

ABSTRACT

High public awareness directly translates into dietary decisions and the amount of consumption of health-promoting products. Such products undoubtedly include highbush blueberries. The berries of this plant contain a large amount of phytochemicals, especially anthocyanins. With the growing demand for consumption, the rapid production of these fruits and seedlings must go hand in hand at the same time. In order to produce a large quantity of good quality plants, it is necessary to use proven methods and technologies that allow for predictable, reliable results. One such method is plant *in vitro* cultures, which allow the mass multiplication of genetically identical plants on a large scale. Proper agrotechnology also influences the growth of certain consumer-desired substances contained in fruit, which include polyphenols. It is important that the solutions used are of organic origin and have a beneficial, or at least neutral, effect on the environment.

The high genetic variability within the species *Vaccinium corymbosum*, means that there are no universal additives that will have a uniformly stimulating effect on desirable plant traits.

The scientific objective of the dissertation was to develop an effective method for micropropagation of three cultivars of highbush blueberry and to study the effects of physicochemical factors and functional additives of natural origin on plant growth and development under phytotron conditions.

With these objectives in mind, a series of studies was conducted, which included the development of an optimal medium for the initiation, multiplication and rooting of highbush blueberry plants. At the micropropagation stage, the effects of the silicon preparation (Hydroplus™ Actisil), organic additives and pH of the substrate on the development of *Vaccinium corymbosum* plants were also tested. The next stage of the research was the acclimatization of plants to *ex vitro* conditions.

In addition, highbush blueberry fruits were also tested. The effect of chitosan-based sprays on the quality of highbush blueberry fruit was studied, and the effect of irrigation, berry size and fruit preparation technology on freeze-drying and rehydration was checked.

Taking into account the economic aspect, which is important in crop production, a cost calculation of the application of different types of light in the propagation of highbush blueberry plants under phytotron conditions was carried out. Further experiments are needed to globally assess the possibility of introducing savings into production, obtaining the best quality plant cuttings for industrial breeding.

In conclusion, the completed research cycle has made it possible to develop an *in vitro* culture propagation protocol for selected varieties of highbush blueberry and to explore its biology. This protocol can be used for the production of certified vegetative material or various biotechnological purposes.

Key words: highbush blueberry, micropropagation, *in vitro* culture, zeatin, chitosan, LED light, polyphenols, freeze-drying.

Monika Tajan - Kuczyńska
10.05.2023

STRESZCZENIE

Wysoka świadomość społeczeństwa bezpośrednio przekłada się na decyzje żywieniowe i wielkość spożycia produktów prozdrowotnych. Do takich produktów niewątpliwie należą owoce borówki wysokiej. Jagody tej rośliny zawierają dużą ilość fitochemikaliów, a zwłaszcza antocyjanów. Wraz z rosnącym popytem na spożycie, w parze musi iść równocześnie szybka produkcja tych owoców i sadzonek. Chcąc wyprodukować dużą ilość dobrej jakości roślin należy stosować sprawdzone metody i technologie, które pozwalają na przewidywalne, pewne wyniki. Jedną z takich metod są roślinne kultury *in vitro*, które pozwalają na masowe mnożenie genetycznie identycznych roślin na szeroką skalę. Odpowiednia agrotechnika wpływa również na wzrost niektórych pożądaných przez konsumentów substancji zawartych w owocach, jakimi są między innymi polifenole. Istotne jest by zastosowane rozwiązania były pochodzenia organicznego, a także miały korzystny, bądź przynajmniej obojętny wpływ na środowisko.

Duża zmienność genetyczna w obrębie gatunku *Vaccinium corymbosum*, powoduje, że nie istnieją uniwersalne dodatki, które w jednakowy sposób będą wpływały stymulująco na pożądane cechy roślin.

Celem naukowym pracy doktorskiej było opracowanie efektywnej metody mikrorozmnażania trzech odmian borówki wysokiej oraz zbadanie wpływu czynników fizykochemicznych oraz dodatków funkcyjnych pochodzenia naturalnego na wzrost i rozwój roślin w warunkach fitotronu.

