego roślin, natomiast w początkowej fazie rozwoju liści rzepaku Shengxin i in. (2016) uzyskali maksymalną wydajność kwantową fotosyntezy w zakresie od 0,783 do 0,815. Należy również zwrócić uwagę, że Murkowski i Mila (2010) uzyskali wartości  $F_v/F_m$  liści rzepaku poniżej 0,800 lecz w fazie rozwoju pędów bocznych. Niskie wartości poniżej 0,800 wynikały ze stresu świetlnego, na który były narażone rośliny podczas testu. Efektem tego był obniżony wskaźnik  $F_v/F_m$ , który wskazuje na foto uszkodzenie PSII. W porównaniu z PSI, PSII jest niezwykle wrażliwy na stres świetlny i zwykle ulega uszkodzeniu przed PSI (Sonoike, 2011). Natomiast w badaniach własnych dla tych samych roślin uprawianych w ziemi ogrodniczo-uprawnej uzyskano wartości maksymalnej wydajności fotoukładu PSII powyżej 0,800 dla liści najmłodszych w fazie kwitnienia, ale jednocześnie liść najstarszy wykazywał się parametrem fluorescencji  $F_v/F_m$  poniżej 0,800. Również w badaniach Sun i in. (2020) uzyskano różne wartości maksymalnej wydajności kwantowej PSII w tej samej fazie rozwoju rzepaku w zależności od wieku liści. Badacze otrzymali wartości  $F_v/F_m$  od 0,780 do 0,820 co wskazuje, że liście wykazywały się zarówno obniżeniem procesu fotosyntezy oraz właściwym jego przebiegiem. Natomiast w fazie rozwoju kwitnienia eksplantatów rzepaku uzyskano maksymalne wartości wskaźnika  $F_v/F_m$  średnio na poziomie 0,850 i wskazuje to na brak stresu u roślin. Również w pozostałych fazach rozwoju rzepaku pochodzących z kultur *in vitro* uzyskano wartości powyżej 0,830, które wskazują na brak stresu roślin. Jest to zgodne z wynikami Hooks i in. (2019) oraz Delleri i in. (2021) którzy uzyskali maksymalną wartość wydajności kwantowej PSII fotosyntezy liści rzepaku jarego odpowiednio powyżej 0,820 i powyżej 0,835. Natomiast Müller i in. (2010) uzyskali wskaźnik  $F_v/F_m$  w fazie kwitnienia

rzepaku średnio na poziomie 0,800. Słabe wschody i wigor nasion rzepaku to częste problemy, z którymi borykają się hodowcy rzepaku (Abrahimi i in., 2023). Zastosowanie nanocząstek (NP) jest bardzo skuteczne w zmniejszaniu toksyczności metali (Zhang i in., 2022). Według Ayyaz i in. (2022) traktowanie rzepaku nanocząstkami wapnia dolistnie zwiększa proces fotosyntezy a rośliny w mniejszym stopniu są podatne na stres. Najkorzystniejszą w tym zakresie okazała się dawka 100 mg l<sup>-1</sup> nanoCa. Prowadząc badania własne w kulturach *in vitro* z roślinami rzepaku jarego w późniejszych fazach rozwojowych można zdecydowanie wskazać na znaczny wzrost wskaźnika  $F_v/F_m$  po zastosowaniu największych dawek nanoFe (50-500 ppm). Uzyskano wartość maksymalnej wydajności fotoukładu PSII powyżej 0,850 co wskazuje na brak stresu u roślin. Potwierdzają wpływ nanocząstek badania Rossi i in. (2017), którzy uzyskali korzystny wpływ nanoCe na parametr fluorescencji chlorofilu a –  $F_v/F_m$  po 30 dniach ekspozycji zarówno w obecności, jak i przy braku Cd. Uzyskane wyższe wartości sugerują, że nanocząstki CeO<sub>2</sub> poprawiają efektywność wykorzystania energii świetlnej przez rośliny soi w fotosystemie II (Rossi i in., 2017). Ponadto stosowanie nanoFe w ilości 10 ppm korzystnie wpłynęło na rośliny rzepaku jarego uprawiane w perlicie i ziemi ogrodniczo-uprawnej ponieważ uzyskano najwyższe wyniki maksymalnej wydajności fotoukładu PSII dla liści najmłodszych (powyżej 0,800). Analizując współdziałanie fazy rozwoju i stosowania nanoFe można również zauważyć, że stosowanie nanoFe w dawce 10 ppm w początkowej fazie rozwoju roślin wpływało na łagodzenie stresu u roślin (w liściach najstarszych uzyskano wartości powyżej 0,800). Należy jednak podkreślić, że różnice w zawartości składników odżywczych znacząco wpływają na fotochemiczny proces fotosyntezy, odgrywając tym samym kluczową rolę we wzroście i rozwoju roślin (Kalaji i in., 2018). Oznacza to, że niedobór składników odżywczych silnie wpływa na strukturę i funkcje aparatu fotosyntetycznego, w tym na fotochemię PSII (Smethurst i in., 2005, Kalaji i in., 2014). Natomiast dostarczenie mikroskładników odżywczych zapobiega stresom roślin rzepaku (Kalaji i in., 2018). Na co wskazują wyniki badań własnych dla liścia najstarszego rzepaku jarego, ponieważ uzyskano wzrost maksymalnej wydajności kwantowej PSII po zastosowaniu nawożenia mikroelementami. Nastąpiły w czasie trwania doświadczenia jednokowe zmiany w parametrze określającym maksymalną wydajność kwantową PSII ( $F_v/F_m$ ). Dla roślin kontrolnych wartość  $F_v/F_m$  utrzymywała się na stałym poziomie – średnio 0,792 (niezależnie od wieku badanych liści rzepaku). Natomiast w badaniach Kalaji (2011), także niedobór makroskładników m.in. N, P i Ca spowodował zmniejszenie wartości  $F_v/F_m$  do 0,720. Ponadto, wydajność kwantowa PSII silnie reagowała na niedobory K i Mg. Po pierwszym tygodniu doświadczenia, w którym zastosowano niedobory tych pierwiastków, wartość  $F_v/F_m$  uległa zmniejszeniu odpowiednio do 0,610 i 0,670. Ta zmiana fluorescencji wpływa na aktywność fotochemiczną PSII i zmniejsza fotosyntezę Yin i Tian, 2013; Xue i in. 2014). Prowadząc badania z roślinami rzepaku jarego w ziemi ogrodniczo-uprawnej oraz *in vitro* uzyskano inny efekt procesu fotochemicznego PSII po zastosowaniu nanocząstek żelaza niż w perlicie. Otrzymano najwyższą wartość wskaźnika  $F_v/F_m$  równą 0,800 dla liścia najstarszego rzepaku jarego bez stosowania nanoFe (ziemia ogrodniczo-uprawna), natomiast stosowanie każdej dawki nanożelaza

(5 i 10 ppm) obniżyło wartość wskaźnika  $F_v/F_m$ , co wskazuje na stres u roślin (poniżej 0,800). Ponadto, stosowanie wysokich dawek nanoFe (powyżej 50 ppm) w początkowych fazach rozwoju eksplantatów również spowodowało spadek parametru fotochemicznego fotosyntezy PSII dla badanych liści rzepaku jarego. Można to porównać do badań Kumari i in. (2018), ponieważ w roślinach kontrolnych uzyskano wartości maksymalnej wydajności kwantowej PSII dla analizowanych odmian gorczycy średnio na poziomie 0,800 (brak oznak stresu u roślin). Natomiast wraz ze wzrostem stosowania Al dla wszystkich odmian gorczycy wartości wskaźnika  $F_v/F_m$  ulegały obniżeniu (stres roślin). Ponadto według Wang i in. (2022) stosowanie nanocząstek w uprawie rzepaku również obniża wskaźnik  $F_v/F_m$ , fluorescencji chlorofilu a

Zawartość chlorofilu ma bezpośredni wpływ na fotosyntezę roślin uprawnych, ponieważ jest niezbędnym pigmentem fotosyntetycznym biorącym udział w przechwytywaniu energii świetlnej i konwersji energii. Uzyskano zawartość chlorofilu w liściach eksplantatów rzepaku w fazie rozwoju początkowej liści w zakresie od 3,7 do 45,2. Również duże różnice wartości indeksu chlorofilowego w liściach rzepaku uzyskali Huang i in. (2022), które wahały się od 32,5 do 56,2. Potwierdza to dużą zmienność pigmentu fotosyntetycznego na etapie rozwoju 6-8 liści rzepaku. W badaniach własnych na tak duże rozbieżności koncentracji chlorofilu w liściach rzepaku wpływ miało stosowanie zróżnicowanych dawek nanoFe do pożywek. Okazało się, że dodanie do pożywek w kulturach *in vitro* z rzepakiem dużych dawek nanoFe (100 i 500 ppm) zdecydowanie uległa zwiększeniu zawartość chlorofilu w liściach. Również Li i in. (2015) uzyskali wzrost zawartości chlorofilu w liściach rzepaku po zastosowaniu maksymalnych dawek nanocząstek  $\text{TiO}_2$  (2500 i 4000  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Natomiast w badaniach Kareem i in. (2022) uzyskano istotny wzrost zawartości chlorofilu w liściach fasoli po zastosowaniu tylko 30  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  nano-ZnO w podwyższonej temperaturze. Jednak w badaniach Delleri i in. (2021) uzyskano różnice zawartości chlorofilu w liściach w zależności od wieku w stadium 15 liści. Liście najmłodsze wykazywały się największą koncentracją chlorofilu w porównaniu do liści starszych. W tym badaniu stosowanie nanoFe znacznie zwiększyło zawartość chlorofilu w liściach rzepaku, a zawartość chlorofilu wzrosła po zastosowaniu największych dawek nanoFe tj. 100 i 500 ppm, co znalazło potwierdzenie z wcześniejszymi wyniki badań (Moldovan i in. (2009); Sharma i in. (2014); Wang i in., 2021). Udowodniono, że w warunkach naturalnych, w letnim sezonie - wysokie temperatury, duże natężenie światła i długi czas świecenia hamowałyby w pewnym stopniu syntezę chlorofilu (Aarti i in. 2007; Sun i in. 2008), a odpowiednie zastosowanie nanoSe sprzyja wzrostowi zawartości chlorofilu (Wang i in., 2021). Co więcej, Pezzarossa i in. (2014) stwierdził, że Se hamował również degradację chlorofilu w badaniu pomidorów hydroponicznych. W badaniach własnych uzyskano wysoko istotną zależność między zawartością chlorofilu w liściach a maksymalną wydajnością kwantową PSII, również opisywaną zależność uzyskał w badaniach Kalaji (2011), który ponadto wskazuje na większy stosunek zawartości chlorofilu a do b oraz mniejszy parametr fotochemiczny PSII (Kalaji 2011). Natomiast Delleri i in., (2021) wskazują na niejednoznaczną zależność między indeksem zieloności a maksymalną wydajnością kwantową PSII liści rzepaku. Badacze ci twierdzą, że chociaż

zawartość chlorofilu ulega zmianom między młodymi, dojrzałymi i starzejącymi się liśćmi rzepaku (Dellero i in., 2020), to parametr fotochemiczny fotosyntezy PSII pozostaje na stabilnym poziomie (Dellero i in., 2021).

### 5.3. Analiza wzrostu roślin rzepaku

Wzrost roślin analizuje się wykorzystując dwa parametry, a mianowicie powierzchnię liści i suchą masę organów, a inne wielkości oblicza się na podstawie tych dwóch czynników (Ahmadi i in. 2014). W razie potrzeby wielkości tych parametrów można obliczyć albo dla całych roślin, albo dla różnych części roślin, takich jak korzenia czy liścia (Karimi, 2005).

Wyniki dotyczące wskaźnika masy liści (LWR) lub inaczej stosunku masy liści do całkowitej masy rośliny wykazały nieznaczne zmniejszenie wartości badanego parametru. Analiza danych wykazała, że w fazie rozwoju liści eksplantatów rzepaku jarego wskaźnik LWR wyniósł średnio  $0,522 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ , natomiast w fazie kwitnienia roślin –  $0,496 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ . Singh i in. (2018b) uzyskali również zmniejszenie parametru LWR w liściach trzech odmian *Brassica*. Badacze stwierdzili, że od fazy wegetatywnej do dojrzałości fizjologicznej parametr masy liści ulegał zmniejszeniu w miarę wzrostu i rozwoju roślin *Brassica*. Według autorów (Singh i in., 2018b) wskaźnik LWR ulega zmniejszeniu, ponieważ większość liści opada z powodu starzenia się, a zawartość suchej masy w roślinie ulega zwiększeniu w łuszczynach. Inni badacze (Alvarez i in., 2016) również uzyskali zmniejszenie parametru masy liści. Jednak ich badania dotyczyły ryżu a parametr LWR określali w fazie kwitnienia i dojrzałości fizjologicznej roślin. Ponadto inni badacze wskazali, że wyższe wartości masy liści wynikają z większej zawartości asymilatów w liściach w fazie rozwoju oraz w liściach nowych, w których zachodzą najważniejsze procesy metabolizmu (dos Santos Zepka, 2007; Fageria i in., 2011) a z drugiej strony obniżenie wartości LWR wskazuje na wzrost przemieszczenia się fotoasymilatów do innych części rośliny (Singh i in., 2017). Inaczej przedstawiał się wpływ stosowania nanocząstek żelaza na parametr LWR eksplantatów rzepaku jarego, ponieważ nie uzyskano zdecydowanych zmian wartości wskaźnika masy liści po zastosowaniu nanoFe. Jednak w badaniach Bsoul i in. (2023) uzyskano istotne zmniejszenie wskaźnika LWR po zastosowaniu każdej dawki (20, 40 i 60 ppm) nanocząstek srebra w uprawie szpinaku w porównaniu do obiektu kontrolnego (bez stosowania nanoAg). Autorzy wskazali, że spadek wartości LWR po zastosowaniu nanoAg może wynikać ze zmniejszenia zawartości chlorofilu w roślinie.

Następnym parametrem dotyczącym wzrostu roślin jest specyficzna powierzchnia liści (SLA), czyli jaka powierzchnia liści przypada na zawartą w liściach suchą masę. Wskaźnik SLA zależał do fazy rozwoju eksplantatów rzepaku jarego. Najwyższe wartości specyficznej powierzchni liści uzyskał rzepak jary pochodzący z kultur *in vitro* w fazie kwitnienia ( $940,7 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ) w porównaniu do fazy rozwoju liści ( $427,6 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ). Według Alvarez i in. 2016 wartość SLA jest mniejsza w fazie dojrzałości fizjologicznej niż

w fazie kwitnienia ryżu. Wskazuje to, że rośliny wytwarzają większą powierzchnię liści w fazie kwitnienia. Również w badaniach Singh i in. (2018b) uzyskano różnice wielkości parametru SLA od fazy rozwoju roślin *Brassica*. Jednak badacze wskazali, że największą wartość specyficzną powierzchni miały liście *Brassica* w 40 dniu od momentu wysiewu nasion a pozostałe – późniejsze fazy rozwoju (60, 80, 100 i 120 dni) cechowały się mniejszymi wartościami SLA. Natomiast wyniki otrzymane przez Aguiar Neto i in. (2000) w ziemniaku, Silva i in. (2005) w trzcinie cukrowej i Falqueto i in. (2009) w ryżu pokazują, że zmniejszenie SLA wynika z przenoszenia asymilatów z liści do innych części roślin, takich jak łodygi. Wykorzystując w badaniach nanocząstki żelaza zaobserwowano ich istotny wpływ na wartość parametru SLA w fazie kwitnienia rzepaku jarego. Najwyższe wartości specyficzną powierzchni liści uzyskano po zastosowaniu w kulturach *in vitro* 50 ppm nanoFe. Ponadto zastosowanie 25 oraz 100 ppm nanożelaza wpłynęło na wzrost parametru SLA w fazie rozwoju liści oraz kwitnienia eksplantatów rzepaku jarego. Uzyskane wyniki są zgodne z badaniami autorów (Wang i in., 2020a; Bsoul i in., 2023), którzy również uzyskali wzrost parametru SLA po zastosowaniu nanocząstek. Jednak badacze stosowali nanocząstki srebra i prowadzili badania z pszenicą (Wang i in., 2020a) oraz szpinakiem (Bsoul i in., 2023). Również w badaniach innych autorów uzyskano wzrost wartości specyficzną powierzchni liści po zastosowaniu nanocząstek: S-nitrozo-MSA o 31,4% (Lopes-Oliveira i in., 2019) oraz tlenku ceru o 18,6% (Lizzi i in., 2021). Wysokie wartości SLA są ściśle związane z większą efektywnością pozyskiwania i wykorzystania dostępnych składników roślin oraz mniejszą efektywnością wzrostu i rozwoju liści. Natomiast rozmiar, kształt liści oraz zawartość chlorofilu i azotu w liściach to ich podstawowe cechy funkcjonalne, które są silnie skorelowane ze strategią wykorzystania zasobów roślin (Wang i Zhang, 2012; Wang i in., 2016; 2017a; b).

Wskaźnikiem służącym do analizy produktywności roślin jest współczynnik powierzchni liści LAR. Parametr LAR określa wielkość powierzchni liści, jaką roślina ekspozuje na jednostkę całkowitej masy rośliny. Zatem zależy od proporcji biomasy przydzielonej liściom w stosunku do całkowitej masy rośliny (Ahmadi i in. 2014, Singh i in., 2017; Shibuya i in., 2018). Współczynnik powierzchni liści (LAR) jest dobrym miernikiem wychwytywania promieniowania słonecznego podczas wzrostu (Ahmadi i in., 2014). Dane dotyczące wskaźnika powierzchni liści (LAR), czyli stosunku powierzchni liści do całkowitej masy roślin dla różnych okresów ich wzrostu wskazują na dwukrotnie wyższe wartości parametru w późniejszej fazie rozwoju eksplantatów rzepaku jarego. W fazie rozwoju liści rzepaku jarego z kultur *in vitro* parametr LAR wynosił średnio  $219,1 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , a w fazie kwitnienia aż  $458,7 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Jednak w badaniach Gul i in. (2016) uzyskano obniżenie wskaźnika powierzchni liści w późniejszej fazie rozwoju rzepaku, na ogół niezależnie od odmiany. Również zmniejszenie wskaźnika LAR dla liści rzepaku w późniejszych fazach rozwoju uzyskali Akhter i in. (2013) i Singh i in. (2018b). W ich badaniach obniżenie parametru powierzchni liści miało miejsce każdorazowo do wzrostu rzepaku i niezależnie od terminu siewu. Ponadto w badaniach nad ryżem (Alvarez i in., 2016) także uzyskano niższy wskaźnik LAR, który mógł wynikać z zamierania starszych liści w późniejszych fazach wzrostu rzepaku. Obniżenie wskaźnika ulistnienia roślin



(LAR) zaobserwowali również Lemaire i in. (2008), którzy stwierdzili, że dla większości gatunków mniejszy parametr LAR może być konsekwencją albo spadku LWR, co z kolei oznacza większą ilość asymilatów odpowiedzialnych za wzrost łodygi i/lub obniżenia wskaźnika SLA (Singh i in., 2018b). Ponieważ parametr LAR jest określany zarówno przez LWR, jak i SLA (Hunt i in., 2002). Ten wzrost LAR jest w dużej mierze determinowany przez zmiany w LWR i często przez zmiany w SLA. Po zastosowaniu w badaniach własnych nanocząstek żelaza nie uzyskano ich istotnego wpływu na wskaźnik powierzchni liści eksplantatów rzepaku jarego. Można jedynie wskazać na tendencję wzrostu parametru LAR po zastosowaniu do pożywki nanoFe w ilości 25 ppm. W badaniach Lizzi i in. (2021) wykazano istotny ( $p = 0,0178^*$ ) wpływ nanocząstek ceru na zwiększenie wskaźnika LAR w dwóch gatunkach roślin o 12,8% (nano CeO<sub>2</sub> 25 nm) i o 40,0% (nano CeO<sub>2</sub> 50 nm) w porównaniu z kontrolą. Znaczenie tego wskaźnika można interpretować jako inwestycję rośliny w biomasę tkanek fotosyntetycznych w celu zwiększenia przechwytywania światła i wiązania węgla. Ponieważ „im więcej roślina inwestuje w powierzchnię liści, tym wyższy całkowity przyrost węgla i szybszy wzrost”. Teoria jest zgodna z uzyskanymi wynikami przez El-Desouky i in. (2021), którzy otrzymali większą powierzchnię liści pomidora po zastosowaniu nanocząstek żelaza. Natomiast w badaniach dotyczących wpływu nanocząstek srebra na wzrost i rozwój szpinaku uzyskano zmniejszenie parametru LAR w liściach po zastosowaniu każdej dawki, chociaż nie wykazano ich istotnego wpływu (Bsoul i in., 2023). Autorzy wskazują, że przyczyną obniżenia wskaźników wzrostu przez nanocząstki srebra było zmniejszenie zawartości chlorofilu w roślinie, głównego składnika odpowiedzialnego za produktywność.