Mając na uwadze powyższe cele, przeprowadzono cykl badań, które obejmowały opracowanie optymalnego podłoża dla inicjacji, namnażania oraz ukorzeniania roślin borówki wysokiej. Na etapie mikrorozmnażania przetestowano także oddziaływanie preparatu krzemowego (Hydroplus™ Actisil), dodatków organicznych i pH podłoża na rozwój roślin *Vaccinium corymbosum*. Kolejny etap badań stanowiła aklimatyzacja roślin do warunków *ex vitro*.

Ponadto, badaniom poddano także owoce borówki wysokiej. Przebadano wpływ oprysków opartych na chitozanie na jakość owoców borówki wysokiej oraz sprawdzono wpływ nawadniania, wielkości jagód i technologii przygotowania owoców na liofilizację i ich rehydratację.

Mając na uwadze istotny w produkcji roślinnej aspekt ekonomiczny, przeprowadzono kalkulację kosztów zastosowania różnych rodzajów światła w namnażaniu roślin borówki wysokiej w warunkach fitotronu. Niezbędne są dalsze doświadczenia, które pozwolą

na globalną ocenę możliwości wprowadzenia oszczędności do produkcji, uzyskując najlepszej jakości sadzonki roślin do hodowli przemysłowej.

Podsumowując, zrealizowany cykl badań umożliwił opracowanie protokołu rozmnażania w kulturach *in vitro* wybranych odmian borówki wysokiej oraz pozwolił zgłębić wiedzę nad jej biologią. Protokół ten może być stosowany do produkcji certyfikowanego materiału wegetatywnego lub różnych celów biotechnologicznych.

Słowa kluczowe: borówka wysoka, mikrorozmnażanie, kultury *in vitro*, zeatyna, chitozan, światło LED, polifenole, liofilizacja.

Monika Fijał - Koczuska
10.05.2023



UNIwersYTET KAZIMIERZA WIELKIEGO
W BYDGOSZCZY

WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH
Katedra Biologii Środowiska
dr hab. Justyna Lema-Rumińska, prof. uczelni



Al. Ossolińskich 12, 85-093 Bydgoszcz, tel. (52) 34 19 000 (w.118)
e-mail:

Bydgoszcz, 12.08.2023 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Monika Figiel-Kroczyńska

pt. „Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)”

Recenzja rozprawy doktorskiej została wykonana na podstawie uchwały nr 1 Komisji Doktorskiej, powołanej uchwałą nr 132 Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 29 maja 2023 roku, przekazanej pismem z dnia 7. czerwca 2023 r. przez Pana prof. dr hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego, Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa ZUT w Szczecinie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani **mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej**, doktorantki Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa ZUT w Szczecinie, przygotowana została pod kierunkiem Pana dr hab. inż. Ireneusza Ochmiana, prof. ZUT. Promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim była Pani dr hab. inż. Marcelina Krupa-Małkiewicz, prof. ZUT.

Rozprawa składa się z cyklu 5 powiązanych tematycznie publikacji pod wspólnym tytułem: **Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)**. W skład cyklu wchodzi artykuły naukowe opublikowane w latach 2020-2022.

Trzy artykuły (z pięciu) wchodzące w skład rozprawy posiadają tzw. współczynnik wpływu *Impact Factor* (IF), który łącznie wyniósł 2.709 (jeden artykuł w *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* oraz dwa w *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*). Pozostałe artykuły zostały opublikowane w czasopismach: *Acta Universitatis Cinbiensis, Series E: Food Technology* oraz *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*. Łączna liczba punktów zgodna z rokiem opublikowania prac wg listy MEiN wyniosła 450.

świadczy o istotnym wkładzie w powstanie tych prac (potwierdzają to również oświadczenia autorów). Ponadto w jednej pracy Doktorantka jest także autorem korespondencyjnym.