Fizjologicznym parametrem jest wskaźnik asymilacji netto (NAR) i jest on miarą dziennego tempa zmian netto zawartości węgla w całej roślinie (Gul i in., 2016). Ogólnie wskaźnik NAR jest skorelowany z tempem fotosyntezy na jednostkę powierzchni liścia (Ahmadi i in., 2014). Eksplantaty rzepaku jarego w fazie kwitnienia uzyskały parametr NAR (jednostkowa produktywność liści) średnio na poziomie 0,729 g·cm<sup>-2</sup>·d<sup>-1</sup>. Natomiast na ogół w innych badaniach z rzepakiem można zaobserwować zdecydowanie niższe wartości intensywności asymilacji netto. Na przykład w badaniach Akhter i in. (2013) wartości NAR liści rzepaku wynosiły średnio dla lat badań 0,0027 g·cm<sup>-2</sup>·d<sup>-1</sup>, co wynika z innego zakresu czasu wykorzystywanego do wyliczenia wskaźnika asymilacji netto. Ponadto autorzy zwrócili uwagę, że najwyższy NAR otrzymali w fazie kwitnienia rzepaku, natomiast tempo wzrostu wskaźnika intensywności asymilacji netto w początkowych etapach wzrostu i rozwoju rzepaku jest bardzo powolne. Badacze Guha i in. (2021) wskazali, że wskaźnik NAR zależy od zawartości suchej masy i powierzchni liści rośliny co wskazuje na efektywność fotosyntezy netto rośliny w wychwytywaniu światła, asymilacji CO<sub>2</sub> i magazynowaniu fotoasymilatów. W badaniach własnych uzyskano wpływ stosowanych nanocząstek żelaza na wielkość intensywności asymilacji netto liści rzepaku jarego wyprodukowanego w kulturach *in vitro*. Największą wartość parametru NAR uzyskały liście eksplantatów rzepaku jarego po zastosowaniu do pożywek 500 ppm nanoFe. Również w badaniach tych samych autorów uzyskano wzrost wartości wskaźnika NAR po zastosowaniu nanocząstek żelaza. Dotyczyło to liści ryżu, ale większy parametr NAR

otrzymano dla każdego zastosowanego stężenia nanoFe oraz w każdym momencie wykonywania pomiaru tj. fazie rozwoju roślin. Badacze Guha i in. (2021) wskazują, że parametry wzrostu roślin są wyższe w fazach krzewienia i wydłużania pędów, ale ulegają obniżeniu w okresie dojrzałości, ponieważ tempo ekspansji powierzchni liści generalnie zmniejsza się w tej fazie, jednak uzyskanie wysokich wartości NAR we wszystkich fazach rozwoju roślin odzwierciedla zwiększoną wydajność fotosyntezy. Natomiast w badaniach Bsoul i in. (2023) uzyskano zmniejszenie wartości wskaźnika asymilacji netto liści szpinaku po zastosowaniu nanocząstek srebra ale fazie wegetatywnego rozwoju rośliny, co może być spowodowane toksycznym wpływem srebra. Również uzyskano niejednoznaczny wpływ nanocząstek cynku i seleniu na NAR w ryżu (Adhikary i in., 2022). Wiadomo jednak, że na fotosyntezę roślin, a więc NAR, duży wpływ mają również inne czynniki, takie jak promieniowanie, temperatura, dostępność składników odżywczych (Ahmadi i in., 2014). Jednak jak podają Peña-Olmos i in. (2014) po zastosowaniu dużych dawek żelaza ulega obniżeniu wskaźnik asymilacji netto roślin

Wariant wzrostu pojedynczej rośliny oparty jest na względnej szybkości wzrostu RGR (ang. Relative Growth Rate) jako iloczyn jednostkowej produktywności liści (ang. Net Assimilation Rate) i frakcji organów asymilacyjnych w masie całej rośliny (ang. Leaf Area Ratio) (Hunt i in., 2002). W warunkach polowych bardzo często taką analizę przeprowadza się w oparciu o badania wzrostu części nadziemnych (Diepenbrock, 2000; Jankowski i Budzyński 2007). W badaniach własnych wskaźnik względnej szybkości wzrostu (RGR) wyniósł  $0,042 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Wartość RGR rzepaku jest typowa dla danych literaturowych, biorąc pod uwagę moment wykonywania pomiarów (Jankowski i Budzyński, 2007). Zaobserwowano różnice we względnym tempie wzrostu rzepaku, na które wpływ miały nanocząstki żelaza. Uzyskano niejednoznaczny wpływ nanocząstek żelaza na względną szybkość wzrostu rzepaku. Również w badaniach Bsoul i in. (2023) po zastosowaniu nanocząstek srebra uzyskano zarówno obniżenie oraz wzrost parametru RGR po zastosowaniu nanocząstek ale dotyczyło to szpinaku oraz stosowania nano srebra. Na ogół stosowanie nanoFe zmniejszyło wielkość parametru RGR rzepaku. RGR jest złożonym parametrem określanym przez szereg składowych fizjologicznych, morfologicznych i alokacji biomasy. Ponadto niektórzy badacze donoszą, że na tempo wzrostu upraw bezpośredni wpływ ma powierzchnia fotosyntetyczna roślin (Bhatt, 1995; Habibzadeh i in., 2006). Natomiast zastosowanie 100 ppm nanocząstek żelaza zwiększyło wartość względnej intensywności wzrostu. Jest to zgodne z badaniami autorów (Mahto i in., 2022), którzy uzyskali wzrost parametru RGR po zastosowaniu każdej dawki nanocząstek żelaza. Według Valadkhan i in. (2015) nanoFe (rozmiar  $<100 \text{ nm}$ ) zwiększa wydajność ciecierzycy do 65%, ponieważ żelazo jest składnikiem ferredoksyny i systemu transportu elektronów chloroplastu, który korzystnie wspomaga proces fotosyntezy a efektem było zwiększenie zawartości suchej masy. Wskaźnik RGR reprezentuje stopień, w jakim roślina wspiera fotosyntezę w bieżący wzrost i zwiększa swoją wydajność dla przyszłej fotosyntezy (Fitter i Hay, 2012). Przyjmuje się, że zwiększony LAR zwiększa RGR, a tym samym potencjał konkurencyjny (Peltzer i Köchy, 2001). Ze względu na wysoki RGR roślina szybko powiększa się i jest w stanie zająć dużą przestrzeń, zarówno pod, jak i nad ziemią. Wysoki RGR może również ułatwiać szybkie zakończenie cyklu życiowego rośliny (Singh i in., 2017).

#### **5.4. Cechy biometryczne oraz jakościowe części nadziemnych roślin rzepaku**

Wielkość parametrów morfologicznych liści rzepaku zależy przede wszystkim od zaawansowania wzrostu i rozwoju roślin rzepaku (fazy rozwojowej) oraz warunków siedliskowych w których prowadzona była uprawa. Wzrost i rozwój liści rzepaku jest ściśle związany z jego biomasą i intensywnością procesu fotosyntezy (Pérez-Pérez i in., 2010). Badanie cech liści jest istotne dla poprawy produkcji rzepaku i optymalizacji zarządzania uprawami (Cope i in., 2012). Powierzchnia liści jest głównym parametrem biorącym udział w przechwytywaniu promieniowania słonecznego, fotosyntezie, ewapotranspiracji i innych procesach roślinnych oraz ma wpływ na wielkość plonu nasion (Kirkegaard i in., 2012). Dokładne oszacowanie powierzchni liści ma ogromne znaczenie w zrozumieniu reakcji środowiska i zarządzania uprawami, zwłaszcza w przypadku rzepaku, ponieważ roślina przenosi część funkcji liścia na łuszczyzny w początkowym okresie reprodukcyjnym (Fochesatto i in. 2016). Analizując wyniki biometrii eksplantatów rzepaku jarego uzyskano powierzchnię liści na niskim poziomie. Wynika to z terminu, w którym wykonano pomiar powierzchni liści - faza rozwoju liści rzepaku. Cechy poszczególnych cech liści rzepaku wskazują na okres wegetacji rzepaku (Müller-Linow i in., 2015). Natomiast według Gigova i in. (2013) oraz Hunková i in. (2011) powierzchnia liści rzepaku zależy od fazy rozwoju a największa jest w momencie kwitnienia. Również w badaniach własnych uprawiając rzepak jary w perlicie uzyskano największą powierzchnię liści rzepaku w fazie kwitnienia. Należy jeszcze podkreślić, że w fazie kwitnienia liście najmłodsze cechowały się zdecydowanie największymi wartościami cech biometrycznych w porównaniu do liści starszych. W badaniach prowadzonych przez Dellerio i in. (2021) analiza powierzchni liści rzepaku w fazie wegetatywnej pozwoliła wyróżnić cztery szeregi liści, które wykazywały wyraźne zróżnicowanie fizjologiczne w poszczególnych stadiach fenologicznych. Autorzy wykazali również, że liście najmłodsze cechowały się najmniejszą powierzchnią natomiast w pełni rozwinięte i dojrzałe miały największe rozmiary. Ren i in. (2022) zwracają jednak uwagę na skrócenie czasu wzrostu wegetatywnego i reprodukcyjnego rzepaku, który może skutkować niewystarczającym wzrostem liści z powodu mniejszej ilości zgromadzonej w nich suchej masy.

W fazie rozwoju pąków kwiatowych liści najmłodszych rzepaku jarego, uprawianego w perlicie oraz liści najstarszych rzepaku ozimego uprawianego w ziemi ogrodniczo-uprawnej, uzyskano istotne zwiększenie zawartości suchej masy po zastosowaniu nanocząstek żelaza. W badaniach przeprowadzonych przez Ren i in. (2022) uzyskano jednak tendencję spadkową zawartości suchej masy liści rzepaku od fazy początkowego kwitnienia do dojrzewania roślin. Autorzy Ren i in. (2022) wskazują, że zawartość suchej masy w liściach zależy od terminu siewu rzepaku, ponieważ wzrost liści rzepaku została zahamowana, jeżeli nasiona zostały zbyt późno wysiane. Spadek wielkości plonu wynikający z terminu siewu, rozwoju liści i stanu fizjologicznego roślin był w dużym zakresie badany (Kirby i in., 1982; Uddin i in., 2018). Na przykład stwierdzono, że tempo pojawiania się liści zwiększa, a ich rozmiar zmniejsza wraz z późnym terminem siewu

jęczmienia (Kirby i in., 1982). Natomiast Sindelar i in. (2010) uzyskali zmniejszenie powierzchni liści, które było związane z mniejszym plonem kukurydzy a wynikało z późnego terminu siewu. Ponadto oceniano związek między stanem fizjologicznym liści a zmianą wielkości plonu w różnych terminach siewu (De Bruin i in., 2010). Uzyskanie wysokiej koncentracji suchej masy nadziemnej roślin jest niezbędnym warunkiem uzyskania dużego wzrostu reprodukcyjnego i większego plonu nasion rzepaku (Faraji i in., 2009). Wyniki uzyskane przez Dellerio i in. (2021) wskazują, że zawartość świeżej masy w liściach najmłodszych i najstarszych w fazie wegetatywnej rzepaku jest najmniejsza. Natomiast tylko liście w pełni rozwinięte cechują się największą koncentracją świeżej masy. Również w badaniach własnych pozostałe cechy biometryczne liści rzepaku jarego uprawianego w perlicie wykazały większe wartości po zastosowaniu nanożelaza. Najefektywniejszą dawką okazało się zastosowanie 10 ppm nanoFe. Według Sheykhabaglou i in. (2010) aplikacja nanotlenku żelaza w stężeniu 750 ppm spowodowała wzrost suchej masy roślin soi w warunkach stresu suszy. Vaghar i in. (2020) podali, że połączenie aplikacji dolistnych Fe i Zn zwiększa zawartość suchej masy odpowiednio o 20,9 i 20,3%. Według Benzona i in. (2015) nanonawozy są zawsze korzystne dla roślin, ponieważ albo dostarczają składników odżywczych, albo odgrywają aktywną rolę w transporcie lub absorpcji dostępnych składników odżywczych, poprawiając w ten sposób tempo wzrostu roślin. Nanonawozy mogą precyzyjnie uwalniać swoje aktywne składniki w odpowiedzi na czynniki środowiskowe i wymagania biologiczne. Gholinezhad (2017) zaobserwował, że nawóz zawierający nanoFe zwiększał plon suchej biomasy o około 20% w porównaniu z kontrolą (bez nawozu). W szczególności zastosowanie nanonawozu Fe może przyspieszyć wzrost roślin, ponieważ małe i dobrze rozpuszczalne związki są na ogół szybko wchłaniane przez rośliny, co łagodzi niedobory pokarmowe i potrzeby roślin (Mohamadipoor i in., 2013). Ponadto dostępność makro- i mikroelementów w nanonawozach Fe może odpowiadać za ich wzrostowe działanie. Na procesy, w tym na rozwój liści, przenoszenie składników odżywczych z liści oraz opadanie liści, wpływa wiele praktyk agrotechnicznych, takich jak stosowanie nawożenia azotem czy opóźniony termin siewu (Pan i in., 2011; Ren i in., 2022). Główna funkcja liści podczas rozwoju rzepaku jest podobna do innych roślin uprawnych. Jednak w przeciwieństwie do innych roślin uprawnych, takich jak ryż i pszenica, liście rzepaku można podzielić na trzy rodzaje, którymi są długie ogonki liściowe w fazie młodych siewek, krótkie liście ogonków liściowych lub liście rozety w fazie późnej siewki do rozwoju pąków kwiatowych i siedzące liście u podstawy każdego rozgałęzienia gałęzi podczas wydłużania łodygi i fazy kwitnienia (Lancashire i in., 1991). Cechy morfologiczne oraz elementy struktury plonu rzepaku mogą również zmieniać się pod wpływem stosowania nawożenia makro i mikroelementami (Pan i in., 2011; Bouchet i in., 2016; Jankowski i in., 2019). W badaniach własnych stwierdzono istotny wzrost cech morfologicznych liści pod wpływem zwiększonych dawek nanożelaza. Obecne badania wykazały, że maksymalne wartości pomiarów wzrostu wegetatywnego, w tym powierzchni liści oraz zawartości suchej masy: liści i pędu głównego, zaobserwowano w roślinach traktowanych nano cząstkami a następnie żelazem chelatowym w porównaniu z roślinami nienawożonymi. Najlepszą dawką nanożelaza zastosowaną

w kulturach *in vitro* okazała się aplikacja 50 ppm. Również uzyskane wyniki przez Mahmoud i in. (2022a) wykazały, że zastosowanie żelaza w kulturach *in vitro* zwiększyło powierzchnię liści roślin bobu. Opryskiwanie dolistne nanoFe i chelatami żelaza w dawkach  $100 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  zwiększyło rozmiar liści bobu odpowiednio o 38,8%, 18,3%. W badaniu dotyczącym wpływu aplikacji dolistnej cynku Pour i in. (2016) wykazali, że po zastosowaniu  $1,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  nano-chelatu Zn otrzymano największy rozmiar liści bazylii w początkowej fazie kwitnienia. Również badania przeprowadzone przez Vattani i in. (2021) wykazały, że największe wartości cech liści pietruszki (powierzchnia, długość, szerokość, zawartość świeżej masy) uzyskano po dolistnym zastosowaniu  $1,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  nanocynku, a najmniejsze w obiektach kontrolnych. Również w badaniach Guha i in. (2021) wykazano, że nanokondycjonowane sadzonek ryżu otrzymano większą biomasę i powierzchnię liści. Podobny wynik uzyskano po zaprawianiu nasion szpinaku nanocząstkami Fe, gdzie zaobserwowano wzrost biomasy roślin i powierzchni liści po zaprawieniu nasion (Srivastava i in., 2014). Powierzchnia asymilacyjna liści ma wpływ na wydajność fotosyntezy i produkcję suchej masy roślin (Aldesuquy, 2000). Według autorów Elfeky i in. (2013) na wydajność wzrostu roślin wpływ ma sposób aplikacji nanomateriałem. Stwierdzili, że dolistna aplikacja nanoFe może znacznie zwiększyć całkowity poziom chlorofilu, węglowodanów ogółem, olejków eterycznych, zawartość żelaza, wysokość roślin, liczbę rozgałęzień, wielkość liści, zawartość suchej masy roślin bazylii w porównaniu z aplikacją doglebową. Poprawa parametrów wzrostu wegetatywnego roślin może wynikać ze zwiększenia zawartości chlorofilu, szybkości fotosyntezy i pobierania składników odżywczych, a dzięki temu ulega znacznemu zwiększeniu akumulacja polisacharydów i materii organicznej w różnych organach roślin (Mahmoud i in., 2022a).

Żelazo (Fe) jest jednym z najistotniejszych mikroelementów, mającym istotny wpływ na zdrowotność roślin, jakość plonu oraz wytwarzanie produktów ubocznych w wielu uprawach (Prasad i in., 2014b). Ze względu na fakt, że Fe jest niezbędny do różnych funkcji fizjologicznych, w tym do produkcji DNA, oddychania, fotosyntezy i białka jest niezbędnym mikroelementem roślin. W obecnych badaniach zawartość żelaza w ekstrakcie rzepaku jarego kształtowała się w zależności od analizowanego organu roślin. Największą średnią zawartością żelaza cechowały się korzenie – 907 ppm s. m., a najmniejszą koncentrację wykazały się łodygi – 96 ppm s. m. Większą zawartością Fe w porównaniu do łodyg wykazywały się liście rzepaku hodowane *in vitro* (średnio 171 ppm s. m.). Natomiast uprawa rzepaku jarego w perlicie wykazała ogólnie mniejszą koncentrację Fe w liściach (średnio 113 ppm s. m.). Wyniki uzyskane przez Chakraborty i in. (2016) wskazują, że zawartość żelaza w rzepaku zależy nie tylko od genotypu ale i stresu abiotycznego roślin. Badacze uzyskali koncentrację badanego mikroskładnika w liściach na poziomie 45 – 137 ppm s. m., natomiast w łodydze od 30-76 ppm s. m. co oznacza nieznacznie mniejszą koncentrację Fe niż w badaniach własnych. Należy podkreślić, że etap rozwoju rośliny również wpływa na dystrybucję żelaza między różnymi narządami, bowiem wiadomo, że żelazo jest transportowane do rozwijających się nasion nie tylko z korzenia, ale także z liści lub owoców, co prawdopodobnie prowadzi do stopniowego zmniejszania się Fe w liściach lub owocach wraz ze wzrostem koncentracji Fe

w nasionach (Grusak, 1995; Morrissey i Guerinot, 2009; Ancuceanu i in., 2015). Jednak Chakraborty i in. (2016) zaobserwowali istotne zmniejszenie zawartości Fe w liściach i łodydze we wszystkich odmianach rzepaku. Uzyskano większe obniżenie zawartości żelaza w liściach w fazie kwitnienia niż w fazie po kwitnieniu. W fazie kwitnienia wszystkie odmiany rzepaku miały znacznie mniejsze zawartości żelaza z maksymalnym spadkiem do 54%, wynikającym z wpływu warunków stresowych. Również mutacje mogą wpływać na homeostazę żelaza u roślin i wykazano, że w podłożu o normalnej zawartości żelaza u roślin może wystąpić niedobór lub toksyczność Fe, w zależności od celów mutacji (Kim i Guerinot, 2007). Minerale towarzyszące Fe w podłożu mogą mieć wpływ na dystrybucję żelaza w roślinach, na co wskazuje wpływ Co u *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek (fasola mung) czy Cd u *Brassica napus* L. (rzepak). Co nie hamowało pobierania żelaza przez korzenie, ale zmniejszało stężenie żelaza w liściach o około 80% (Liu i in., 2000). Podobnie Cd nie wpływa na akumulację żelaza w korzeniach rzepaku, ale powoduje spadek stężenia żelaza w liściach (a także w łyku i ksylemie) (Mendoza-Cózatl i in., 2008). Ekspresja białek biorących udział w pobieraniu żelaza (enzymy biorące udział w redukcji żelaza u gatunków innych niż zboża, białka biorące udział w wydzielaniu i regulacji fitozyderoforów u traw, chelatory lub białka zaangażowane w transport Fe na duże odległości) mogą również zmieniać się w różnych warunkach stresu środowiskowego (Morrissey i Guerinot, 2009). Generalnie w doświadczeniu własnym, wykazano korzystny wpływ zastosowanych dawek nanocząstek żelaza na koncentrację Fe w rzepaku jarym. Ponieważ nanonawozy mają inteligentny system dostarczania składników pokarmowych roślinom, minimalizują utratę tych składników oraz zwiększają pobieranie ich przez komórki roślinne (Zulfiqar i in., 2019). Lee i in. (2008) badali pobieranie i translokację nanocząstek w fasoli mung i pszenicy i stwierdzili, że nanocząstki mogą przenikać przez błonę komórkową i gromadzić się w komórce. W innym badaniu porównawczym dotyczącym pobierania nanocząstek Ce przez *Arabidopsis* stwierdzono, że Ce wykryty w korzeniach i pędach *Arabidopsis* eksponowanych na nanoCe było wyższe niż w tych poddanych aplikacji konwencjonalnej (Shukla i in., 2016). Największą zawartością żelaza w obecnym doświadczeniu cechowały się nie tylko całe eksplantaty rzepaku jarego ale wszystkie analizowane organy roślin po zastosowaniu nanoFe w dawce 500 ppm. Ponadto w roślinach uprawianych w perlicie największą koncentracją żelaza cechują się liście po zastosowaniu 5 ppm nanocząstek a w ziemi ogrodniczo-uprawnej niezależnie od wieku liści rzepaku jarego i ozimego po aplikacji 10 ppm nanoFe. Jednak należy zwrócić uwagę, że uzyskano większą zawartość żelaza w liściach najmłodszych rzepaku jarego i ozimego prowadząc uprawę w ziemi ogrodniczo-uprawnej. Wyniki były zgodne z ustaleniami Abdulhameed i in. (2021) oraz El-Gioushy i in. (2021) ponieważ badacze uzyskali istotnie wyższą zawartość Fe odpowiednio w liściach kapusty i w nasionach bobu po dolistnym zastosowaniu nanożelaza niż w przypadku roślin nietraktowanych nanoFe. Również uzyskano wyniki zgodne z doniesieniami Vattani i in. (2012), którzy stwierdzili, że stosowanie nanonawozów zawierających żelazo w dwóch odmianach szpinaku poprawia akumulację żelaza w liściach. Według Mahmuda i in. (2022a) dolistna aplikacja nanocząstkami Fe poprawia ogólną zawartość pierwiastków w tym

żelaza w nasionach bobu. Na podstawie uzyskanych wyników przez tych autorów stwierdzono również, że maksymalne wartości żelaza zaobserwowano po zastosowaniu nanoFe jako oprysku dolistnego, a następnie nawozów w formie chelatu i siarczanu. Dlatego te wyniki sugerują, że zasadne jest stosowanie nanoFe jako uzupełnienie dolistnego nawożenia roślin. Ponadto podobne wyniki otrzymali El-Gioushy i in. (2021), którzy wskazali na maksymalne nagromadzenie Fe i Mg w liściach i owocach drzew pomarańczowych po dolistnym zastosowaniu nanożelaza, a następnie Fe w formie chelatowej i konwencjonalnej ( $\text{FeSO}_4$ ), w porównaniu z kontrolą. W badaniach własnych także uzyskano większą zawartość magnezu w liściach rzepaku jarego uprawianego w perlicie po zastosowaniu nanożelaza (faza rozwoju kwitnienia roślin). Ogólna zawartość magnezu w liściach rzepaku jarego wynosiła średnio 0,63 % s. m. Natomiast w badaniach Wang i in. (2009), koncentracja w liściach w fazie rozwoju liści rzepaku wynosiła średnio 0,16 % s. m., a zgodnie z uzyskanymi wynikami przez Pisa i in. (2020) zawartość Mg w liściach wynosi od 0,14 do 0,17 % s. m., lecz dotyczy to fazy dojrzewania rzepaku. W badaniach własnych najkorzystniejszą dawką nanoFe okazało się zastosowanie 10 ppm oraz żelaza w formie chelatu. Wzrost akumulacji Mg w liściach rzepaku uprawianych w perlicie po zastosowaniu nanocząstek cynku otrzymali Mousavi Kouhi i in. (2020). Ta poprawa akumulacji niezbędnych składników odżywczych Mg oraz Fe w liściach roślin może być spowodowana większym wzrostem korzeni roślin rzepaku aplikacją dolistną różnymi źródłami żelaza oraz poprawą wchłaniania składników odżywczych przez roślinę (Vwioko i in., 2019; Hamza i in., 2020). Konate i in. (2018) wykazali, że nanoFe mogą wchodzić w interakcję z roślinami, wytwarzając wolne rodniki OH, które mogą stymulować degradację pektyny w ścianie komórkowej roślin i rozluźniać ścianę komórkową korzenia, aby przyspieszyć ich wzrost. W kukurydzy stosowanie nanoFe w warunkach hydroponicznych znacznie zwiększyło wydłużenie korzeni (Li i in., 2016). Ogólnie rzecz biorąc, wzrost akumulacji Fe w liściach rzepaku traktowanych nanocząstkami żelaza w porównaniu z obiektami można wiązać z właściwościami nanocząstek Fe, które charakteryzują się mniejszą powierzchnią, większą absorpcją i większym przytwierdzeniem do roślin niż inne formy żelaza (Konate i in., 2018; Mahmoud i in., 2022b).

## 5.5. Parametry korzeni roślin rzepaku

Budowa oraz wielkość systemu korzeniowego rzepaku oraz i innych roślin, determinuje ich produktywność (Bengough i in., 2011; Rizwan i in., 2017; Schierholt i in., 2019). Penetracja głębszych warstw profilu glebowego przez rozbudowany system korzeniowy rzepaku, pomaga roślinie w pobieraniu trudno dostępnych makro i mikroelementów, co pozytywnie wpływa na rozwój rośliny (Rizwan i in., 2017; Vazquez-Carrasquer i in., 2021; Schierholt i in., 2019).

Wyniki pomiarów biometrycznych korzeni eksplantatów rzepaku jarego wskazują na różnice cech korzeni wynikające z fazy rozwoju roślin. Zdecydowanie większymi parametrami wykazywały się korzenie rzepaku oceniane w fazie kwitnienia w porównaniu

do fazy rozwoju liści. Podobnie inne badania przeprowadzone w Maroku (Nabloussi i in., 2019) czy w Niemczech (Schierholt i in., 2019) wskazują na uzyskanie większych wartości cech morfologicznych korzeni rzepaku w fazie kwitnienia.

W przeprowadzonych badaniach należy zwrócić uwagę na wpływ stosowania nanocząstek żelaza na cechy korzeni rzepaku. Szczególnie na dawkę 25 ppm nanoFe zastosowaną do pożywek w kulturach *in vitro*, gdyż przyczyniła się ona do uzyskania najkorzystniejszych parametrów cech morfologicznych korzeni (całkowita powierzchnia, całkowita powierzchnia przeliczeniowa, całkowita objętość, średnica) rzepaku jarego w fazie rozwoju liści. Natomiast w fazie kwitnienia rzepaku najkorzystniejsze cechy biometryczne uzyskiwały korzenie po aplikacjach nanoFe do pożywek w ilościach 50 oraz 100 ppm. Również badania przeprowadzone przez Yang i in. (2020) wskazują, że zarówno dolistne jak i doglebowe zastosowanie nanocząstek żelaza spowodowało istotny wzrost wskaźników morfologii korzeni, takich jak długość, powierzchnia oraz objętość korzeni soi, w porównaniu z grupą kontrolną. Podobne wyniki uzyskali autorzy El-Desouky, i in. (2021), których wyniki wskazują na wzrost parametrów korzeni pomidora po zastosowaniu nanocząstek żelaza. W badaniach prowadzonych na siewkach kukurydzy uzyskano zwiększenie długości, średnicy, powierzchni i objętości korzeni po zastosowaniu nanocząstek węgla i krzemu (Hao i in. 2023). Stosowanie nanocząstek sprzyja wzrostowi roślin ponieważ wykazują się ujemnym ładunkiem na powierzchni i małym rozmiarem cząstek. Nanomateriały mają takie same działanie regulacyjne jak hormony roślinne, które może sprzyjać wydłużaniu korzeni i wzrostowi sadzonek oraz pomagać sadzonkom w adaptacji do środowiska (Collins i in., 2012). Dodatkowo może to być również związane z silnym działaniem przeciwbakteryjnym nanomateriałów. Niektóre badania wykazały, że działanie przeciwbakteryjne nanomateriałów jest istotnym powodem korzystnego wzrostu roślin (Mura i in., 2015). Także wyniki otrzymane przez Jankowskiego i in. (2019) oraz Mir i in. (2023) wskazują, że po aplikacji nawozem zawierającym mikroelementy uzyskano większą powierzchnię, objętość i średnicę korzeni rzepaku. Jednak Mousavi Kouhi i in. (2015) badali anatomiczne i ultrastrukturalne modyfikacje korzeni rzepaku traktowanych nanoZnO (100 mg l<sup>-1</sup>) przez 2 miesiące. Ich wyniki wykazały, że nanocząstki ZnO zmniejszały średnicę wierzchołka korzenia rzepaku. Ponadto nanocząstki ZnO (50 i 500 mg kg<sup>-1</sup> gleby) zmniejszały powierzchnię oraz objętość korzeni soi w porównaniu z kontrolą (Yoon i in., 2014). Natomiast Nagaonkar i in. (2015) zaobserwowali stopniowy spadek indeksu mitotycznego i upośledzone etapy podziałów komórkowych w wierzchołkach korzeni cebuli traktowanej nanoCuO (40 do 100 mg L<sup>-1</sup>). Jedynie w badaniach własnych długość korzeni eksplantatów rzepaku jarego w fazie rozwoju liści uległa obniżeniu po zastosowaniu nanocząstek żelaza. Natomiast w badaniach Larue i in. (2012) długość korzeni rzepaku zwiększyła się po zastosowaniu TiO<sub>2</sub> niezależnie od wielkości nanocząstek oraz dawki. W badaniach własnych najmniej korzystną dawką okazało się zastosowanie nanoFe w dawce 500 ppm, gdyż uzyskano znaczne aż 68,6% obniżenie długości korzenia. W innych badaniach zaobserwowano, że nanocząstki wykazują zróżnicowaną zdolność penetracji przy najwyższym stężeniu. Zróżnicowana wielkość nanocząstek w różnych badaniach wskazuje na zależność między wielkością



a działaniem fitotoksycznym. Zwykle nanocząstki o mniejszych rozmiarach są bardziej destrukcyjne i hamują wzrost roślin niż te o większych rozmiarach (Yin i in., 2012; Jiang i in., 2014; Cvjetko i in., 2017). Jak donosi Qian i in. (2013) wraz ze wzrostem stężenia nanoAg w roślinach *Arabidopsis thaliana* odnotowano spadek długości korzenia. Jednak w badaniach własnych w fazie kwitnienia eksplantatów rzepaku jarego nie uzyskano istotnego wpływu stosowania nanocząstek żelaza a jedynie tendencje do obniżenia długości korzenia po zastosowaniu każdej z zastosowanych dawek nanoFe. Także w badaniach Rizwan i in. (2017), Yan i Chen (2019) oraz Tomaszewska-Sowa i in. (2022) długość oraz masa korzeni rzepaku i innych roślin uległy zmniejszeniu po zastosowaniu nanocząstek srebra, złota i cynku. Tomaszewska-Sowa i in. (2022) wskazują, że najkrótsze korzenie o najmniejszej zawartości suchej masy zaobserwowano po aplikacji nanoAu w dawce 100 ppm. Kilka innych badań wykazało, że nanocząstki zmniejszają indeks mitotyczny i upośledzają etapy podziałów komórkowych w wierzchołkach korzeni wielu roślin i zmieniają ekspresję genów związanych ze wzrostem korzeni (Rizwan i in., 2017). Nanocząstki są nie tylko bezpośrednio toksyczne dla roślin, ale także powodują toksyczność pośrednią, zmieniając podłoże wzrostu, uszkadzając korzenie, zmieniając skład bakterii w glebie i powodując pobieranie zanieczyszczeń przez rośliny (Rizwan i in., 2017). Natomiast w badaniach własnych w fazie kwitnienia rzepaku korzenie charakteryzowały się zwiększeniem suchej masy po zastosowaniu nanocząstek żelaza a największą zawartość tego parametru uzyskano po aplikacji 50 oraz 100 ppm nanoFe. W badaniach przeprowadzonych przez El-Desouky i in. (2021), uzyskano wzrost zawartości suchej masy korzeni pomidora po zastosowaniu nanocząstek żelaza. Autorzy (Tomaszewska-Sowa i in., 2022) uzyskali jednak spadek masy korzeni w porównaniu z kontrolą po aplikacji 100 ppm nanoAu, a zawartość suchej masy korzeni uległa obniżeniu o 25%. Ostatnie badania potwierdziły, że niektóre nanocząstki mogą przedostać się przez okrywą nasienną i wpływać na procesy rozwojowe zarodków, np. poprzez stymulację enzymów biorących udział w procesach metabolicznych. W kiełkujących nasionach na etapie pojawiania się korzeni, tkanki wierzchołka korzenia stykają się z nanocząstkami i przedostają do komórek wzrostowych w korzeniu i dalej mogą przemieszczać się do innych organów rośliny (Rizwan i in., 2017). Wprawdzie uzyskano w badaniach własnych dla pozostałych pomiarów biometrycznych korzeni rzepaku jarego lepsze wartości w odniesieniu do liczby korzonków, liczby rozgałęzień korzeni, liczby skrzyżowanych korzeni po zastosowaniu 100 ppm nanoFe w fazie rozwoju liści to w fazie kwitnienia wyższymi parametrami cechowały się korzenie po aplikacji 25 ppm nanocząstek żelaza. Natomiast u *Brassica rapa* już stężenie 1,0 mg l<sup>-1</sup> nanoAg stymulowało wzrost korzeni, podczas gdy wyższe stężenia wykazywały hamujący wpływ na ten parametr, a korzenie były wyraźnie zdeformowane z przebarwionymi wierzchołkami (Thiruvengadam i in., 2015). Geisler-Lee i in. (2013) odnotowali również, że sadzonki potraktowane nanocząstkami srebra wykazywały krótsze korzenie, z wyraźnie zmienionymi końcówkami o brunatnym zabarwieniu. Zmiany we właściwościach i wyglądzie korzeni mogły wynikać z faktu, że nanocząstki są transportowane drogą apoplastyczną w ścianach komórkowych i gromadzą się w strukturach takich jak plazmodesmy. Pereira i in. (2013) zaobserwowali zmiany

w długości korzeni i liczbie korzeni bocznych w czterech odmianach ryżu, gdy wzrosło stosowanie nanożelaza do pożywki z 4 do 9 mM. Aplikacja Fe spowodowała istotne zmniejszenie jedynie liczby korzeni bocznych u wszystkich odmian ryżu, co może świadczyć o zmniejszeniu mocy utleniającej korzeni. Ponadto Tomaszewska-Sowa i in. (2022) wskazują, że tylko w pierwszych 7 dniach hodowli rzepaku zastosowanie nanoAg w stężeniu 50 ppm zwiększyło długość korzeni o 9%. Długość korzeni podkreśla udział drobnych korzeni, które mogą stanowić do 85% całkowitej długości korzeni *B. napus* (Liu i in., 2010). Ten parametr najlepiej odzwierciedla zdolność korzeni do eksploracji gleby i pozyskiwania zasobów, a najmniejszy wpływ ma rozmiar korzenia palowego. Proporcjonalnie duża masa korzenia palowego, jego stosunkowo niski udział w pozyskiwaniu zasobów i duża zmienność między roślinami może prowadzić do jego dużego zróżnicowania (Gentile i in., 2003). Może to mieć wpływ na słabszą zależność między powierzchnią korzeni a plonem nasion oraz prawie całkowitym brakiem zależności między suchą masą korzeni a plonem nasion rzepaku, zwłaszcza w późniejszych fazach rozwojowych. Również najwyższą długość, średnicę oraz zawartość suchej masy korzeni rzepy (*Brassica rapa*) uzyskano po zastosowaniu nanocząstek  $\text{TiO}_2$  w dawce  $2 \text{ mg l}^{-1}$  (Elsaggan i Shokry, 2019). Pozytywny efekt aplikacji nanocząstek może wynikać z tego, że zwiększają one aktywność fotosyntetyczną roślin i wspomagają metabolizm wzrostu upraw. Wyniki są zgodne z wynikami badań, które wykazały, że nanocząstki mogą promować fotosyntezę i metabolizm azotu, a następnie znacznie poprawiać wzrost i wydajność roślin (Hong i in., 2005; Zheng i in., 2005; Yang i in., 2007).

## 6. WNIOSKI

1. Natężenie procesów wymiany gazowej zależało od fazy rozwojowej rzepaku jarego oraz od dawki nanocząstek żelaza niezależnie od rodzaju podłoża, w którym uprawiano rośliny. Najwyższą aktywność fizjologiczną rzepaku jarego uprawianego w perlicie uzyskano w fazie rozwoju liści. Największą intensywność parametrów fotosyntezy (asymilacja CO<sub>2</sub>, transpiracja oraz przewodność aparatów szparkowych) uzyskano po zastosowaniu 25 ppm nanocząstek żelaza w początkowych fazach rozwojowych eksplantatów rzepaku jarego. Istotnie największe obniżenie intensywności fotosyntezy netto oraz transpiracji rzepaku jarego pochodzącego z kultur *in vitro* miało miejsce po aplikacji do podłoża 500 ppm nanoFe.
2. Rośliny uprawiane w ziemi ogrodniczo-uprawnej wskazują na wzrost parametrów wykorzystania wody w późniejszych fazach rozwoju rzepaku jarego i ozimego. Każda z zastosowanych dawek nanoFe spowodowała wzrost badanych parametrów rzepaku jarego uprawianego w ziemi ogrodniczo-uprawnej. Natomiast eksplantaty rzepaku wykazały gwałtowny wzrost o 25% wskaźnika fotosyntezy WUEI od fazy BBCH 51 przy dawce nanoFe 50 ppm.
3. Rośliny uprawiane w perlicie oraz w ziemi ogrodniczo-uprawnej w początkowym okresie wzrostu niezależnie od stosowania nanocząstek żelaza miały najmniejsze wskaźniki fluorescencji początkowej i największe fluorescencji maksymalnej, co korzystnie wpływa na proces fotosyntezy.
4. Zwiększanie aplikacji nalistnej nanożelaza na rośliny uprawiane w perlicie oraz ziemi ogrodniczo-uprawnej wpłynęło korzystnie na obniżenie fluorescencji minimalnej chlorofilu a, w każdej fazie rozwoju rzepaku jarego w liściach najmłodszych. Stosowanie nanoFe w ilości 10 ppm korzystnie wpłynęło na rośliny rzepaku jarego uprawiane w perlicie i ziemi ogrodniczo-uprawnej dla liści najmłodszych oraz w początkowej fazie rozwoju roślin w liściach najstarszych, gdzie uzyskano najwyższe wartości maksymalnej wydajności fotoukładu PSII wskazujące na złagodzenie stresu u roślin (wartości powyżej 0,800).
5. Po zastosowaniu nanoFe w zakresie dawek 50-500 ppm w kulturach *in vitro* z roślinami rzepaku jarego otrzymano w późniejszych fazach rozwojowych (BBCH 41) istotny wzrost wskaźnika F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>. Wartość maksymalnej wydajności fotoukładu PSII wynosiła powyżej 0,850. Również, po zastosowaniu do pożywek największych dawek nanocząstek żelaza (100 i 500 ppm) uzyskano maksymalne zawartości chlorofilu a (odpowiednio: 45,2 i 38,0 CCI) w liściach rzepaku jarego.
6. W kulturach *in vitro* parametry wzrostu rzepaku jarego zależały nie tylko od fazy rozwoju eksplantatów, ale także od zastosowanych dawek nanocząstek żelaza. Najwyższe wartości SLA, NAR i RGR uzyskano po zastosowaniu w kulturach *in vitro* odpowiednio: 50, 500 i 100 ppm nanoFe.
7. Wielkość parametrów morfologicznych liści rzepaku zależała zarówno od fazy rozwojowej roślin oraz od podłoża, w którym prowadzono hodowlę rzepaku jarego.

Maksymalne wartości pomiarów wzrostu wegetatywnego, w tym powierzchni liści oraz zawartości suchej masy: liści i pędu głównego, zaobserwowano w roślinach traktowanych nanoFe a następnie żelazem chelatowym. Najlepszą dawką nanożelaza zastosowaną w kulturach *in vitro* okazała się aplikacja 50 ppm.

8. Większą średnio o 75,2 mg·kg<sup>-1</sup> s. m. zawartością Fe w porównaniu do łodyg wykazywały się liście rzepaku jarego pochodzące z hodowli *in vitro*. Natomiast uprawa rzepaku jarego w perlicie wykazała ogólnie mniejszą koncentrację Fe w liściach. Ponadto, największą zawartością żelaza cechowały się nie tylko całe eksplantaty rzepaku jarego ale wszystkie analizowane organy roślin po zastosowaniu nanoFe w dawce 500 ppm.
9. W roślinach uprawianych w perlicie największą koncentracją żelaza cechowały się liście po zastosowaniu 5 ppm nanocząstek żelaza, natomiast w ziemi ogrodniczouprawniej niezależnie od wieku liści rzepaku jarego i ozimego po aplikacji 10 ppm nanoFe. Poprawa akumulacji składników mineralnych Mg oraz Fe w liściach roślin wynikała z większego wzrostu korzeni roślin rzepaku po aplikacji nanocząstkami żelaza.
10. Większymi parametrami wykazywały się korzenie rzepaku jarego oceniane w fazie kwitnienia (BBCH 75-62) w porównaniu do fazy rozwoju liści (BBCH 12-15). Najkorzystniejszymi parametrami cech morfologicznych (całkowita powierzchnia, całkowita powierzchnia przeliczeniowa, całkowita objętość, średnica) korzeni rzepaku jarego w fazie rozwoju liści cechowały się rośliny po aplikacji 25 ppm nanoFe. Natomiast w fazie kwitnienia stosując do pożywek nanocząstki żelaza w dawkach 50 oraz 100 ppm.
11. W fazie kwitnienia rzepaku jarego, korzenie charakteryzowały się największym zwiększeniem suchej masy korzeni średnio o 0,031 g po zastosowaniu nanocząstek żelaza w ilości 50 oraz 100 ppm. Ponadto, uzyskano lepsze wartości liczby korzonków, liczby rozgałęzień korzeni, liczby skrzyżowanych korzeni po zastosowaniu 100 ppm nanoFe w fazie rozwoju liści rzepaku jarego a po aplikacji 25 ppm nanocząstek żelaza w fazie kwitnienia. Jednak najmniej korzystną dawką nanoFe okazało się zastosowanie 500 ppm do pożywek, gdyż uzyskano aż 69% obniżenie długości korzenia rzepaku jarego.
12. Najlepszą dawką nanoFe do stosowania w początkowych fazach rozwoju rzepaku jarego w hodowli *in vitro* okazało się 25 ppm. Natomiast do uprawy w późniejszych fazach rozwojowych eksplantatów rzepaku jarego należy rekomendować dawkę 50 ppm nanoFe, ponieważ uzyskano korzystniejsze cechy jakościowe roślin. Jednak rośliny rzepaku jarego uprawiane w perlicie cechowały się najlepszymi parametrami fizjologicznymi, fluorescencji chlorofilu a, zawartością Fe i Mg w liściach oraz wskaźnikami biometrycznymi liści po zastosowaniu nanoFe w dawce 10 ppm. Ponadto po aplikacji nanocząstek Fe w dawce 5 ppm na rośliny uprawiane w ziemi ogrodniczouprawniej uzyskano na ogół korzystny wzrost wszystkich badanych parametrów rzepaku jarego.