Praca doktorska składa się z sześciu rozdziałów. Cykl publikacji poprzedzony jest opisem składającym się ze Streszczenia w j. polskim, Abstraktu w j. angielskim, Dorobku naukowego przedstawionego w tabeli oraz sześciu rozdziałów (1 – Wstęp teoretyczny, 2 - Cel badań, 3 – Materiał i metody badań, 4 - Omówienie wyników badań, 5 - Wnioski, 6 – Literatura). Do rozprawy dołączone zostały także kopie artykułów naukowych stanowiących cykl publikacji powiązanych tematycznie i oświadczenia autorów.

Tytuł rozprawy został trafnie określony i spaja cały cykl publikacji powiązanych z tematem rozmnażania i jakości owoców borówki wysokiej.

We Wstępie Doktorantka scharakteryzowała gatunek borówkę wysoką (syn. borówka amerykańska, łac. *Vaccinium corymbosum* L.) oraz omówiła krótko historię jego hodowli oraz uprawy na świecie oraz w Polsce. Następnie przeanalizowała właściwości prozdrowotne owoców oraz występujące w nich związki bioaktywne. Ponadto Autorka omówiła problemy związane z zapotrzebowaniem producentów na wysokiej jakości materiał rozmnożeniowy i rolę mikrorozmnażania oraz badań w tym zakresie. Zastosowanie kultur *in vitro* eliminuje ograniczenia związane z tradycyjnym rozmnażaniem sadzonek, stanowiąc alternatywę dla szybkiej, pozbawionej kontaminacji produkcji genetycznie identycznych roślin przez cały rok, co zwiększa opłacalność produkcji. Odpowiednia agrotechnika wpływa również na wzrost niektórych pożądaných przez konsumentów substancji zawartych w owocach, jakimi są między innymi polifenole. W rozdziale tym zostały także poruszone zagadnienia związane z wymaganiami konsumentów oraz czynnikami (bezpiecznymi dla zdrowia i środowiska) mogącymi wpłynąć pozytywnie na jakość owoców. We Wstępie poruszono także zagadnienia związane z alternatywnymi do suszenia możliwościami przetwórstwa owoców małych, pozostających na krzewach (stanowiących około 15% zbiorów). Jako bardziej przydatne zostało zaproponowane rozwiązanie liofilizacji, która umożliwia w większym stopniu niż suszenie zachowanie wartości odżywczych oraz długie przechowywanie owoców.

Głównym celem naukowym pracy doktorskiej było opracowanie efektywnej metody mikrorozmnażania trzech odmian borówki wysokiej oraz zbadanie wpływu czynników fizykochemicznych oraz dodatków funkcyjnych pochodzenia naturalnego na wzrost i rozwój roślin w warunkach laboratoryjnych. Cele szczegółowe obejmowały: opracowanie protokołu mikrorozmnażania borówki wysokiej dla wybranych odmian; opracowanie optymalnego składu pożywki do rozmnażania wybranych odmian w kulturach *in vitro*; określenie wpływu Actisilu (Hydroplus™), dodatków organicznych i pH podłoża na mikrorozmnażanie; ocena

skuteczności ukorzeniania roślin/pędów w warunkach *in vitro* oraz ich aklimatyzację do warunków *ex vitro*; analiza ekonomicznych aspektów produkcji (źródło światła, możliwość zastąpienia drogich dodatków tańszymi odpowiednikami, wykorzystanie owoców niekomercyjnych) w celu uzyskania zadowalającego zwrotu z inwestycji; ocena możliwości użycia naturalnych i ekologicznych dodatków w produkcji roślin i owoców; ocena wpływu różnych rodzajów światła na wzrost i skład fizykochemiczny; porównanie skuteczności dwóch metod przechowywania owoców; określenie wpływu oprysku chitozanem na jakość owoców; porównanie wpływu zależności wielkości owoców oraz metody przygotowania na jakość liofilizowanych owoców.

Uważam, że podjęta problematyka badawcza związana z doskonaleniem metod mikrorozmnażania borówki wysokiej oraz oceną jakości owoców jest całkowicie zasadna i posiada wysoki potencjał aplikacyjny.