## 7. SPIS LITERATURY

1. Aarti D., Tanaka R., Ito H., Tanaka A. (2007), High light inhibits chlorophyll biosynthesis at the level of 5-aminolevulinate synthesis during de-etiolation in cucumber (*Cucumis sativus*) cotyledons. *Photochemistry and Photobiology*, 83(1), 171-176, <https://doi.org/10.1562/2006-03-06-RA-835>.
2. Abdulhameed M.F., Taha A.A., Ismail R.A. (2021), Improvement of cabbage growth and yield by nanofertilizers and nanoparticles. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 15, 100437, <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100437>.
3. Abrahimi F., Taghvaei M., Mastinu A. (2023), Nano-Organic Coatings Improve Early Vigor of *Brassica napus* L. Seeds in Water Deficit. *Agronomy*, 13(2), 390, <https://doi.org/10.3390/agronomy13020390>.
4. Adhikary S., Biswas B., Chakraborty D., Timsina J., Pal S., Chandra Tarafdar J., Banerjee S., Hossain A., Roy S. (2022), Seed priming with selenium and zinc nanoparticles modifies germination, growth, and yield of direct-seeded rice (*Oryza sativa* L.). *Scientific Reports*, 12(1), 7103, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11307-4>.
5. Aggarwal A., Sharma I., Tripathi B.N., Munjal A.K., Baunthiyal M., Sharma V. (2012), Photosynthesis: Overviews on Recent Progress & Future Perspective. *Metal toxicity and photosynthesis*, 229-236.
6. Ahmad G., Jan A., Ullah I., Arif M. (2006), Phenology and physiology of canola as affected by nitrogen and sulfur fertilization. *Journal of Agronomy*, 5(4), 555-562.
7. Ahmadi B., Shirani Rad A.M., Delkhosh B. (2014), Evaluation of plant densities on analysis of growth indices in two canola forage (*Brassica napus* L.). *European J Exp Biol*, 4(2), 286-294.
8. Akhter M.T., Kundu P.B., Paul N.K. (2013), Growth attributes of rapeseed varieties (*Brassica campestris* L.) in relation to sowing dates and weeding treatments. *Journal of Bio-Science*, 21, 51-59, <https://doi.org/10.3329/jbs.v21i0.22519>.
9. Aldesuquy H.S. (2000), Effect of indol-3-yl acetic acid on photosynthetic characteristics of wheat flag leaf during grain filling. *Photosynthetica*, 38, 135-141, <https://doi.org/10.1023/A:1026712428094>.
10. Álvarez-Fernández A., García-Marco S., Lucena J.J. (2005), Evaluation of synthetic iron (III)-chelates (EDDHA/Fe<sup>3+</sup>, EDDHMA/Fe<sup>3+</sup> and the novel EDDHSA/Fe<sup>3+</sup>) to correct iron chlorosis. *European Journal of Agronomy*, 22(2), 119-130, <https://doi.org/10.1016/j.eja.2004.02.001>.
11. Alvarez R.D.C.F., Crusciol C.A.C., Nascente A.S., Rodrigues J.D., Habermann G., Neto V.B.D.P. (2016), Trinexapac-ethyl affects growth and gas exchange of upland rice. *Revista Caatinga*, 29, 320-326, <https://doi.org/10.1590/1983-21252016v29n208rc>.
12. Ancuceanu R., Dinu M., Hovaneț M.V., Anghel A.I., Popescu C.V., Negreș S. (2015), A survey of plant iron content—a semi-systematic review. *Nutrients*, 7(12), 10320-10351, <https://doi.org/10.3390/nu7125535>.

13. Andrews N.C. (2008), Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood*, 112(2), 219-230, <https://doi.org/10.1182/blood-2007-12-077388>.
14. Angelini G., Ragni P., Esposito D., Giardi P., Pompili M. L., Moscardelli R., Giardi M.T. (2001), A device to study the effect of space radiation on photosynthetic organisms. *Physica Medica: PM: an International Journal Devoted to the Applications of Physics to Medicine and Biology: Official Journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB)*, 17, 267-268.
15. Arruda S.C.C., Silva A.L.D., Galazzi R.M., Azevedo R.A., Arruda M.A.Z. (2015), Nanoparticles applied to plant science: a review. *Talanta*, 131, 693-705, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.08.050>.
16. Ayyaz A., Fang R., Ma J., Hannan F., Huang Q., Sun Y., Javed M., Ali S., Zhou W., Farooq M.A. (2022), Calcium nanoparticles (Ca-NPs) improve drought stress tolerance in *Brassica napus* by modulating the photosystem II, nutrient acquisition and antioxidant performance. *NanoImpact*, 28, 100423, <https://doi.org/10.1016/j.impact.2022.100423>.
17. Baligar V.C., Elson M.K., He Z., Li Y., Paiva A.D.Q., Almeida A.A.F., Ahnert D. (2021), Impact of ambient and elevated [CO<sub>2</sub>] in low light levels on growth, physiology and nutrient uptake of tropical perennial legume cover crops. *Plants*, 10(2), 193, <https://doi.org/10.3390/plants10020193>.
18. Balodis O., Gaile Z. (2012), Oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera*) seed yield depending on several agro-ecological factors. *Renewable Energy and Energy Efficiency*, 39-44.
19. Barczak B. (2010), Siarka jako składnik pokarmowy kształtujący wielkość i jakość plonów wybranych roślin uprawnych. *Rozprawy. Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy*, (144).
20. Barczak B., Maciejewski M., Świtkowski, M. (2016), Agrotechnologia uprawy rzepaku ozimego ze szczególnym uwzględnieniem nawożenia, III. Nawożenie rzepaku ozimego w aspekcie wielkości i jakości plonu, 161-173.
21. Bartomeus I., Potts S.G., Steffan-Dewenter I., Vaissiere B.E., Woyciechowski M., Krewenka K.M., Tscheulin T., Roberts S.P.M., Szentgyörgyi H., Westphal C., Bommarco R. (2014), Contribution of insect pollinators to crop yield and quality varies with agricultural intensification. *PeerJ*, 2, e328, <https://doi.org/10.7717/peerj.328>.
22. Bauer P. (2016), Regulation of iron acquisition responses in plant roots by a transcription factor. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 44(5), 438-449, <https://doi.org/10.1002/bmb.20967>.
23. Bengough A.G., McKenzie B.M., Hallett P.D., Valentine T.A. (2011), Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. *Journal of experimental botany*, 62(1), 59-68, <https://doi.org/10.1093/jxb/erq350>.
24. Benzon H.R.L., Rubenecia M.R.U., Ultra Jr V.U., Lee S.C. (2015), Nano-fertilizer affects the growth, development, and chemical properties of rice. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 7(1), 105-117.
25. Bezak-Mazur E., Stoińska R. (2013), Rola fosforu w środowisku – praca przeglądowa. *Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony Środowiska*, 15(3).

26. Blake-Kalff M.M., Zhao F., McGrath S.P. (2003), Sulphur deficiency diagnosis using plant tissue analysis. *Nawozy i Nawożenie*, 5(3 [16]).
27. Blankenship R.E. (2021), *Molecular mechanisms of photosynthesis*. John Wiley & Sons.
28. Bolh  r-Nordenkamp H.R.,   quist G. (1993), Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. *Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual*, 193-206.
29. Bommarco R., Marini L., Vaiss  re B.E. (2012), Insect pollination enhances seed yield, quality, and market value in oilseed rape. *Oecologia*, 169, 1025-1032, <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2271-6>.
30. Bouchet A.S., Laperche A., Bissuel-Belaygue C., Snowdon R., Nesi N., Stahl A. (2016), Nitrogen use efficiency in rapeseed. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 36, 1-20.
31. Briat J.F., Curie C., Gaymard F. (2007), Iron utilization and metabolism in plants. *Current opinion in plant biology*, 10(3), 276-282, <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.003>.
32. Briat J.F., Duc C., Ravet K., Gaymard F. (2010), Ferritins and iron storage in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1800(8), 806-814, <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.12.003>.
33. Bsoul E.Y., Othman S.A., Al-Ghzawi A.L.A., Massadeh M.I. (2023), Effect of Silver Nanoparticles on Growth and Physiological Responses of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) under Salt Stress. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 16(1), 1-6, <https://doi.org/10.54319/jjbs/160101>.
34. Budzy  ski W. (2004), Agrotechniczne uwarunkowania produkcji rzepaku ozimego. *Rzepak*, 6, 26-31.
35. Budzy  ski W. (2010), Kapusta rzepak. W: Ro  liny oleiste  prawa i zastosowanie. Pr. zbior. Red. W. Budzy  ski, T. Zaj  c. Pozna  . PWRiL, 15-107.
36. Budzy  ski W., Zaj  c T. (Eds.). (2010), *Ro  liny oleiste: uprawa i zastosowanie*. PWRiL.
37. Cakmak I. (2008), Zinc deficiency in wheat in Turkey. *Micronutrient deficiencies in global crop production*, 181-200, [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6860-7\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6860-7_7).
38. Cao Z., Rossi L., Stowers C., Zhang W., Lombardini L., Ma X. (2018), The impact of cerium oxide nanoparticles on the physiology of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under different soil moisture conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 930-939, <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0501-5>.
39. Caquet R. (2009), 250 bada   laboratoryjnych. Wyd 1. PZWL. Warszawa.
40. Cegielski T., Bujalski D., Kowalczyk K., Gajc-Wolska J., Hemka L. (2016), Zastosowanie programowania emisji światła w do  wietlaniu źródłami elektroluminescencyjnymi roślin pomidora. *Prace Instytutu Elektrotechniki*, (273), 79-93, DOI:10.5604/00326216.1210748.
41. Cetner M., Dąbrowski P., Samborska I., Łukasik I., Swoczyna T., Pietkiewicz S., Bąba W., Kalaji H.M. (2016), Zastosowanie pomiarów fluorescencji chlorofilu w badaniach środowiskowych. *Kosmos*, 65(2), 197-205.
42. Chakraborty K., Sairam R.K., Bhaduri D. (2016), Effects of different levels of soil salinity on yield attributes, accumulation of nitrogen, and micronutrients in

*Brassica* spp. *Journal of plant nutrition*, 39(7), 1026-1037, <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1109105>.

43. Chavarria G., Tamm G.O., Muller A., Mendonça H.F., Mello N., Betto, M.S. (2011), Índice de área foliar em canola cultivada sob variações de espaçamento e de densidade de semeadura. *Ciência Rural*, 41, 2084-2089, <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011001200008>.
44. Chaves M.M., Pereira, J.S., Maroco J., Rodrigues M.L., Ricardo C.P.P., Osório M.L., Carvalho I., Faria T., Pinheiro C. (2002), How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of botany*, 89(7), 907-916, <https://doi.org/10.1093/aob/mcf105>.
45. Cheema M.A., Saleem M.F., Muhammad N., Wahid M.A., Baber B.H. (2010), Impact of rate and timing of nitrogen application on yield and quality of canola (*Brassica napus* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 42(3), 1723-1731.
46. Chitu E., Ionita A.D., Cirjaliu-Murgesa M., Chitu V., Filipescu L. (2009), Evaluation of foliar nutritive fluids effect on apple photosystem II efficiency using chlorophyll fluorescence. *Bulletin UASVM Horticulture*, 66, 1.
47. Chormova D., Messenger D.J., Fry S.C. (2014), Boron bridging of rhamnogalacturonan-II, monitored by gel electrophoresis, occurs during polysaccharide synthesis and secretion but not post-secretion. *The Plant Journal*, 77(4), 534-546, <https://doi.org/10.1111/tpj.12403>.
48. Chrobok D., Law S.R., Brouwer B., Lindén P., Ziolkowska A., Liebsch D., Narsai R., Szal B., Moritz T., Rouhier N., Whelan J., Gardeström P., Keech O. (2016), Dissecting the metabolic role of mitochondria during developmental leaf senescence. *Plant Physiology*, 172(4), 2132-2153, <https://doi.org/10.1104/pp.16.01463>.
49. COBORU (2017), Wyniki porejestrowych doświadczeń odmianowych, Oleiste 2016 (rzepak ozimy, rzepak jary), Słupia Wielka, 131, 12 i 47.
50. COBORU (2022), Wyniki porejestrowych doświadczeń odmianowych, Oleiste 2021 (rzepak ozimy, rzepak jary), Słupia Wielka, 171, 12 i 47.
51. Collins D., Luxton T., Kumar N., Shah S., Walker V.K., Shah V. (2012), Assessing the impact of copper and zinc oxide nanoparticles on soil: a field study, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042663>.
52. Cook J.D., Baynes R.D., Skikne B.S. (1992), Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutrition Research Reviews*, 5(1), 198-202, <https://doi.org/10.1079/NRR19920014>.
53. Cope J.S., Corney D., Clark J.Y., Remagnino P., Wilkin P. (2012), Plant species identification using digital morphometrics: A review. *Expert Systems with Applications*, 39(8), 7562-7573, <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2012.01.073>.
54. Cornell R.M., Schwertmann U. (1996), The iron oxides: Structure, properties, reactions, occurrence and uses. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft. 573 p.
55. Cvjetko P., Milošić A., Domijan A.M., Vrček I.V., Tolić S., Štefanić P.P., Letofsky-Papst I., Tkalec M., Balen B. (2017), Toxicity of silver ions and differently coated silver nanoparticles in *Allium cepa* roots. *Ecotoxicology and environmental safety*, 137, 18-28, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.009>.



56. Da Costa M.V.J., Sharma P.K. (2016), Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. *Photosynthetica*, 54, 110-119, <https://doi.org/10.1007/s11099-015-0167-5>.
57. Dai Y., Shen Z., Liu Y., Wang L., Hannaway D., Lu H. (2009), Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg. *Environmental and experimental botany*, 65(2-3), 177-182.
58. De Bruin J.L., Singer J.W., Pedersen P., Rotundo J.L. (2010), Soybean photosynthetic rate and carbon fixation at early and late planting dates. *Crop Science*, 50(6), 2516-2524, <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.02.0107>.
59. Dellero Y., Clouet V., Marnet N., Pellizzaro A., Dechaumet S., Niogret M.F., Bouchereau A. (2020), Leaf status and environmental signals jointly regulate proline metabolism in winter oilseed rape. *Journal of Experimental Botany*, 71(6), 2098-2111, <https://doi.org/10.1093/jxb/erz538>.
60. Dellero Y., Jossier M., Bouchereau A., Hodges M., Leport L. (2021), Leaf phenological stages of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) have conserved photosynthetic efficiencies but contrasted intrinsic water use efficiencies at high light intensities. *Frontiers in Plant Science*, 12, 659439, <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.659439>.
61. De Rosa M.C., Monreal C., Schnitzer M., Walsh R., Sultan Y. (2010), Nanotechnology in fertilizers. *Nature nanotechnology*, 5(2), 91.
62. Dinh A.Q., Naeem A., Mühling K.H. (2022), Growth and Distribution of Boron in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.) as Affected by Boron Supply. *Plants*, 11(20), 2746, <https://doi.org/10.3390/plants11202746>.
63. Diepenbrock W. (2000), Yield analysis of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): a review. *Field crops research*, 67(1), 35-49 [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00082-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00082-4).
64. dos Santos Zepka A.P., Larré C.F., Lopes N.F. (2007), Efeito do herbicida pendimethalin na germinação de sementes de trigo. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(S2), 630-632.
65. Duhan J.S., Kumar R., Kumar N., Kaur P., Nehra K., Duhan, S. (2017), Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture. *Biotechnology Reports*, 15, 11-23 <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.03.002>.
66. Eastham K., Sweet J. (2002), Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow through pollen transfer. Copenhagen: European Environment Agency. , *Environmental issue report*, 28, 15-26.
67. Edwards J.V., Prevost N., French A., Concha M., DeLucca A., Wu Q. (2013), Nanocellulose-based biosensors: Design, preparation, and activity of peptide-linked cotton cellulose nanocrystals having fluorimetric and colorimetric elastase detection sensitivity, 5:20-28, <https://doi.org/10.4236/eng.2013.59A003>.
68. El-Beltagi H.E.D.S., Mohamed A.A. (2010), Variations in fatty acid composition, glucosinolate profile and some phytochemical contents in selected oil seed rape (*Brassica napus* L.) cultivars. *Grasas Y Aceites*, 61(2), 143-150, <https://doi.org/10.3989/gya.087009>.
69. El-Desouky H.S., Islam K.R., Bergefurd B., Gao G., Harker T., Abd-El-Dayem H., Ismaila F., Mady M., Zewail R.M. (2021), Nano iron fertilization significantly

increases tomato yield by increasing plants' vegetable growth and photosynthetic efficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 44(11), 1649-1663, <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1871749>.

70. Elfeky S.A., Mohammed M.A., Khater M.S., Osman Y.A., Elsherbini E. (2013), Effect of magnetite nano-fertilizer on growth and yield of *Ocimum basilicum* L. *Int. J. Indig. Med. Plants*, 46(3), 1286-1293.
71. El-Gioushy S.F., Ding Z., Bahloul A.M., Gawish M.S., Abou El Ghit H.M., Abdelaziz A.M., El-Desouky H.S., Sami R., Khojah E., Hasim T.A., Kheir A.M., Zewail R.M. (2021), Foliar application of nano, chelated, and conventional iron forms enhanced growth, nutritional status, fruiting aspects, and fruit quality of washington navel orange trees (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Plants*, 10(12), 2577, <https://doi.org/10.3390/plants10122577>.
72. El-Saadony M.T., Almoshadak A.S., Shafi M.E., Albaqami N.M., Saad A.M., El-Tahan A.M., El-Sayed M.D., Elnahal A.S.M., Almakas A., Abd El-Mageed T.A., Taha A.E., Elrys A.S., Helmy A.M (2021a), Vital roles of sustainable nano-fertilizers in improving plant quality and quantity-an updated review. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28: 7349–7359.
73. El-Saadony M.T., Saad A.M., Najjar A.A., Alzahrani S.O., Alkhatib F.M., Shafi M.E., Selem E., Desoky E.-S.M., Fouda S.E.E., El-Tahan A.M., Hassan M.A. (2021b), The use of biological selenium nanoparticles to suppress *Triticum aestivum* L. crown and root rot diseases induced by *Fusarium species* and improve yield under drought and heat stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4461-4471, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.04.043>.
74. Elsaggan M., Shokry A.M. (2019), Impact of bio-fertilizer and TiO<sub>2</sub> nanoparticles spray on growth, productivity and pickle quality of turnip crop (*Brassica rapa*). *Egyptian Journal of Desert Research*, 69(1), 101-121, <https://doi.org/10.21608/ejdr.2019.108099>.
75. Erdman Jr J.W., Macdonald I.A., Zeisel S.H. (Eds.). (2012), Present knowledge in nutrition. *John Wiley & Sons*.
76. Faber A., Jarosz Z., Borek R., Borzęcka-Walker M., Syp A., Pudelko R. (2011), Poziom emisji gazów cieplarnianych (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O i CH<sub>4</sub>) dla upraw pszenicy, pszenżyty, kukurydzy i żyta przeznaczonych do produkcji bioetanolu oraz upraw rzepaku przeznaczonych do produkcji biodiesla. *Ekspertyza wykonana na zlecenie Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi*, 91.
77. Fageria N.K., Baligar V.C., Clark R.B. (2005), Physiology of crop production, pp 61–184
78. Fageria N.K., Moreira A., Coelho A.M. (2011), Yield and yield components of upland rice as influenced by nitrogen sources. *Journal of Plant nutrition*, 34(3), 361-370, <https://doi.org/10.1080/01904167.2011.536878>.
79. Falqueto A.R., Cassol D., Magalhães Júnior A.M.D., Oliveira A.C.D., Bacarin M.A. (2009), Crescimento e partição de assimilados em cultivares de arroz diferindo no potencial de produtividade de grãos. *Bragantia*, 68, 563-571, <https://doi.org/10.1590/S0006-87052009000300002>.
80. Faraji A., Latifi N., Soltani A., Rad A.H.S. (2009), Seed yield and water use efficiency of canola (*Brassica napus* L.) as affected by high temperature stress and

supplemental irrigation. *Agricultural water management*, 96(1), 132-140, <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2008.07.014>.

81. Feng Y., Kreslavski V.D., Shmarev A.N., Ivanov A.A., Zharmukhamedov S.K., Kosobryukhov A., Yu M., Allakhverdiev S.I., Shabala S. (2022), Effects of iron oxide nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) on growth, photosynthesis, antioxidant activity and distribution of mineral elements in wheat (*Triticum aestivum*) Plants. *Plants*, 11(14), 1894, <https://doi.org/10.3390/plants11141894>.
82. Fitter A.H., Hay R.K. (2012), *Environmental physiology of plants*. Academic press.
83. Fochesatto E., Nied A.H., Bergamaschi H., Dalmago G.A., Pinto D.G., Kovaleski S., da Cunha G.R., Gouvea J.A. (2016), Interception of solar radiation by the productive structures of spring canola hybrids. *Ciência Rural*, 46, 1790-1796, <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20151571>.
84. Frewin R., Henson A., Provan D. (1997), ABC of clinical haematology: iron deficiency anaemia. *BMJ*, 314(7077), 360, <https://doi.org/10.1136/bmj.314.7077.360>.
85. Fu J., Huang B., Zhang G. (2000), Physiological and biochemical changes during seed filling in relation to leaf senescence in soybean. *Biologia plantarum*, 43, 545-548, <https://doi.org/10.1023/A:1002857328923>.
86. Gago J., Daloso D.M., Carriquí M., Nadal M., Morales M., Araújo W.L., Nunes-Nesi A., Flexas J. (2020), Mesophyll conductance: the leaf corridors for photosynthesis. *Biochemical Society Transactions*, 48(2), 429-439, <https://doi.org/10.1042/BST20190312>.
87. Gaj R. (2010), Wpływ zróżnicowanego poziomu nawożenia rzepaku ozimego potasem na stan odżywienia roślin w początku wzrostu pędu głównego i na plon nasion. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 31(1), 115-124.
88. Gao M., Liu Y., Dong Y., Song Z. (2018), Photosynthetic and antioxidant response of wheat to di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) contamination in the soil. *Chemosphere*, 209, 258-267, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.090>.
89. Geisler-Lee J., Wang Q., Yao Y., Zhang W., Geisler M., Li K., Huang Y., Chen Y., Kolmakov A., Ma X. (2013), Phytotoxicity, accumulation and transport of silver nanoparticles by *Arabidopsis thaliana*. *Nanotoxicology*, 7(3), 323-337, <https://doi.org/10.3109/17435390.2012.658094>.
90. Geng G., Cakmak I., Ren T., Lu Z., Lu J. (2021), Effect of magnesium fertilization on seed yield, seed quality, carbon assimilation and nutrient uptake of rapeseed plants. *Field Crops Research*, 264, 108082, <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2021.108082>.
91. Gentile R.M., Martino D.L., Entz M.H. (2003), Root characterization of three forage species grown in southwestern Uruguay. *Canadian journal of plant science*, 83(4), 785-788, <https://doi.org/10.4141/P02-182>.
92. Geomor-Technik, (2011a), Instrukcja obsługi. Chlorofilomierz ADC: OSI CCM-200 Plus, Szczecin.
93. Geomor-Technik, (2011b), Instrukcja obsługi. Fluorymter OS5p, Szczecin.
94. Gholinezhad E. (2017), Effect of drought stress and Fe nano-fertilizer on seed yield, morphological traits, essential oil percentage and yield of dill (*Anethum graveolens* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(4), 1006-1017, <https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1362999>.
95. Giglou M.T., Giglou R.H., Esmailpour B., Azarmi R., Padash A., Falakian M., Śliwka J., Gohari G., Lajayer H.M. (2022), A new method in mitigation of drought

- stress by chitosan-coated iron oxide nanoparticles and growth stimulant in peppermint. *Industrial Crops and Products*, 187, 115286, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115286>.
96. Gigova A., Moteva M., Mitova T., Kostadinov G. (2013), Irrigation impact on leaf area and net photosynthetic productivity of Canola. In *Proceedings of the 5th International Conference on Trends in Agricultural Engineering (TEA-2013)* (pp. 3-6).
  97. Golan T., Li X.P., Muller-Moule P., Niyogi K.K. (2004) Using mutants to understand light stress acclimation in plants. *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*, 525-554, [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_20).
  98. Golmohammadi H., Morales-Narváez E., Naghdi T., Merkoçi A. (2017), Nanocellulose in sensing and biosensing. *Chemistry of Materials*, 29(13), 5426-5446, <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.7b01170>.
  99. Gorlach E., Mazur T. (2002), *Chemia rolna*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
  100. Grillo R., Mattos B.D., Antunes D.R., Forini M.M., Monikh F.A., Rojas O.J. (2021), Foliage adhesion and interactions with particulate delivery systems for plant nanobionics and intelligent agriculture. *Nano Today*, 37, 101078, <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101078>.
  101. Grime J.P., Hunt R. (1975), Relative growth-rate: its range and adaptive significance in a local flora. *The Journal of Ecology*, 393-422, <https://doi.org/10.2307/2258728>.
  102. Grispen V.M., Nelissen H.J., Verkleij J.A. (2006), Phytoextraction with *Brassica napus* L.: a tool for sustainable management of heavy metal contaminated soils. *Environmental Pollution*, 144(1), 77-83, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.007>.
  103. Grotz N., Guerinot M.L. (2006), Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1763(7), 595-608, <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.05.014>.
  104. Grzebisz W. (2003). Nawożenie rzepaku potasem i innymi składnikami. AR Poznań, 13-39.
  105. Grzebisz W. (2011), Technologie nawożenia roślin uprawnych – fizjologia plonowania. Tom I, PWRiL Poznań, 414.
  106. Grzebisz W., Gaj R., Waszak M. (2008), Zintegrowany system nawożenia rzepaku. [W:] *Integrowana produkcja rzepaku ozimego i jarego. IOR Poznań*, 19-28.
  107. Grzebisz W., Podleśna A., Wielebski F. (2005), Potrzeby pokarmowe i nawożenie. s. 74–89. W: „Technologia produkcji rzepaku” (Cz. Muśnicki, I. Bartkowiak-Broda, M. Mrówczyński, red.). *Wiś Jutra*, Warszawa, 203 ss.
  108. Guerinot M.L., Yi Y. (1994), Iron: nutritious, noxious, and not readily available. *Plant physiology*, 104(3), 815-820, <https://doi.org/10.1104/pp.104.3.815>.
  109. Guha T., Mukherjee A., Kundu R. (2021), Nano-scale zero valent iron (nZVI) priming enhances yield, alters mineral distribution and grain nutrient content of *Oryza sativa* L. cv. Gobindobhog: a field study. *Journal of plant growth regulation*, 1-24, <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10335-0>.
  110. Gul H., Ahmed R., Hamayun M., Sayyed A., Shabeena H. (2016), Response of eight canola (*Brassica napus* L.) varieties to different concentrations of saline

- Irrigation Water. *S. Asian J. Life Sci*, 4(1), 1-17, <http://dx.doi.org/10.14737/journal.sajls/2015/3.4.1.17>.
111. Guleria G., Thakur S., Shandilya M., Sharma S., Thakur S., Kalia S. (2022), Nanotechnology for sustainable agro-food systems: The need and role of nanoparticles in protecting plants and improving crop productivity. *Plant Physiology and Biochemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.12.004>.
  112. Gunasekera C.P., Martin L.D., Siddique K.H.M., Walton G.H. (2006), Genotype by environment interactions of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) and canola (*Brassica napus* L.) in Mediterranean-type environments: II. Oil and protein concentrations in seed. *European Journal of Agronomy*, 25(1), 13-21, <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.02.001>.
  113. GUS, 2017a, Produkcja upraw rolnych i ogrodnich w 2016 roku, Warszawa, ISSN 1509-7099, 35-37.
  114. GUS, 2017b, Wyniki produkcji roślinnej w 2016 roku, Warszawa, ISSN 1507-9678, 21,37-38.
  115. GUS, 2022, Produkcja upraw rolnych i ogrodnich w 2021 roku, Warszawa, ISSN 2353-5180, tab. 25-27.
  116. Habibzadeh Y., Mamghani R., Kashani A. (2006), Effects of plant density on grain yield and some morpho-physiological traits in three mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczk] genotypes under ahvas conditions.
  117. Haj Sghaier A., Tarnawa Á., Khaeim H., Kovács G. P., Gyuricza C., Kende Z. (2022), The Effects of Temperature and Water on the Seed Germination and Seedling Development of Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plants*, 11(21), 2819, <http://doi.org/10.3390/plants11212819>.
  118. Halfhill M.D., Millwood R.J., Rufty T.W., Weissinger A.K., Stewart C.N. (2003), Spatial and temporal patterns of green fluorescent protein (GFP) fluorescence during leaf canopy development in transgenic oilseed rape, *Brassica napus* L. *Plant Cell Reports*, 22, 338-343, <https://doi.org/10.1007/s00299-003-0696-4>.
  119. Halfhill M.D., Richards H.A., Mabon S.A., Stewart C.N. (2001), Expression of GFP and Bt transgenes in *Brassica napus* and hybridization with *Brassica rapa*. *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 659-667, <https://doi.org/10.1007/s001220100613>.
  120. Hao Y., Yu Y., Sun G., Gong X., Jiang Y., Lv G., Zhang Y., Li L., Zhao Y., Sun D., Gu W., Qian C. (2023), Effects of Multi-Walled Carbon Nanotubes and Nano-Silica on Root Development, Leaf Photosynthesis, Active Oxygen and Nitrogen Metabolism in Maize. *Plants*, 12(8), 1604, <https://doi.org/10.3390/plants12081604>.
  121. Hamza M.A., Adel A.M., Ahmed O.I. (2020), The effect of spraying with nan iron and gibberellic acid on the chemical traits of *Moringa oleifera* seedlings growing in two agricultural medium. *Euphrates J. Agric. Sci*, 12, 456-472.
  122. Hanhart P., Thieß M., Amari K., Bajdzienko K., Giavalisco P., Heinlein M., Kehr, J. (2017), Bioinformatic and expression analysis of the *Brassica napus* L. cyclophilins. *Scientific Reports*, 7(1), 1-17, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01596-5>.
  123. Hassanien A.S., Akl A.A., Saaedi A.H. (2018), Synthesis, crystallography, microstructure, crystal defects, and morphology of Bi x Zn 1– x O nanoparticles

- prepared by sol–gel technique. *CrystEngComm*, 20(12), 1716-1730, <https://doi.org/10.1039/C7CE02173A>.
124. Hatfield J. L., Dold C. (2019), Water-use efficiency: advances and challenges in a changing climate. *Frontiers in plant science*, 10, 103, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00103>.
  125. Heimann S. (2005), Zasady oceny odmian i ich wartość gospodarcza. Rozdział w: Technologia produkcji rzepaku. Wydawnictwo Wieś Jutra, Warszawa: 62–67.
  126. Hentze M.W., Muckenthaler M.U., Galy B., Camaschella C. (2010), Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*, 142(1), 24-38, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.028>.
  127. Hintze K.J., Theil E.C. (2006), Cellular regulation and molecular interactions of the ferritins. *Cellular and molecular life sciences*, 63, 591-600, <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5285-y>.
  128. Hong F., Zhou J., Liu C., Yang F., Wu C., Zheng L., Yang P. (2005), Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. *Biological trace element research*, 105, 269-279, <https://doi.org/10.1385/BTER:105:1-3:269>.
  129. Hong J., Wang L., Sun Y., Zhao L., Niu G., Tan W., Rico C.M., Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J. L. (2016), Foliar applied nanoscale and microscale CeO<sub>2</sub> and CuO alter cucumber (*Cucumis sativus*) fruit quality. *Science of the Total Environment*, 563, 904-911, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.029>.
  130. Hooks T., Niu G., Ganjegunte G. (2019), Seedling emergence and seedling growth of mustard and rapeseed genotypes under salt stress. *Agrosystems, Geosciences & Environment*, 2(1), 1-8, <https://doi.org/10.2134/age2019.07.0062>.
  131. Huang Y., Ma Q., Wu X., Li H., Xu K., Ji G., Qian F., Li L., Huang Q., Long Y., Zhang X., Chen B., Liu C. (2022), Estimation of chlorophyll content in *Brassica napus* based on unmanned aerial vehicle images. *Oil Crop Science*, 7(3), 149-155, <https://doi.org/10.1016/j.ocsci.2022.08.004>.
  132. Hudewenz A., Pufal G., Bögeholz A.L., Klein, A.M. (2014), Cross-pollination benefits differ among oilseed rape varieties. *The Journal of Agricultural Science*, 152(5), 770-778, <https://doi.org/10.1017/S0021859613000440>.
  133. Hunková E., Živčák M., Olšovská K. (2011), Leaf area duration of oilseed rape (*Brassica napus* subsp. *napus*) varieties and hybrids and its relationship to selected growth and productivity parameters. *Journal of Central European Agriculture*, 12(1), 1-15, <https://doi.org/10.5513/JCEA01/12.1.873>.
  134. Hunt R., Causton D.R., Shipley B., Askew A.P. (2002), A modern tool for classical plant growth analysis. *Annals of botany*, 90(4), 485-488, <https://doi.org/10.1093/aob/mcf214>.
  135. IENICA (2011), [www.ienica.net/reports/ienicafinalsummary report2000-2005.pdf](http://www.ienica.net/reports/ienicafinalsummary%20report2000-2005.pdf), 19.1.2011.
  136. Jajor E., Mrówczyński, M. (2016), Metodyka integrowanej ochrony rzepaku ozimego oraz jarego dla doradców. *Instytut Ochrony Roślin–Państwowy Instytut Badawczy, Poznań*.
  137. Jankowski K., Budzyński W. (2007), Reakcja różnych form hodowlanych rzepaku ozimego na termin i gęstość siewu. II. Plon nasion i jego składowe. *Rośliny Oleiste*, 28(2), 195-207.

138. Jankowski K.J., Sokólski M., Szatkowski A. (2019), The effect of autumn foliar fertilization on the yield and quality of winter oilseed rape seeds. *Agronomy*, 9(12), 849, <https://doi.org/10.3390/agronomy9120849>.
139. Janušauskaite D., Feiziene D. (2012), Chlorophyll fluorescence characteristics throughout spring triticale development stages as affected by fertilization. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science*, 62(1), 7-15, <https://doi.org/10.1080/09064710.2011.560122>.
140. Jastrzębska M., Kostrzevska M.K., Wanic M. (2016), Wpływ deficytu wody i interakcji międzygatunkowych na wybrane parametry fizjologiczne roślin jęczmienia jarego i koniczyny czerwonej. *Fragmenta Agronomica*, 33(4).
141. Jeong J., Connolly E.L. (2009), Iron uptake mechanisms in plants: functions of the FRO family of ferric reductases. *Plant science*, 176(6), 709-714, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.02.011>.
142. Jeong J., Guerinot M.L. (2009), Homing in on iron homeostasis in plants. *Trends in plant science*, 14(5), 280-285, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.02.006>.
143. Jiang H.S., Qiu X.N., Li G.B., Li W., Yin L.Y. (2014), Silver nanoparticles induced accumulation of reactive oxygen species and alteration of antioxidant systems in the aquatic plant *Spirodela polyrhiza*. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(6), 1398-1405, <https://doi.org/10.1002/etc.2577>.
144. Jones H. G. (1998), Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of experimental botany*, 387-398.
145. Joshi H., Choudhary P., Mundra S.L. (2019), Future prospects of nanotechnology in agriculture. *Int. J. Chem. Stud*, 7(2), 957-963.
146. Joshi A., Kaur S., Dharamvir K., Nayyar H., Verma G. (2018), Multi-walled carbon nanotubes applied through seed-priming influence early germination, root hair, growth and yield of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(8), 3148-3160 <https://doi.org/10.1002/jsfa.8818>.
147. Jung A. (2014), Nanocząstki w zastosowaniach medycznych–kierunek przyszłości?. *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*, 10(2), 104-110.
148. Kaiser H. (2018), Nanotechnology in Food, Food processing, Agriculture, Packaging and Consumption. State of Science, Technologies, Markets, Applications and Developments to 2015 and 2040. <http://www.hkc22.com/nanofood2040.html>.
149. Kalaji H.M. (2011), Oddziaływanie abiotycznych czynników stresowych na fluorescencję chlorofilu w roślinach wybranych odmian jęczmienia *Hordeum vulgare* L. *Rozprawy Naukowe i Monografie. Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*, (378).
150. Kalaji H.M., Bąba W., Gediga K., Goltsev V., Samborska I.A., Cetner M.D., Dimitrova S., Piszcz U., Bielecki K., Karmowska K., Dankov K., Kompała-Bąba A. (2018), Chlorophyll fluorescence as a tool for nutrient status identification in rapeseed plants. *Photosynthesis Research*, 136, 329-343, <https://doi.org/10.1007/s11120-017-0467-7>.
151. Kalaji H.M., Guo P. (2008), Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs. *Photochemistry research progress*, 29, 439-463.

152. Kalaji H.M., Łoboda T. (2009), *Fluorescencja chlorofilu w badaniach stanu fizjologicznego roślin*. Wydawnictwo SGGW.
153. Kalaji H.M., Oukarroum A., Alexandrov V., Kouzmanova M., Brestic M., Zivcak M., Samborska I.A., Center M.D., Allakhverdiev S.I., Goltsev V. (2014), Identification of nutrient deficiency in maize and tomato plants by in vivo chlorophyll a fluorescence measurements. *Plant physiology and biochemistry*, 81, 16-25, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.029>.
154. Kandhol N., Singh V.P., Ramawat N., Prasad R., Chauhan D.K., Sharma S., Grillo R., Sahi S., Peralta-Videa J., Tripathi D.K. (2022), Nano-priming: Impression on the beginner of plant life. *Plant Stress*, 5, 100091, <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100091>.
155. Kareem H.A., Saleem M.F., Saleem S., Rather S.A., Wani S.H., Siddiqui M. H., Alamri S., Kumar R., Gaikwad N.B., Guo Z., Niu J., Wang Q. (2022), Zinc oxide nanoparticles interplay with physiological and biochemical attributes in terminal heat stress alleviation in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Frontiers in Plant Science*, 13, 101, <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.842349>.
156. Karimi H. (2005) Cultivation and breeding of forage crops, University of Tehran Press, Tehran, Iran.
157. Kautsky H., Hirsch A. (1931), Neue versuche zur kohlenensäureassimilation. *Naturwissenschaften*, 19(48), 964-964, <https://doi.org/10.1007/BF01516164>.
158. Khan Z., Khan S.H., Ghouri M.Z., Shahzadi H., Arshad S.F., Waheed U., Firdous S., Mehboob Q., Ahmad, A. (2019), Nanotechnology: An Elixir to Life Sciences, Preprints 2019020235, <https://doi.org/10.20944/preprints201902.0235.v1>.
159. Kim S.A., Guerinot M.L. (2007), Mining iron: iron uptake and transport in plants. *FEBS letters*, 581(12), 2273-2280, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.043>.
160. Kirby E.J.M., Appleyard M., Fellowes G. (1982), Effect of sowing date on the temperature response of leaf emergence and leaf size in barley. *Plant, Cell & Environment*, 5(6), 477-484, <https://doi.org/10.1111/1365-3040.ep11611839>.
161. Kirkegaard, J. A., Sprague, S. J., Lilley, J. M., McCormick, J. I., Virgona, J. M., & Morrison, M. J. (2012). Physiological response of spring canola (*Brassica napus*) to defoliation in diverse environments. *Field Crops Research*, 125, 61-68, <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.08.013>.
162. Klamkowski K., Treder W., Masarek A., Borkowska B. (2008), Charakterystyka aparatów szparkowych i wymiana gazowa roślin truskawki w zależności od warunków wzrostu. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, (524).
163. Klikocka H. (2011), The effect of sulphur kind and dose on content and uptake of micro-nutrients by potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 10(2), 137-151.
164. Klikocka H., Wyłupek T., Narolski B. (2015), Analiza zawartości siarki w biosferze Zamojszczyzny. *Ochrona Środowiska*, 37(1), 33-42.
165. Kobayashi T., Nishizawa N.K. (2012), Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annual review of plant biology*, 63, 131-152, <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105522>.



166. Kocoń A., Grenda A. (2004), Wpływ tytanitu na fotosyntezę, plon oraz pobranie składników pokarmowych przez rośliny rzepaku. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 502(1), 135-140.
167. Kołota E., Komosa A., Chohura P. (2006), Wpływ chelatów żelazowych Librel Fe-DP7, Pionier Fe 13 i Top 12 na plonowanie pomidora szklarniowego uprawianego w wełnie mineralnej. *Acta Agrophysica*, 7(3), 599-609.
168. Komosa A., Chohura P., Roszyk J. (2005), Wpływ temperatury i czasu użytkowania pożywki na zawartość żelaza dostępnego w chelatach żelazowych. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Rolnictwo*, 86, 259-265.
169. Konate A., Wang Y., He X., Adeel M., Zhang P., Ma Y., Ding Y., Zhang J., Yang J., Kizito S., Rui Y., Zhang Z. (2018), Comparative effects of nano and bulk-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> on the growth of cucumber (*Cucumis sativus*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 165, 547-554, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.053>.
170. Korzeniowska J. (2009), Znaczenie cynku w uprawie pszenicy. *Postępy Nauk Rolniczych*, (2), 3-17.
171. Kotecki A., Malarz W., Kozak, M. (2001), Wpływ nawożenia azotem na rozwój i plonowanie pięciu odmian rzepaku jarego. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 22(1), 69-80.
172. Kowalska D., Gugolek A., Strychalski J. (2016), Zastosowanie pasz rzepakowych w żywieniu królików. *Zespół Wydawnictw i Poligrafii IZ PIB, Balice k. Krakowa*.
173. Kozłowska-Strawska J., Kaczor A. (2009), Sulphur as a deficient element in agriculture-its influence on yield and on the quality of plant materials. *Ecological Chemistry and Engineering. A*, 16(1-2), 9-19.
174. Kramer D.M., Avenson T.J., Kanazawa A., Cruz J.A., Ivanov B., Edwards G. E. (2004), The relationship between photosynthetic electron transfer and its regulation. *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*, 251-278.
175. Krelowska-Kulas M. (1993), *Badanie jakości produktów spożywczych*. Państwowe Wydaw. Ekonomiczne.
176. Krzywański Z., Wójcik-Wojtkowiak D. (2002), *Zarys fizjologii roślin. Wykłady i ćwiczenia*, Wydawnictwo Akademii Rolniczej, Poznań.
177. Kubicka H., Jaron N. (2011), Działanie jonów miedzi na wzrost siewek linii wsobnych żyta (*Secale cereale* L.). *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*, (48).
178. Kumar S., Nayak M.K., Singh D., Kumar A. (2016), Correlation study of growth, development and yield with agrometeorological indices under different planting method of rice. *International Journal of Agriculture Sciences*, ISSN, 0975-3710, Volume 8, Issue 53, 2682-2686.
179. Kumari N., Yadav M., Sharma V. (2018), Differential response of *Brassica juncea* cultivars to Al; consequences for chlorophyll a fluorescence, antioxidants and psb A gene. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 496-505, <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1526980>.
180. Lancashire P.D., Bleiholder H., Boom T.V.D., Langelüdde P., Stauss R., Weber E., Witzemberger A. (1991), A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of applied Biology*, 119(3), 561-601, <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1991.tb04895.x>.