W rozdziale 3 Doktorantka przedstawiła materiały i metody wykorzystane w badaniach. Badania nad mikrorozmnażaniem i aklimatyzacją mikrosadzonek przeprowadzono w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Materiał roślinny stanowiły młode, zdrowe, intensywnie rosnące pędy trzech odmian borówki wysokiej ('Elizabeth', 'Liberty' i 'Meader'), pochodzące z krzewów uprawianych na ekologicznej plantacji położonej około 60 km na wschód od Szczecina. Szczegółowo omówione zostały metody dezynfekcji pędów i inicjacji kultur tkankowych oraz namnażanie a następnie ukorzenianie pędów na różnych pożywkach z dodatkiem różnych kombinacji regulatorów wzrostu.

Doświadczenie w „fitotronie” przeprowadzono w gospodarstwie towarowym produkującym sadzonki borówki wysokiej w gminie Dobrzany (woj. zachodniopomorskie). Zastosowano tu różne źródła światła m.in. lampy LED biała zimna, przy $52 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotosyntetycznej gęstości strumienia fotonów (PPFD), Lampa LED Flora dla roślin, światło przy $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD; lampa rtęciowa z luminoforem L 36W/84 zimna biel, światło $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD; oraz lampa rtęciowa z luminoforem TLD 36W/16, czerwona, światło $13 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Liofilizację owoców przeprowadzono w Katedrze Ogrodnictwa ZUT w Szczecinie. Owoce pochodziły z dwóch gospodarstw (plantacja A i B) specjalizujących się w uprawie borówki wysokiej, położonych około 25 km na wschód od Szczecina, w Puszczy Goleniowskiej.

borówki wysokiej, położonych około 25 km na wschód od Szczecina, w Puszczy Goleniowskiej.

W procesie liofilizacji i rehydratacji owoce przed suszeniem zostały wstępnie zamrożone w temperaturze -35°C przez około 1-2 godziny. Następnie jagody poddano liofilizacji. Użyto do tego celu liofilizatora Christ model Alpha 1-2. Owoce rozdrobniono w zamkniętym młynku laboratoryjnym. W celu skrócenia czasu suszenia, owoce były wcześniej:

- a. nakłuwane igłą o średnicy 1 mm na głębokość ok 3-4 mm - wykonano 6 nakłuć na obwodzie owoców małych (<6 mm), większych (>6) 8 nakłuć,
- b. przecięte na pół wzdłuż osi średnicy,
- c. cały owoc - kontrola.

Związki fenolowe oznaczono przy użyciu systemu UPLC-PDA-MS/MS Waters ACQUITY (Waters, Milford, MA, USA).

Stężenie proliny oznaczono według metody Batesa i in. (1973) przy użyciu spektrofotometru przy 520 nm w świeżych liściach borówki i obliczono jako $\mu\text{mol g}^{-1}$ świeżej masy. Zawartość dialdehydu malonowego (MDA, produktu peroksydacji lipidów) w tkance roślinnej oznaczono metodą opisaną przez Sudhakara i in. (2001). Stężenie MDA obliczono z absorbancji przy 600, 532 i 450 nm.

Aktywność katalazy (CAT) oznaczono według procedury Lücka (1963). Zawartość pierwiastków N, P, K i Ca w liściach oznaczono po mineralizacji na mokro w H_2SO_4 , natomiast Cu, Zn, Mn i Fe oznaczono po mineralizacji w HNO_3 (65%) i HClO_4 (70%) wg IUNG 1972. Stężenie azotu całkowitego oznaczono metodą destylacji Kjeldahla (Lityński i in., 1976). Zawartość K zmierzono za pomocą atomowej spektrometrii emisyjnej natomiast zawartość Mg, Ca, Cu, Zn, Mn i Fe mierzono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu. Zawartość P oszacowano metodą kolorymetryczną.

Analizę stopnia porażenia owoców przez grzyby (drożdże i pleśnie) oparto na normie europejskiej ISO 70. Po wyhodowaniu inokulacji grzybów tworzących zarodniki próbki poddano ocenie taksonomicznej tradycyjną metodą obserwacji makroskopowej kolonii oraz obserwacji mikroskopowej zarodników i włókien.