181. Larue C., Veronesi G., Flank A.M., Surble S., Herlin-Boime N., Carrière M. (2012), Comparative uptake and impact of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in wheat and rapeseed. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75(13-15), 722-734, <https://doi.org/10.1080/15287394.2012.689800>.
182. Lawlor D. W., Tezara W. (2009), Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Annals of botany*, 103(4), 561-579, <https://doi.org/10.1093/aob/mcn244>.
183. Lawson T., Simkin A.J., Kelly G., Granot D. (2014), Mesophyll photosynthesis and guard cell metabolism impacts on stomatal behaviour. *New Phytologist*, 203(4), 1064-1081, <https://doi.org/10.1111/nph.12945>.
184. Lee W.M., An Y.J., Yoon H., Kweon H.S. (2008), Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 27(9), 1915-1921, <https://doi.org/10.1897/07-481.1>.
185. Lemaire G., van Oosterom E., Jeuffroy M.H., Gastal F., Massignam A. (2008), Crop species present different qualitative types of response to N deficiency during their vegetative growth. *Field Crops Research*, 105(3), 253-265, <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.10.009>.
186. Li G., Zhang Z. S., Gao H. Y., Liu P., Dong S. T., Zhang J. W., Zhao B. (2012), Effects of nitrogen on photosynthetic characteristics of leaves from two different stay-green corn (*Zea mays* L.) varieties at the grain-filling stage. *Canadian Journal of Plant Science*, 92(4), 671-680, <https://doi.org/10.4141/cjps2012-039>.
187. Li J., Naeem M. S., Wang X., Liu L., Chen C., Ma N., Zhang C. (2015), Nano-TiO<sub>2</sub> is not phytotoxic as revealed by the oilseed rape growth and photosynthetic apparatus ultra-structural response. *PLoS One*, 10(12), e0143885, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143885>.
188. Li J., Ma Y., Xie Y. (2021), Stimulatory effect of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles on the growth and yield of *Pseudostellaria heterophylla* via improved photosynthetic performance. *HortScience*, 56(7), 753-761, <https://doi.org/10.21273/HORTSCI15658-20>.
189. Li J., Zhen W., Long D., Ding L., Gong A., Xiao C., Jiang W., Liu X., Huang L. (2016), De novo sequencing and assembly analysis of the *Pseudostellaria heterophylla* transcriptome. *PLoS One*, 11(10), e0164235, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170134>.
190. Liu J., Reid R.J., Smith F.A. (2000), The mechanism of cobalt toxicity in mung beans. *Physiologia Plantarum*, 110(1), 104-110, <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.110114.x>.
191. Liu L., Gan Y., Bueckert R., Van Rees K., Warkentin T. (2010), Fine root distributions in oilseed and pulse crops. *Crop Science*, 50(1), 222-226, <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.03.0156>.
192. Lizzi D., Mattiello A., Piani B., Gava E., Fellet G., Marchiol L. (2021), Single and Repeated Applications of Cerium Oxide Nanoparticles Differently Affect the Growth and Biomass Accumulation of *Silene flos-cuculi* L.(*Caryophyllaceae*). *Nanomaterials*, 11(1), 229, <https://doi.org/10.3390/nano11010229>.

193. Lopes-Oliveira P.J., Gomes D.G., Pelegrino M.T., Bianchini E., Pimenta J.A., Stolf-Moreira R., Seabra A.B., Oliveira H.C. (2019), Effects of nitric oxide-releasing nanoparticles on neotropical tree seedlings submitted to acclimation under full sun in the nursery. *Scientific Reports*, 9(1), 1-10, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54030-3>.
194. Lu C., Zhang J., Zhang Q., Li L., Kuang T. (2001), Modification of photosystem II photochemistry in nitrogen deficient maize and wheat plants. *Journal of plant physiology*, 158(11), 1423-1430, <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00501>.
195. Łukaszuk E., Ciereszko I. (2011), Mechanizmy dostosowawcze roślin do warunków niedoboru fosforu. *Postępy Nauk Rolniczych*, (3).
196. Mahanta N., Kurmi K., Das J.C., Basumatary A. (2019), Nutrient content, uptake and oil content of rapeseed as influenced by reduced tillage, mulching and INM practices. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 3291-3295.
197. Mahil E. I. T., Kumar B. A. (2019), Foliar application of nanofertilizers in agricultural crops—A review. *J. Farm Sci*, 32(3), 239-249.
198. Mahto R., Singh R.K., Singh A.K., Sahoo M., Singh A.K. (2022), Growth Comparison between Three *Brassica species* in Response to Nutrient Management and Iron Sulphide Nanoparticles. *Biological Forum – An International Journal*, 14(1): 1462-1467.
199. Mahmoud A.W.M., Ayad A.A., Abdel-Aziz H.S., Williams L.L., El-Shazoly R.M., Abdel-Wahab A., Abdeldaym E.A. (2022a), Foliar application of different iron sources improves morpho-physiological traits and nutritional quality of broad bean grown in sandy soil. *Plants*, 11(19), 2599, <https://doi.org/10.3390/plants11192599>.
200. Mahmoud A.W.M., Esmail S.E., El-Attar A.B., Othman E.Z., El-Bahbohy R.M. (2022b), Prospective practice for compound stress tolerance in thyme plants using nanoparticles and biochar for photosynthesis and biochemical ingredient stability. *Agronomy*, 12(5), 1069, <https://doi.org/10.3390/agronomy12051069>.
201. Majumdar S., Peralta-Videa J.R., Trujillo-Reyes J., Sun Y., Barrios A.C., Niu G., Flores-Margez J.P., Gardea-Torresdey J.L. (2016), Soil organic matter influences cerium translocation and physiological processes in kidney bean plants exposed to cerium oxide nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 569, 201-211, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.087>.
202. Maleszewski S., Kozłowska-Szerenos B., Jurga A. (2003), Znaczenie aparatów szparkowych dla współdziałania wody i światła w metabolizmie roślin. *Wiadomości Botaniczne*, 47(1-2), 27-39.
203. Mannino S., Scampicchio M. (2007), Nanotechnology and food quality control. *Veterinary research communications*, 31(1), 149-151, <https://doi.org/10.1007/s11259-007-0081-9>.
204. Mariz-Ponte N., Sario S., Mendes R.J., Couto M., Gimranov E., Santos M., Correia C.V., Gomes A., Oliveira-Pinto P.R., Amorim I., Dias M.C., de Oliveira, J.M.P.F., Santos C. (2022), Low Doses of Anatase and Rutile Nanoparticles Differently Modulate Photosynthesis and Regulatory Genes: A Contribution to the Nanoagroindustry. *Agriculture*, 12(2), 190, <https://doi.org/10.3390/agriculture12020190>.
205. Mariz-Ponte N., Sario S., Mendes R.J., Correia C.V., Moutinho-Pereira J., Correia C.M., Santos C. (2020), Silicon titanium oxide nanoparticles can stimulate plant

- growth and the photosynthetic pigments on lettuce crop. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 66(4), 148-160, <https://doi.org/10.2478/agri-2020-0014>.
206. Marschner H. (1995), Mineral nutrition of higher plants. London, Orlando, San Diego, New York, Austin. *Boston, Sydney, Tokyo, Toronto, Academic Press*, 1, 869-878.
  207. Marschner H. (red.). (2011), *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Praca akademicka.
  208. Maxwell K., Johnson, G.N. (2000), Chlorophyll fluorescence -a practical guide. *Journal of experimental botany*, 51(345), 659-668, <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>.
  209. McKenna M.F., Shipley B. (1999), Interacting determinants of interspecific relative growth: empirical patterns and a theoretical explanation. *Ecoscience*, 6(2), 286-296, <https://doi.org/10.1080/11956860.1999.11682529>.
  210. Meena M.C., Meena P.D., Shukla A.K., Barman M., Meena M.K., Singh P., Kumar A. (2016), Role of plant nutrients in enhancing productivity and managing diseases of oilseed *Brassica*. *Journal of Oilseed Brassica*, 1(1), 1-20.
  211. Meier U. (2018), Growth stages of mono- and dicotyledonous plants, BBCH Monograph, Julius Kühn-Institut (JKI), Quedlinburg, Germany, 11-14, 32-36, <https://doi.org/10.5073/20180906-074619>.
  212. Mendoza-Cózatl D.G., Butko E., Springer F., Torpey J.W., Komives E.A., Kehr J., Schroeder J.I. (2008), Identification of high levels of phytochelatin, glutathione and cadmium in the phloem sap of *Brassica napus*. A role for thiol-peptides in the long-distance transport of cadmium and the effect of cadmium on iron translocation. *The Plant Journal*, 54(2), 249-259, <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03410.x>.
  213. Mengel K. (1991), Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze. G. Fischer Verlag, Jena, 466 ss.
  214. Mercik S. (Ed.). (2004), *Chemia rolna: podstawy teoretyczne i praktyczne*. Wydaw. SGGW.
  215. Michałek S. (1999), Wzrost, wymiana gazowa i plonowanie kilku polskich odmian soi w warunkach suszy. *Zesz. Problem. Post. Nauk Rol*, 469, 217-223.
  216. Michałek W., Sawicka B. (2005), Zawartość chlorofilu i aktywność fotosyntetyczna średnio późnych odmian ziemniaka w warunkach pola uprawnego w środkowo-wschodniej Polsce. *Acta Agrophysica*, 6(1), 183-195.
  217. Mikkelsen R. (2018), Nanofertilizer and nanotechnology: a quick look. *Better Crops with Plant Food*, 102(3), 18-19.
  218. Mingyu S., Fashui H., Chao L., Xiao W., Xiaoqing L., Liang C., Fengqing G., Fan Y., Zhongrui, L. (2007), Effects of nano-anatase TiO<sub>2</sub> on absorption, distribution of light, and photoreduction activities of chloroplast membrane of spinach. *Biological Trace Element Research*, 118, 120-130, <https://doi.org/10.1007/s12011-007-0006-z>.
  219. Mir Y., Khosravi H., Daneshvar M., Ahmad I. (2023), The effect of foliar application of some micronutrients and salicylic acid on root morphological characteristics and seed yield of rapeseed (*Brassica napus* L.) under water deficit stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 16(1): 169-182. <http://dx.doi.org/10.22077/escs.2022.4575.2041>.

220. Mishra K.B., Mishra A., Novotná K., Rapantová B., Hodaňová P., Urban O., Klem K. (2016), Chlorophyll a fluorescence, under half of the adaptive growth-irradiance, for high-throughput sensing of leaf-water deficit in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Methods*, 12(1), 1-17, <https://doi.org/10.1186/s13007-016-0145-3>.
221. Mohamadipoor R., Sedaghatthoor S., Mahboub-Khomami A. (2013), Effect of application of iron fertilizers in two methods' foliar and soil application on growth characteristics of *Spathiphyllum* illusion. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1), 232-240.
222. Moldovan C., Ianculov I., Hădărugă N.G., Dumbravă D., Crăiniceanu E., Drugă M., Alda L., Moldovan G.Z. (2009), Influence of chlorophyll content from onion (*Allium cepa*) after selenium and zinc adding. *J. Agroaliment. Proc. Technol*, 15, 437-440.
223. Morris R.J. (2007), Sulphur in Agriculture: global overview. *Fertilizer Focus*, 1(2), 12-16.
224. Morrissey J., Guerinot M.L. (2009), Iron uptake and transport in plants: the good, the bad, and the ionome. *Chemical reviews*, 109(10), 4553-4567, <https://doi.org/10.1021/cr900112r>.
225. Mousavi S.R., Rezaei M. (2011), Nanotechnology in agriculture and food production. *J Appl Environ Biol Sci*, 1(10), 414-419.
226. Mousavi Kouhi S.M., Lahouti M., Ganjeali A. (2020), Effect of ZnO Nanoparticles application on mineral absorption in rapeseed. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 33(2), 374-385, <https://doi.org/10.1001.1.23832592.1399.33.2.9.1>.
227. Mousavi Kouhi S.M., Lahouti M., Ganjeali A., Entezari M.H. (2015). Long-term exposure of rapeseed (*Brassica napus* L.) to ZnO nanoparticles: anatomical and ultrastructural responses. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 10733-10743, <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4306-0>.
228. Mrówczyński M., Pruszyński S. (Eds.). (2008), *Integrowana produkcja rzepaku ozimego i jarego: opracowanie zbiorowe*. Instytut Ochrony Roślin.
229. Muhrizal S., Shamshuddin J., Fauziah I., Husni M.A.H. (2006), Changes in iron-poor acid sulfate soil upon submergence. *Geoderma*, 131(1-2), 110-122, <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2005.03.006>.
230. Mura S., Greppi G., Irudayaraj J.M.K. (2015), Latest Developments of Nanotoxicology in Plants. [ed. Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Mohammad, F. Nanotechnology and plant sciences: Nanoparticles and Their Impact on Plants]. Springer International Publishing: Cham, Switzerland; s. 125–151, DOI 10.1007/978-3-319-14502-0.
231. Murkowski A. (2002), Oddziaływanie czynników stresowych na luminescencję chlorofilu w aparacie fotosyntetycznym roślin uprawnych. *Acta Agrophysica*, 61, 1-158.
232. Murkowski A., Mila A. (2010), Wpływ podwyższonego stężenia CO<sub>2</sub> na fluorescencję chlorofilu i fotosyntezę wybranych genotypów rzepaku ozimego. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 31(2).
233. Musse M., De Franceschi L., Cambert M., Sorin C., Le Caherec F., Burel A., Bouchereau A., Mariette F., Lepoint L. (2013), Structural changes in senescing

- oilseed rape leaves at tissue and subcellular levels monitored by nuclear magnetic resonance relaxometry through water status. *Plant physiology*, 163(1), 392-406, <https://doi.org/10.1104/pp.113.223123>.
234. Muśnicki C. (1999), Rośliny oleiste. Rzepak ozimy. s. 412–434. W: „Szczegółowa uprawa roślin” (Z. Jasińska, A. Kotecki, red.). Akademia Rolnicza, Wrocław, tom 2, 1199 ss.
  235. Müller T., Lüttschwager D., Lentzsch P. (2010) Recovery from drought stress at the shooting stage in oilseed rape (*Brassica napus*). *Journal of agronomy and Crop Science*, 196(2), 81-89, <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2009.00391.x>.
  236. Müller-Linow M., Pinto-Espinosa F., Schar H., Rascher U. (2015), The leaf angle distribution of natural plant populations: assessing the canopy with a novel software tool. *Plant methods*, 11, 1-16, <https://doi.org/10.1186/s13007-015-0052-z>.
  237. Nabloussi A., Bahri H., Lakbir M., Moukane H., Kajji A., El Fectali M. (2019), Assessment of a set of rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under waterlogging stress at different plant growth stages. *OCL*, 26, 36, <https://doi.org/10.1051/ocl/2019033>.
  238. Nagaonkar D., Shende S., Rai M. (2015), Biosynthesis of copper nanoparticles and its effect on actively dividing cells of mitosis in *Allium cepa*. *Biotechnology progress*, 31(2), 557-565, <https://doi.org/10.1002/btpr.2040>.
  239. Natural Resources Conservation Service (2010) Use of Reaction (pH) in Soil Taxonomy. United States Department of Agriculture, <http://soils.usda.gov/technical/technotes/note8.html>.
  240. Nedbal L., Whitmarsh J. (2004), Chlorophyll fluorescence imaging of leaves and fruits. In: Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis. Ed. G.C. Papageorgiou, Govindjee. Springer, Dordrecht: 389–407.
  241. Neukirchen, D., Lammel, J. (2002), The chlorophyll content as an indicator for nutrient and quality management. *Nawozy i Nawożenie*, 4(2 [11]).
  242. Niinemets Ü., Kännaste A., Copolovici L. (2013), Quantitative patterns between plant volatile emissions induced by biotic stresses and the degree of damage. *Frontiers in Plant Science*, 4, 262, <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00262>.
  243. Nouet C., Motte P., Hanikenne M. (2011), Chloroplastic and mitochondrial metal homeostasis. *Trends in plant science*, 16(7), 395-404, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.005>.
  244. OECD, 2016, OECD Seed Schemes 2016: OECD Schemes for the Varietal Certification or the Control of Seed Moving in International Trade, OECD, Paris, France.
  245. Olszewska M., Grzegorzczak S., Olszewski J., Baluch-Malecka A. (2010), Porównanie reakcji wybranych gatunków traw na stres wodny. *Łąkarstwo w Polsce*, 13, 127-136.
  246. Omanović-Miklićanina E., Maksimović M. (2016), Nanosensors applications in agriculture and food industry. *Bull Chem Technol Bosnia Herzegovina*, 47, 59-70.
  247. Orlicz-Szczęśna G., Żelazowska-Posiej J., Kucharska, K. (2011), Niedokrwistość z niedoboru żelaza. *Current Problems of Psychiatry*, 12(4), 590-594.

248. Orlovius K. (2000) Wyniki badań nad wpływem nawożenia potasem, magnezem i siarką na rośliny oleiste w Niemczech. *Zbilansowane nawożenie rzepaku. Aktualne problemy*, W. Grzebisz (red.), Poznań: Wyd. AR, 229-239.
249. Ozmen M., Güngördü A., Erdemoglu S., Ozmen N., Asilturk M. (2015), Toxicological aspects of photocatalytic degradation of selected xenobiotics with nano-sized Mn-doped TiO<sub>2</sub>. *Aquatic Toxicology*, 165, 144-153, <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.05.020>.
250. Pan X., Lada R.R., Caldwell C.D., Falk K.C. (2011), Water-stress and N-nutrition effects on photosynthesis and growth of *Brassica carinata*. *Photosynthetica*, 49, 309-315, <https://doi.org/10.1007/s11099-011-0031-1>.
251. Pater D., Mullen J.L., McKay J.K., Schroeder J.I. (2017), Screening for natural variation in water use efficiency traits in a diversity set of *Brassica napus* L. identifies candidate variants in photosynthetic assimilation. *Plant and Cell Physiology*, 58(10), 1700-1709, <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx108>.
252. Paul M.J., Foyer C.H. (2001), Sink regulation of photosynthesis. *Journal of experimental botany*, 52(360), 1383-1400, <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.360.1383>.
253. Peltzer D.A., Köchy M. (2001), Competitive effects of grasses and woody plants in mixed-grass prairie. *Journal of Ecology*, 89(4), 519-527 <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00570.x>.
254. Peña-Olmos J.E., Casierra-Posada F., Olmos-Cubides M.A. (2014), The effect of high iron doses (Fe<sup>2+</sup>) on the growth of broccoli plants (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Agronomía Colombiana*, 32(1), 22-28, <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v32n1.42060>.
255. Pérez-de-Luque A., Rubiales D. (2009), Nanotechnology for parasitic plant control. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(5), 540-545.
256. Pérez-Pérez J.M., Esteve-Bruna D., Micol J.L. (2010), QTL analysis of leaf architecture. *Journal of plant research*, 123, 15-23, <https://doi.org/10.1007/s10265-009-0267-z>.
257. Pereira E.G., Oliva M.A., Rosado-Souza L., Mendes G.C., Colares D.S., Stopato C.H., Almeida A.M. (2013), Iron excess affects rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Plant Science*, 201, 81-92, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.12.003>.
258. Pezzarossa B., Rosellini I., Borghesi E., Tonutti P., Malorgio F. (2014), Effects of Se-enrichment on yield, fruit composition and ripening of tomato (*Solanum lycopersicum*) plants grown in hydroponics. *Scientia Horticulturae*, 165, 106-110, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.10.029>.
259. Piccolo E., Ceccanti C., Guidi L., Landi M. (2021), Role of beneficial elements in plants: implications for the photosynthetic process. *Photosynthetica*, 59(2), 349-360, <https://doi.org/10.32615/ps.2021.032>.
260. Piegat A. (2010), Synteza i właściwości nanostrukturalnych układów polimerowych dla inżynierii tkankowej (Doctoral dissertation, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie).
261. Pietkiewicz S., Wyszynski Z., Łoboda T. (2005). Współczynnik wykorzystania wody buraka cukrowego na tle wybranych czynników agrotechnicznych. *Fragmenta Agronomica*, 22(1), 521-529.

262. Pietrangelo A. (2010), Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology*, 139(2), 393-408, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.06.013>.
263. Pipan B., Sustar-Vozlic J., Meglic V. (2011), Cultivation, varietal structure and possibilities for cross-pollination of *Brassica napus* L. in Slovenia. *Acta agriculturae Slovenica*, 97(3), 247-258.
264. Pisa C., Parwada C., Chiripanyanga S., Dunjana N. (2020), Evaluation of vermiculite application rates on growth and yield of *Brassica napus* (RAPE). *Science*, 4(2), 27-31, <http://doi.org/10.26480/gws.02.2020.27.31>.
265. Poddar K., Sarkar D., Sarkar A. (2020), Nanoparticles on photosynthesis of plants: effects and role. *Green Nanoparticles: Synthesis and Biomedical Applications*, 273-287, [https://doi.org/10.1007/978-3-030-39246-8\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-030-39246-8_13).
266. Podleśna A. (2005), Nawożenie siarką jako czynnik kształtujący metabolizm roślin uprawnych i jakość płodów rolnych. *Pamiętnik Puławski*, 139, 161-174.
267. Podleśna A. (2013), Studia nad rolą siarki w kształtowaniu gospodarki mineralnej oraz wielkości i jakości plonu wybranych roślin uprawnych. Dział Upowszechniania i Wydawnictw Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy.
268. Ponka P. (1999), Cell biology of heme. *The American journal of the medical sciences*, 318(4), 241-256.
269. Poorter H., Van der Werf A.D.R.I.E. (1998), Is inherent variation in RGR determined by LAR at low irradiance and by NAR at high irradiance? A review of herbaceous species. *Inherent variation in plant growth. Physiological mechanisms and ecological consequences*, 309-336.
270. Poorter L. (1999), Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional ecology*, 396-410.
271. Pour Z.M., Sourestani M.M., Ansari N.A. (2016), Effects of foliar application of nano zinc chelate and zinc sulfate on zinc content, pigments and photosynthetic indices of holy basil (*Ocimum sanctum*). *Journal of Horticulture Science*, 30(2), <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v30i2.39348>.
272. Pradhan S., Mailapalli D.R. (2020), Nanopesticides for pest control. *Sustainable agriculture reviews* 40, 43-74, [https://doi.org/10.1007/978-3-030-33281-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-33281-5_2).
273. Prasad R., Kumar V., Prasad K.S. (2014a), Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. *African journal of Biotechnology*, 13(6), 705-713, <https://doi.org/10.5897/AJBX2013.13554>.
274. Prasad R., Shivay Y.S., Kumar D. (2014b), Agronomic biofortification of cereal grains with iron and zinc. *Advances in agronomy*, 125, 55-91, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800137-0.00002-9>.
275. Predicala B. (2009), Nanotechnology: potential for agriculture. *Prairie Swine Centre Inc, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK*, 123-134.
276. Pruszyński S. (2011), Integrowana produkcja rzepaku ozimego i jarego. *Rozpr. Nauk., IOR*, 10, 1-61.
277. Qian H., Peng X., Han X., Ren J., Sun L., Fu Z. (2013), Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ions on the growth of terrestrial plant model



- Arabidopsis thaliana*. *Journal of environmental sciences*, 25(9), 1947-1956, [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60301-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60301-5).
278. Qin S., Hu C., Tan Q., Sun X. (2017), Effect of molybdenum levels on photosynthetic characteristics, yield and seed quality of two oilseed rape (*Brassica napus* L.) cultivars. *Soil Science and Plant Nutrition*, 63(2), 137-144, <https://doi.org/10.1080/00380768.2017.1286232>.
  279. Rathke G. W., Behrens T., Diepenbrock W. (2006), Integrated nitrogen management strategies to improve seed yield, oil content and nitrogen efficiency of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): a review. *Agriculture, ecosystems & environment*, 117(2-3), 80-108, <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.04.006>.
  280. Reddy A.R., Chaitanya K.V., Vivekanandan M. (2004), Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant physiology*, 161(11), 1189-1202, <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.013>.
  281. Ren Y., Zhu J., Zhang H., Lin B., Hao P., Hua S. (2022), Leaf carbohydrate metabolism variation caused by late planting in rapeseed (*Brassica napus* L.) at reproductive stage. *Plants*, 11(13), 1696, <https://doi.org/10.3390/plants11131696>.
  282. Rice R. (2007), The physiological role of minerals in the plant. [In:] Datnoff LE, Elmer WE, Huber DM (red.) Mineral Nutrition and Plant Disease. The APS, St. Paul, MN.
  283. Rizwan M., Ali S., Qayyum M.F., Ok Y.S., Adrees M., Ibrahim M., Zia-ur-Rehman M., Farid M., Abbas F. (2017), Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. *Journal of hazardous materials*, 322, 2-16, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.061>.
  284. Roháček K. (2002), Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica*, 40, 13-29, <https://doi.org/10.1023/A:1020125719386>.
  285. Rossi L., Zhang W., Schwab A.P., Ma, X. (2017), Uptake, accumulation, and in Planta distribution of coexisting cerium oxide nanoparticles and cadmium in *Glycine max* (L.) Merr. *Environmental Science & Technology*, 51(21), 12815-12824, <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03363>.
  286. Rostami Hir M., Sheikhzadeh P., Khomari S., Zare N. (2023), Evaluation of photosynthetic and biochemical characteristics of oilseed rape under drought stress and MoO<sub>3</sub> nanoparticles application. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, <https://doi.org/10.22077/escs.2022.4611.2047>.
  287. Rudko T. (2011), Uprawa rzepaku ozimego, Rzepak- zasady uprawy-zdrowa żywność: poradnik dla producentów. Wydawnictwo Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN.
  288. Saeidnia S., Gohari A.R. (2012), Importance of *Brassica napus* as a medicinal food plant. *J. Med. Plants Res*, 6, 2700-2703.
  289. Sanches A.C., Gomes E.P., Ramos W.B., Mauad M., Santos S.D., Biscaro G.A. (2014), Produtividade da canola sob irrigação e doses de adubação nitrogenada. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18, 688-693, <https://doi.org/10.1590/S1415-43662014000700003>.
  290. Sarmast M.K., Salehi H. (2016), Silver nanoparticles: an influential element in plant nanobiotechnology. *Molecular Biotechnology*, 58, 441-449, <https://doi.org/10.1007/s12033-016-9943-0>.

291. Satawathananont S., Patrick W.H., Moore, P.A. (1991), Effect of controlled redox conditions on metal solubility in acid sulfate soils. *Plant and Soil*, 133, 281-290, <https://doi.org/10.1007/BF00009200>.
292. Schierholt A., Tietz T., Bienert G.P., Gertz A., Miersch S., Becker H.C. (2019), Root system size response of bzh semi-dwarf oilseed rape hybrids to different nitrogen levels in the field. *Annals of Botany*, 124(6), 891-901, <https://doi.org/10.1093/aob/mcy197>.
293. Schroeder J.I., Allen G.J., Hugouvieux V., Kwak J.M., Waner D. (2001), Guard cell signal transduction. *Annual review of plant biology*, 52(1), 627-658, <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.627>.
294. Shander A., Sazama K. (2010), Clinical consequences of iron overload from chronic red blood cell transfusions, its diagnosis, and its management by chelation therapy. *Transfusion*, 50(5), 1144-1155, <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02551.x>.
295. Shang Y., Hasan M.K., Ahammed G.J., Li M., Yin H., Zhou J. (2019), Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: a review. *Molecules*, 24(14), 2558, <https://doi.org/10.3390/molecules24142558>.
296. Sharma S., Goyal R., Sadana U.S. (2014), Selenium accumulation and antioxidant status of rice plants grown on seleniferous soil from Northwestern India. *Rice Science*, 21(6), 327-334, [https://doi.org/10.1016/S1672-6308\(14\)60270-5](https://doi.org/10.1016/S1672-6308(14)60270-5).
297. Shengxin C., Chunxia L., Xuyang Y., Song C., Xuelei J., Xiaoying L., Zhigang X., Rongzhan G. (2016), Morphological, photosynthetic, and physiological responses of rapeseed leaf to different combinations of red and blue lights at the rosette stage. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1144, <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01144>.
298. Sheykhabglou R., Sedghi M., Shishevan M.T., Sharifi R.S. (2010), Effects of nano-iron oxide particles on agronomic traits of soybean. *Notulae Scientia Biologicae*, 2(2), 112-113, <https://doi.org/10.15835/nsb224667>.
299. Shibuya T., Kano K., Endo R., Kitaya Y. (2018), Effects of the interaction between vapor-pressure deficit and salinity on growth and photosynthesis of *Cucumis sativus* seedlings under different CO<sub>2</sub> concentrations. *Photosynthetica*, 56, 893-900, <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0746-8>.
300. Shimazaki K.I., Doi M., Assmann S.M., Kinoshita T. (2007), Light regulation of stomatal movement. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 219-247, <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105434>.
301. Shipley B. (2002), Trade-offs between net assimilation rate and specific leaf area in determining relative growth rate: relationship with daily irradiance. *Functional ecology*, 16(5), 682-689, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2002.00672.x>.
302. Shipley B. (2006), Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis. *Functional Ecology*, 20(4), 565-574, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01135.x>.
303. Shorrocks V.M. (1997), The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and soil*, 193(1-2), 121-148, <https://doi.org/10.1023/A:1004216126069>.
304. Shukla P.K., Misra P., Kole C. (2016), Uptake, translocation, accumulation, transformation, and generational transmission of nanoparticles in plants. *Plant*

- Nanotechnology: Principles and Practices*, 183-218, [https://doi.org/10.1007/978-3-319-42154-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-42154-4_8).
305. Sienkiewicz-Cholewa U. (2005), Znaczenie boru i miedzi w uprawie rzepaku w kraju. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 26(1), 163-172.
  306. Sienkiewicz-Cholewa U., Stanisławska-Głubiak E. (2007), Rola mikroelementów w kształtowaniu wielkości i jakości plonu rzepaku ozimego. *Studia i Raporty Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego*, Puławy, 8: 111–125.
  307. Silva D.D., Daros E., Zambom J., Weber H., Ido O.T., Zuffellato-Ribas K.C., Koehler H.S., Oliveira R.A. (2005), Análise de crescimento em cultivares de cana-de-açúcar em Cana-Soca no Noroeste do Paraná na safra de 2002/2003. *Scientia Agraria*, 6(1-2), 47-53, <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v6i1.4593>.
  308. Sindelar A.J., Roozeboom K.L., Gordon W.B., Heer W.F. (2010), Corn response to delayed planting in the central Great Plains. *Agronomy journal*, 102(2), 530-536, <https://doi.org/10.2134/agronj2009.0311>.
  309. Singh A., Prasad S.M., Singh S. (2018a), Impact of nano ZnO on metabolic attributes and fluorescence kinetics of rice seedlings. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 9, 42-49, <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2017.11.006>.
  310. Singh H. (2016) Nanotechnology applications in functional foods; opportunities and challenges. *Preventive nutrition and food science*, 21(1), 1-8, <https://doi.org/10.3746/pnf.2016.21.1>.
  311. Singh H., Kumar D., Soni V. (2022), Performance of chlorophyll a fluorescence parameters in *Lemna minor* under heavy metal stress induced by various concentration of copper. *Scientific Reports*, 12(1), 10620.
  312. Singh J., Singh S.P., Kingra P.K. (2018b), Dynamic Growth Pattern of Biophysical Parameters of Rapeseed-Mustard Cultivars under Different Thermal Environments and Row Orientation. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 7(5), 435-448, <https://doi.org/10.20546/ijemas.2018.705.056>.
  313. Singh V., Singh H., Raghubanshi A.S. (2017), Effect of N application on emergence and growth of weeds associated with rice. *Tropical Ecology*, 58(4), 807-822.
  314. Smethurst C. F., Garnett T., Shabala S. (2005), Nutritional and chlorophyll fluorescence responses of lucerne (*Medicago sativa*) to waterlogging and subsequent recovery. *Plant and Soil*, 270, 31-45, <https://doi.org/10.1007/s11104-004-1082-x>.
  315. Snowdon R., Lühs W., Friedt W. (2007), Oilseed rape. *Oilseeds*, 55-114.
  316. Sonoike K. (2011), Photoinhibition of photosystem I. *Physiologia plantarum*, 142(1), 56-64, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2010.01437.x>.
  317. Sorin C., Musse M., Mariette F., Bouchereau A., Leport L. (2015), Assessment of nutrient remobilization through structural changes of palisade and spongy parenchyma in oilseed rape leaves during senescence. *Planta*, 241, 333-346, <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2182-3>.
  318. Spasibionek S., Mikołajczyk K., Bartkowiak-Broda I. (2011), Nowe typy rzepaku ozimego o ulepszonej jakości oleju – perspektywy i zastosowania. Konferencja

- Naukowa: Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych. Zakopane 7-11.02.2011. Streszczenia, 33.
319. Srivastava G., Das C.K., Das A., Singh S.K., Roy M., Kim H., Sethy N., Kumar A., Sharma R.K., Singh S.K. Philip D., Das M. (2014), Seed treatment with iron pyrite (FeS<sub>2</sub>) nanoparticles increases the production of spinach. *RSC Advances*, 4(102), 58495-58504, <https://doi.org/10.1039/C4RA06861K>.
  320. Starck Z. (1999), Niektóre aspekty zróżnicowania reakcji roślin na niekorzystne warunki środowiska-stare problemy, nowa interpretacja. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln*, 469, 145-159.
  321. Starck Z. (2008), Funkcja tkanek przewodzących: zaopatrzenie w substancje pokarmowe i udział w koordynacji procesów w roślinach. *Kosmos*, 57(1-2), 67-83.
  322. Stern D.I. (2005), Global sulfur emissions from 1850 to 2000. *Chemosphere*, 58(2), 163-175.
  323. Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Qiang S., Goltsev V. (2010), Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1797(6-7), 1313-1326, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.03.008>.
  324. Sulkiewicz M., Ciereszko I. (2016), Fluorescencja chlorofilu a- historia odkrycia i zastosowanie w badaniach roślin. *Kosmos*, 65(1), 103-115.
  325. Sułek K. (2003) Diagnostyka i leczenie niedokrwistości. W: Dmoszyńska A., Robak T. (red.) Podstawy hematologii. Wydawnictwo Czelej. s. 185-189
  326. Sun D., Xu H., Weng H., Zhou W., Liang Y., Dong X., He Y., Cen H. (2020), Optimal temporal-spatial fluorescence techniques for phenotyping nitrogen status in oilseed rape. *Journal of experimental botany*, 71(20), 6429-6443, <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa372>.
  327. Sun X.Z., Zheng C.S., Wang X.F. (2008), Effects of high temperature stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of cut flower chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* 'Jinba'). *Yingyong Shengtai Xuebao*, 19(10).
  328. Sylvester-Bradley R., Kindred D. R. (2009), Analysing nitrogen responses of cereals to prioritize routes to the improvement of nitrogen use efficiency. *Journal of experimental botany*, 60(7), 1939-1951, <https://doi.org/10.1093/jxb/erp116>.
  329. Szczeklik A. (2005), Choroby wewnętrzne. Kraków: Medycyna Praktyczna.
  330. Szewczuk C. (2013), Azot – ważne nie tylko dawki, ale też jego formy w nawozach. *Nasz rzepak* 2, 44-46.
  331. Szukalski H. (1979), Mikroelementy w produkcji roślinnej. Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 320 ss.
  332. Szulc W., Rutkowska, B. (2009), Nawozy mineralne jako źródło siarki w świetle trwałych doświadczeń nawozowych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, (538).
  333. Szymańska M. (2014), Rzepak-co przyniesie nowy sezon?. *Tygodnik Poradnik Rolniczy*, (23).
  334. Świdwińska-Gajewska A.M. (2007), Nanocząstki (część 1)– produkt nowoczesnej technologii i nowe zagrożenie w środowisku pracy. *Medycyna Pracy*, 58(3), 243-251.

335. Tahir I. S.A., Nakata N., Yamaguchi T., Nakano J., Ali A.M. (2009). Physiological response of three wheat cultivars to high shoot and root temperatures during early growth stages. *Plant Production Science*, 12(4), 409-419, <https://doi.org/10.1626/pp.s.12.409>
336. Tamary E., Nevo R., Naveh L., Levin-Zaidman S., Kiss V., Savidor A., Lewin J., Eyal Y., Reich Z., Adam Z. (2019), Chlorophyll catabolism precedes changes in chloroplast structure and proteome during leaf senescence. *Plant Direct*, 3(3), e00127, <https://doi.org/10.1002/pld3.127>.
337. Thiruvengadam M., Gurunathan S., Chung I.M. (2015), Physiological, metabolic, and transcriptional effects of biologically-synthesized silver nanoparticles in turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa* L.). *Protoplasma*, 252, 1031-1046, <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0738-5>,
338. Tighe-Neira R., Carmora E., Recio G., Nunes-Nesi A., Reyes-Diaz M., Alberdi M., Rengel Z., Inostroza-Blancheteau C. (2018), Metallic nanoparticles influence the structure and function of the photosynthetic apparatus in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 130, 408-417, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.07.024>.
339. Tighe-Neira R., Reyes-Diaz M., Nunes-Nesi A., Recio G., Carmona E., Corgne A., Rengel Z., Inostroza-Blancheteau C. (2020), Titanium dioxide nanoparticles provoke transient increase in photosynthetic performance and differential response in antioxidant system in *Raphanus sativus* L. *Scientia Horticulturae*, 269, 109418, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109418>.
340. Tomaszewska-Sowa M., Lisiecki K., Pańka D. (2022), Response of Rapeseed (*Brassica napus* L.) to Silver and Gold Nanoparticles as a Function of Concentration and Length of Exposure. *Agronomy*, 12(11), 2885, <https://doi.org/10.3390/agronomy12112885>.
341. Torres R., Diz V.E., Lagorio M.G. (2018), Effects of gold nanoparticles on the photophysical and photosynthetic parameters of leaves and chloroplasts. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 17(4), 505-516, <https://doi.org/10.1039/c8pp00067k>.
342. Trowbridge A.M., Stoy P.C. (2013), BVOC-mediated plant-herbivore interactions. *Biology, controls and models of tree volatile organic compound emissions*, 21-46, [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6606-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6606-8_2).
343. Tyksiński W., Komosa A. (2007), Wpływ chelatów żelaza na plonowanie i zawartość żelaza w salacie szklarniowej. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu. Ogrodnictwo*, 41, 637-641.
344. Tys J., Piekarski W., Jackowska I., Kaczor A., Zając G., Starobrat P. (2003), Technologiczne i ekonomiczne uwarunkowania produkcji biopaliwa z rzepaku. *Acta Agrophysica*, 99, 1-162.
345. Uddin S., Parvin S., Löw M., Fitzgerald G.J., Tausz-Posch S., Armstrong R., Tausz M. (2018), The water use dynamics of canola cultivars grown under elevated CO<sub>2</sub> are linked to their leaf area development. *Journal of plant physiology*, 229, 164-169, <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.08.001>.
346. Ullah I., Hanping M., Javed Q., Rasool G., Ali M., Azeem A., Saif M. (2020), Nitrogen Fertilization Effects on Growth, Leaf Gas Exchange and Chlorophyll Fluorescence of *Brassica juncea*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 24(5), 1070-1076.

347. USDA, 2016a, Oilseeds: World markets and trade. USDA-FAS September 2016. Available at: <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/fas/oilseed-trade//2010s/2016/oilseed-trade-09-12-2016.pdf> (accessed 10 February 2017).
348. USDA, 2016b, Oilseeds and Products Annual. GAIN Report AU1603. Available at: [https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual\\_Vienna\\_EU-28\\_4-1-2016.pdf](https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual_Vienna_EU-28_4-1-2016.pdf) (accessed 10 February 2017).
349. USDA, 2021, Oilseeds: World markets and trade, July 2021.
350. Vaghar M.S., Sayfzadeh S., Zakerin H.R., Kobraee S., Valadabadi S.A. (2020), Foliar application of iron, zinc, and manganese nano-chelates improves physiological indicators and soybean yield under water deficit stress. *Journal of Plant Nutrition*, 43(18), 2740-2756, <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1793180>.
351. Valadkhan M., Mohammadi K., Nezhad M.K. (2015), Effect of priming and foliar application of nanoparticles on agronomic traits of chickpea. In *Biological Forum*, 7(2), pp. 599-602.
352. Van Heerden P.D., Strasser R.J., Krüger G.H. (2004) Reduction of dark chilling stress in N<sub>2</sub>-fixing soybean by nitrate as indicated by chlorophyll a fluorescence kinetics. *Physiologia Plantarum*, 121(2), 239-249, <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.0312.x>.
353. Varga P., Ducsay L. (2011), Optimalizácia hnojenia kapusty repkovej pravej formy ozimnej (*Brassica napus* L.) dusíkom, sírou a bórom. *Nitra: SPU v Nitre*, 2011. 83 s. ISBN 978-80-552-0677-6.
354. Vattani H., Keshavarz N., Baghaei N. (2012), Effect of sprayed soluble different levels of iron chelate nano fertilizer on nutrient uptake efficiency in two varieties of spinach (Varamin88 And Virofly). *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 3(3), 2651-2656.
355. Vattani H., Vafaei N., Moghadam A.L., Keshavarz N. (2021), Research and Comparison of Different Levels of Fertilizer Nano Zinc Chelates and Zinc Sulfate and Its Effect on the Growth Parameters of Parsley (*Petroselinum crispum* L.). *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 3(1), 23-27, <https://doi.org/10.24018/ejfood.2021.3.1.220>.
356. Vazquez-Carrasquer V., Laperche A., Bissuel-Bélaygue C., Chelle M., Richard-Molard C. (2021), Nitrogen uptake efficiency, mediated by fine root growth, early determines temporal and genotypic variations in nitrogen use efficiency of winter oilseed rape. *Frontiers in Plant Science*, 12, 641459, <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.641459>.
357. Vranová E., Langebartels C., Van Montagu M., Inzé D., Van Camp W. (2000), Oxidative stress, heat shock and drought differentially affect expression of a tobacco protein phosphatase 2C. *Journal of Experimental Botany*, 51(351), 1763-1764. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.351.1763>.
358. Vwioko E.D., El-Esawi M.A., Imoni M.E., Al-Ghamdi A.A., Ali H.M., El-Sheekh M.M., Abdeldaym E.A., Al-Dosary M.A. (2019), Sodium azide priming enhances waterlogging stress tolerance in okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Agronomy*, 9(11), 679, <https://doi.org/10.3390/agronomy9110679>.

359. Wałkowski T. (2006), Rzepak jary. Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Poznań, 75 ss.
360. Wang C., Liu J., Xiao H., Zhou, J. (2016), Differences in leaf functional traits between *Rhus typhina* and native species. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 44(11), 1591-1597, <https://doi.org/10.1002/clen.201600144>.
361. Wang C., Zhang S.H., Wang P.F., Hou J., Zhang W.J., Li W., Lin Z.P. (2009), The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. *Chemosphere*, 75(11), 1468-1476, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.033>.
362. Wang C., Zhou J., Jiang K., Liu J. (2017), Differences in leaf functional traits and allelopathic effects on seed germination and growth of *Lactuca sativa* between red and green leaves of *Rhus typhina*. *South African Journal of Botany*, 111, 17-22, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.019>.
363. Wang H., Zhang C., Nie M., Cheng D., Chen J., Wang S., Lv J., Niu, Y. (2021), Effects of Foliar Application of Nano-Se On Photosynthetic Characteristics and Se Accumulation in *Paeonia Ostii*, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-951366/v1>.
364. Wang J., Xie H., Han J., Li J., Lin X., Wang X. (2022), Effect of graphene oxide-glyphosate nanocomposite on wheat and rape seedlings: Growth, photosynthesis performance, and oxidative stress response. *Environmental Technology & Innovation*, 27, 102527, <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102527>.
365. Wang S., Wu B.D., Wei M., Zhou J.W., Jiang K., Wang C.Y. (2020a), Silver nanoparticles with different concentrations and particle sizes affect the functional traits of wheat. *Biol Plantarum*, 64, 1-8, DOI:10.32615/bp.2019.122.
366. Wang Y., Lin Y., Xu Y., Yin Y., Guo H., Du W. (2019), Divergence in response of lettuce (var. *ramosa* Hort.) to copper oxide nanoparticles/microparticles as potential agricultural fertilizer. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 31(1), 80-84, <https://doi.org/10.1080/26395940.2019.1578187>.
367. Wang Z., Yue L., Dhankher O.P., Xing B. (2020b), Nano-enabled improvements of growth and nutritional quality in food plants driven by rhizosphere processes. *Environment International*, 142, 105831, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105831>.
368. Wang Z., Zhang L. (2012), Leaf shape alters the coefficients of leaf area estimation models for *Saussurea stoliczkae* in central Tibet. *Photosynthetica*, 50, 337-342, <https://doi.org/10.1007/s11099-012-0039-1>.
369. Weber E., Bleiholder H. (1990), Erläuterungen zu den BBCH-dezimal-codes für die Entwicklungsstadien von Mais, Raps, Faba-bohne, Sonnenblume und Erbse mit Abbildungen. *Gesunde Pflanzen*, 42(9), 308-321.
370. Weng X.Y., Xu H.X., Jiang D. A. (2005), Characteristics of gas exchange, chlorophyll fluorescence and expression of key enzymes in photosynthesis during leaf senescence in rice plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(5), 560-566, <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2005.00098.x>.
371. Weymann W., Böttcher U., Sieling K., Kage H. (2015), Effects of weather conditions during different growth phases on yield formation of winter oilseed rape. *Field Crops Research*, 173, 41-48, <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.01.002>.

372. Wielebski F. (2011), Wpływ nawożenia siarką w warunkach stosowania zróżnicowanych dawek azotu na skład chemiczny nasion różnych typów odmian rzepaku ozimego. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 32(1), 62-78.
373. Wójtowicz M. (2013), *Rola czynników środowiskowych i agrotechnicznych w kształtowaniu wielkości i jakości plonu rzepaku ozimego (Brassica napus L.)* (Doctoral dissertation, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin-Państwowy Instytut Badawczy).
374. Wróbel, J. (2002). Efekt stosowania mieszaniny nitrofenolanów i nitroguajakolanu w uprawie *Salix viminalis* L. prowadzonej na podłożu antropogenicznym. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 481(2).
375. Wu H., Li Z. (2022), Recent advances in nano-enabled agriculture for improving plant performance. *The Crop Journal*, 10(1), 1-12, <https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.06.002>.
376. Xiong X., Yu L., Yang W., Liu M., Jiang N., Wu D., Chen G., Xiong L., Liu K., Liu Q. (2017), A high-throughput stereo-imaging system for quantifying rape leaf traits during the seedling stage. *Plant Methods*, 13, 1-17, <http://doi.org/10.1186/s13007-017-0157-7>.
377. Xue Y.U., Huang J.X., Wang Y.B., Diao Z.W., Cai-Feng L.I., Gai Z.J., Feng-Ming M.A., NA University (2014), Effect of nitrogen on chlorophyll fluorescence of blade of sugar beet. *J Nucl Agric Sci*, 28, 1918-1923.
378. Yadav R.K., Singh N.B., Singh A., Yadav V., Bano C., Khare S. (2020), Expanding the horizons of nanotechnology in agriculture: Recent advances, challenges and future perspectives. *Vegetos*, 33, 203-221, <https://doi.org/10.1007/s42535-019-00090-9>.
379. Yan A., Chen Z. (2019), Impacts of silver nanoparticles on plants: a focus on the phytotoxicity and underlying mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1003, <https://doi.org/10.3390/ijms20051003>.
380. Yang F., Liu C., Gao F., Su M., Wu X., Zheng L., Hong F., Yang P. (2007), The improvement of spinach growth by nano-anatase TiO<sub>2</sub> treatment is related to nitrogen photoreduction. *Biological trace element research*, 119, 77-88, <https://doi.org/10.1007/s12011-007-0046-4>.
381. Yang X., Alidoust D., Wang C. (2020), Effects of iron oxide nanoparticles on the mineral composition and growth of soybean (*Glycine max* L.) plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42, 1-11, <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03104-1>.
382. Yin H.L., Tian C.Y. (2013), Effects of nitrogen regulation on photosystem II chlorophyll fluorescence characteristics of functional leaves in sugar beet (*Beta vulgaris*) under salt environment. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 37(2), 122, DOI: 10.3724/SP.J.1258.2013.00013.
383. Ylivainio K., Jaakkola A., Aksela R. (2004), Effects of Fe compounds on nutrient uptake by plants grown in sand media with different pH. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 167(5), 602-608, <https://doi.org/10.1002/jpln.200420412>.
384. Yoon S.J., Kwak J.I., Lee W.M., Holden P.A., An Y.J. (2014), Zinc oxide nanoparticles delay soybean development: a standard soil microcosm study. *Ecotoxicology and environmental safety*, 100, 131-137, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.10.014>.



385. Zadoks J.C., Chang T.T., Konzak C.F. (1974), A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed research*, 14(6), 415-421.
386. Zapletalová, A., Ducsay, L., Varga, L., Sitkey, J., Javoreková, S., & Hozlár, P. (2022). Influence of nitrogen nutrition on fatty acids in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plants*, 11(1), 44.
387. Zarate-Cruz G.S., Zavaleta-Mancera H.A., Alarcón A., Jiménez-García L.F. (2016), Fitotoxicidad de nanopartículas de ZnO en el helecho acuático *Azolla filiculoides* Lam. *Agrociencia*, 50(6), 677-691,
388. Zargari A. (2001), Medicinal Plants, Vol 1, 5th Edn, Tehran University Publications, Tehran.
389. Zhang N., Xiong G., Liu Z. (2022), Toxicity of metal-based nanoparticles: Challenges in the nano era. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1001572>.
390. Zhao L., Sun Y., Hernandez-Viezcas J.A., Hong J., Majumdar S., Niu G., Duarte-Gardea M., Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J.L. (2015), Monitoring the environmental effects of CeO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles through the life cycle of corn (*Zea mays*) plants and in situ  $\mu$ -XRF mapping of nutrients in kernels. *Environmental science & technology*, 49(5), 2921-2928, <https://doi.org/10.1021/es5060226>.
391. Zheng S.J. (2010), Iron homeostasis and iron acquisition in plants: maintenance, functions and consequences. *Annals of botany*, 105(5), 799-800, <https://doi.org/10.1093/aob/mcq082>.
392. Zukalová H., Matula J., Kuchtová P., Miksik V. (2001), Influence of sulphur on the yield and quality of winter oilseed rape. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 22(2).
393. Zulfikar F., Navarro M., Ashraf M., Akram N.A., Munné-Bosch S. (2019), Nanofertilizer use for sustainable agriculture: Advantages and limitations. *Plant Science*, 289, 110270, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110270>.

### Strony internetowe

1. <http://akademiarzepaku.pl/informacje-ze-swiatowego-rynku-rzepaku-2/>
2. <https://www.americanelements.com/iron-nanoparticles-7439-89-6>
3. <http://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/tag00100/default/table?lang=en>
4. <http://fertyga.pl/komputerowy-system-nawadniania-fertyga/>
5. <https://nawozy.eu/wiedza/leksykon-nawozenia/rola-skladnikow-pokarmowych/transport-i-objawy-niedoboru-molibdenu.html>
6. <http://www.perlit.pl/oferta/perlit/ep200>
7. <https://pl.lisungroup.com/news/technology-news/about-par-ppf-and-ppfd.html>
8. <https://www.pol-eko.com.pl/komory-fitotronowe/komora-klimatyczna-fitotronowa-kk-400-fit-p/>
9. <https://polifoska.pl/porady/162-bor-kluczowy-mikroskladnik-w-odzywianiu-rzepaku-ozimego>
10. <https://polifoska.pl/porady/177-magnez-kluczowym-pierwiastkiem-w-uprawie-roslin>
11. <https://polifoska.pl/porady/186-zapotrzebowanie-roslin-na-mangan>

12. [http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory\\_service/deficiency\\_symptoms/oilseed\\_rape-k.html](http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory_service/deficiency_symptoms/oilseed_rape-k.html)
13. [http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory\\_service/deficiency\\_symptoms/oilseed\\_rape-n.html](http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory_service/deficiency_symptoms/oilseed_rape-n.html)
14. [http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory\\_service/deficiency\\_symptoms/oilseed\\_rape-p.html](http://www.kali-gmbh.com/plpl/fertiliser/advisory_service/deficiency_symptoms/oilseed_rape-p.html)
15. [http://www.kowr.gov.pl/uploads/pliki/analizy/miesieczne/Nr%201\\_2018\\_KOWR\\_rynek%20rzepaku.pdf](http://www.kowr.gov.pl/uploads/pliki/analizy/miesieczne/Nr%201_2018_KOWR_rynek%20rzepaku.pdf)
16. <http://www.minrol.gov.pl/Ministerstwo/Biuro-Prasowe/Informacje-Prasowe/Rynek-rzepaku>
17. <https://www.topagrar.pl/articles/aktualnosci-branzowe-uprawa/bez-siarki-azot-nie-dziala/>
18. <https://www.tygodnik-rolniczy.pl/articles/uprawa/nie-ma-wapnia-sa-choroby/?page=1#lead>

## **EFEKTY RÓŻNYCH APLIKACJI NANOCZĄSTEK ŻELAZA NA ROŚLINY RZEPAKU (*Brassica napus* var. *oleifera*) WE WCZESNYCH FAZACH WZROSTOWO-ROZWOJOWYCH**

### **Streszczenie**

Nanotechnologia w rolnictwie pozwala na wprowadzenie do uprawy roślin nowych, przypuszczalnie skutecznych nawozów mineralnych, pestycydów a także regulatorów wzrostu. Natomiast żelazo jest jednym z podstawowych mikroelementów, które wpływa na wzrost roślin oraz odgrywa ważną rolę w reakcjach fotosyntetycznych. Właściwe odżywianie roślin Fe wpływa na wielkość i jakość plonu nasion rzepaku. W latach 2014–2017 przeprowadzono trzy serie doświadczeń wazonowych oraz laboratoryjnych. Poszczególne serie doświadczeń prowadzono na roślinach rzepaku jarego wyhodowanego w kulturach *in vitro*, w perlicie oraz ziemi ogrodniczo-uprawnej. Badania dotyczyły określenia wpływu stosowania różnych dawek (5, 10, 25, 50, 100, 500 ppm) nanocząstek żelaza aplikowanych do podłoża lub nalistnie na cechy wymiany gazowej liści, parametry fotosyntetycznego współczynnika wykorzystania wody, zawartość: chlorofilu, żelaza oraz magnezu, a także wskaźniki wzrostu i rozwoju roślin i właściwości fizyczne korzeni rzepaku. Celem badań było określenie wpływu żelaza na procesy fizjologiczne, parametry fotosyntezy (fluorescencja chlorofilu a), cechy biometryczne liści i korzeni oraz zawartości suchej masy, chlorofilu, żelaza i magnezu w rzepaku w różnych fazach rozwojowych w zależności od rodzaju aplikacji i dawki nanoFe. Uzyskane wyniki wskazują, że najwyższą aktywność fizjologiczną rzepaku jarego uprawianego w perlicie uzyskano w fazie rozwoju liści. Natomiast największą intensywność asymilacji CO<sub>2</sub>, transpiracji oraz przewodność aparatów szparkowych uzyskano po zastosowaniu 25 ppm nanocząstek żelaza w początkowych fazach rozwojowych eksplantatów rzepaku jarego. Rzepak jary i ozimy uprawiany w ziemi ogrodniczo-uprawnej wykazywał wzrost parametrów wykorzystania wody w późniejszych fazach rozwoju roślin. Każda zastosowana dawka nanoFe spowodowała wzrost WUE i WUEI rzepaku jarego uprawianego w ziemi ogrodniczo-uprawnej. Natomiast eksplantaty rzepaku wykazały gwałtowny wzrost o 25% wskaźnika fotosyntezy WUEI od fazy BBCH 51 przy dawce nanoFe 50 ppm. Najmniejsze korzystne wskaźniki fluorescencji początkowej oraz największe fluorescencji maksymalnej uzyskał rzepak w początkowym okresie wzrostu uprawiany w perlicie oraz w ziemi ogrodniczo-uprawnej, niezależnie od stosowania nanocząstek żelaza. Natomiast stosowanie nanoFe w ilości 10 ppm pozytywnie wpłynęło na rzepak jary uprawiany w perlicie oraz ziemi ogrodniczo-uprawnej dla liści najmłodszych oraz w początkowej fazie rozwoju roślin w liściach najstarszych. Ponadto po zastosowaniu nanoFe w zakresie dawek 50-500 ppm w kulturach *in vitro* z roślinami rzepaku jarego otrzymano w późniejszych fazach rozwojowych (BBCH 41) istotny wzrost wskaźnika F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>. Uzyskano najwyższe wartości maksymalnej wydajności fotoukładu PSII wskazujące na złagodzenie stresu u roślin (wartości powyżej 0,800). Parametry wzrostu

eksplantatów rzepaku jarego zależały nie tylko od fazy rozwoju roślin, ale także od zastosowanych dawek nanocząstek żelaza. Najwyższe wartości SLA, NAR i RGR uzyskano po zastosowaniu w kulturach *in vitro* odpowiednio: 50, 500 i 100 ppm nanoFe. Największe wartości parametrów wzrostu rzepaku, w tym powierzchnia liści oraz zawartości suchej masy: liści i pędu głównego, zaobserwowano w roślinach traktowanych nanoFe a następnie żelazem chelatowym. Najlepszą w tym zakresie dawką nanożelaza zastosowaną do podłoża w kulturach *in vitro* była aplikacja 50 ppm. Rzepak jary uprawiany w perlicie wykazał się na ogół mniejszą koncentracją Fe w liściach. Ponadto, największą zawartością żelaza cechowały się nie tylko całe eksplantaty rzepaku jarego ale wszystkie analizowane organy roślin po zastosowaniu nanoFe w dawce 500 ppm. Poprawa akumulacji Mg oraz Fe w liściach roślin uprawianych w perlicie i ziemi ogrodniczo-uprawnej wynikała z większego wzrostu korzeni rzepaku po aplikacji nanocząstkami żelaza. Najkorzystniejszymi parametrami całkowitej: powierzchni, powierzchnia przeliczeniowej, objętość oraz średnicy korzeni rzepaku jarego w fazie rozwoju liści cechowały się rośliny po aplikacji 25 ppm nanoFe. Natomiast w fazie kwitnienia rzepaku uzyskano najkorzystniejsze parametry korzeni stosując do pożywek nanocząstki żelaza w dawkach 50 oraz 100 ppm. Najlepsze liczby: korzonków, rozgałęzień i skrzyżowanych korzeni otrzymano po zastosowaniu 100 ppm nanoFe w fazie rozwoju liści rzepaku jarego a po aplikacji nanocząstek żelaza w dawce 25 ppm w fazie kwitnienia. Po zastosowaniu nanocząstek żelaza w dawce 5 ppm na rośliny uprawiane w ziemi ogrodniczo-uprawnej uzyskano na ogół korzystny wzrost wszystkich badanych parametrów rzepaku jarego.

## **EFFECTS OF VARIOUS APPLICATION OF NANO IRON IN THE EARLY STAGES OF GROWTH AND DEVELOPMENT OF RAPESEED PLANTS (*Brassica napus* var. *oleifera*)**

### **Summary**

Nanotechnology in agriculture allows the application of new, presumably effective mineral fertilizers, pesticides and growth regulators into plant cultivation. Iron, is one of the basic micronutrients that affects plant growth and plays an important role in photosynthetic reactions. Proper plant nutrition with Fe affects the quantity and quality of rapeseed yield. In the years 2014–2017, three series of pot and laboratory experiments were carried out on spring rape plants grown *in vitro* cultures, in perlite and horticultural and agricultural soil. The study concerned the determination of the effect of using different doses (5, 10, 25, 50, 100, 500 ppm) of iron nanoparticles applied to the substrate or foliar on the characteristics of gas exchange of leaves, the parameters of the photosynthetic water utilization coefficient, the content of: chlorophyll, iron and magnesium, as well as plant growth and development indexes and physical properties of rapeseed roots. The purpose of the research was to determine the effect of nano iron on physiological processes, photosynthesis parameters (chlorophyll a fluorescence), biometric features of leaves and roots, and the content of dry matter, chlorophyll, iron and magnesium in rapeseed in various development stages depending on the type of application and dose of nanoFe. The obtained results indicate that the highest physiological activity of spring rape grown in perlite was obtained in the phase of leaf development. However, the highest intensity of CO<sub>2</sub> assimilation, transpiration and stomatal conductivity was obtained after the application of 25 ppm iron nanoparticles in the early stages of development of spring rapeseed explants.

The cultivars of spring and winter rapeseed cultivated in horticultural and agricultural soil showed an increase in water use parameters in the later stages of plant development. Each applied dose of nanoFe caused an increase in WUE and WUEI of spring oilseed rape. Moreover, rapeseed explants showed an intensive increase of 25% in the WUEI photosynthetic index from BBCH 51 phase at a nanoFe dose of 50 ppm. The lowest favorable indices of initial fluorescence and the highest maximum fluorescence were obtained by rapeseed in the initial period of growth, cultivated in perlite and in horticultural and agricultural soil, regardless of the use of iron nanoparticles. On the other hand, the use of nanoFe in the amount of 10 ppm had a positive effect on spring rape grown in perlite and horticultural and agricultural soil for the youngest leaves and in the initial phase of plant development in the oldest leaves. Moreover, after applying nanoFe in the dose range of 50-500 ppm in *in vitro* cultures with spring rape plants, a significant increase in the FV/FM index was obtained in later development stages (BBCH 41). The highest values of the maximum efficiency of the PSII photosystem were obtained, indicating stress relief in plants (values above 0.800). Growth parameters of spring rape explants depended both on the stage and the doses of iron

nanoparticles. The highest values of SLA, NAR and RGR were obtained after using *in vitro* cultures, respectively: 50, 500 and 100 ppm nanoFe. The highest values of rapeseed growth parameters, including leaf area and dry matter content of leaves and main shoot, were observed in plants treated with nanoFe and then with chelate iron. The most effective dose of nanoiron applied to *in vitro* cultures in this respect was the application of 50 ppm. Spring oilseed rape grown in perlite showed generally lower concentration of Fe in leaves. In addition, the application of nanoFe at a dose of 500 ppm caused the highest iron content at whole explants of spring rape, and in individual plant organs. The improvement of Mg and Fe accumulation in the leaves of plants grown in perlite and horticultural and agricultural soil resulted from the greater growth of rapeseed roots after application with iron nanoparticles. The most favorable parameters of the total area, conversion area, volume and diameter of spring rape roots in the phase of leaf development were found in plants after the application of 25 ppm nanoFe. On the other hand, in the flowering phase of rapeseed, the most favorable root parameters were obtained by using iron nanoparticles at doses of 50 and 100 ppm. The highest number of: roots, branches and crossed roots were obtained after applying 100 ppm nanoFe in the development phase of spring oilseed rape leaves and after applying iron nanoparticles at a dose of 25 ppm in the flowering phase. After applying iron nanoparticles at a dose of 5 ppm to plants grown in horticultural and agricultural soil, a generally favorable increase in all tested parameters of spring rape was obtained.