Mikotoksyny oznaczano za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej – tandemowej spektrometrii masowej (HPLC-MS/MS). Barwę (kolor) liści (ze środkowej części pędu) mierzono w trybie transmisji metodą fotokolorymetryczną w systemie CIE $L^*a^*b^*$ przy użyciu spektrofotometru CM-700d (Konica Minolta, Osaka, Japonia).

Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 12.5 i 13.0 (StatSoft Polska, Kraków, Polska). Istotność statystyczną różnic między średnimi

określono testując jednorodność wariancji i normalności rozkładu, a następnie ANOVA z testem post hoc Tukeya. Istotność ustalono na $p < 0,05$.

W mojej opinii materiał i metody zostały właściwie dobrane i opisane przez Doktorantkę.

W kolejnym rozdziale Doktorantka omówiła wyniki badań zawartych w publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe.

W publikacji 1 pt. „Efficient micropropagation protocol of three cultivars of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) opublikowanej w czasopiśmie *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* celem przeprowadzonych badań było opracowanie protokołu mikrorozmnażania trzech odmian borówki wysokiej. Wyniki badań wykazały istotne różnice w wartości analizowanych parametrów roślin borówki wysokiej w zależności od zastosowanego do namnażania pędów podłoża oraz jego modyfikacji. Najwyższą wartość współczynnika regeneracji pędów między 80 a 100% uzyskano dla różnych kombinacji pożywek WPM i MW. Przedstawione wyniki potwierdzają ponadto, że proces ryzogenezy *in vitro* *Vaccinium corymbosum* zależy od odmiany oraz warunków wzrostu rośliny. Opracowany protokół regeneracji *in vitro* borówki wysokiej może pomóc w optymalizacji metodyki rozmnażania innych odmian borówki wysokiej oraz roślin z gatunku *Vaccinium* i może być przydatny np. do produkcji certyfikowanego materiału rozmnożeniowego lub do celów biotechnologicznych.

W publikacji 2 pt. „Effect of Actisil (Hydroplus™), organic supplements, and pH of the medium on the micropropagation of *Vaccinium corymbosum* opublikowanej w czasopiśmie *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, stwierdzono, że efektywność mikrorozmnażania *V. corymbosum* odmiany ‘Liberty’ można poprawić poprzez dodatek do pożywki roztworu Hydroplus™ Actisil w stężeniu 200 mg dm⁻³. Zastosowanie wody kokosowej jako naturalnego kompleksu organicznego wpływa stymulująco na wzrost i rozwój roślin borówki *in vitro* i może być stosowana jako zamiennik zeatyny. Najwyższą efektywność mikrorozmnażania uzyskano na podłożu WPM o pH 5. Spośród zastosowanych związków, tylko roztwór krzemu (Hydroplus™ Actisil) wykazał łagodzące działanie negatywnych skutków wywołanych podwyższonym pH pożywki.

Publikacja 3 zatytułowana „Influence of various types of light on growth and physicochemical composition of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves, opublikowana została w *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. Dotyczyła ona wpływu światła na wzrost i rozwój roślin borówki wysokiej. Stwierdzono, że lampy LED dają około 50% oszczędności w porównaniu do stosowania fluorescencyjnych świetlówek. Ekonomika

stosowanie białego światła LED, które ma pozytywny wpływ ekonomiczny na produkcję roślinną ze względu na niskie zużycie energii elektrycznej i korzyści dla środowiska poprzez eliminację rtęci ze źródła światła. Uzyskana pod tym źródłem światła jakość roślin jest zbliżona do tej którą uzyskuje się przy świetle białym ze świetlówek fluorescencyjnych.

W publikacji 4 pt. „Effect of chitosan-based spraying on fruit quality of highbush blueberry cv. Sunrise” opublikowanej w czasopiśmie *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, dowiedzono, że opryskiwanie owoców chitozanem może być zalecane w ekologicznej uprawie borówki wysokiej w celu uzyskania jędrniejszych owoców o zwiększonych właściwościach prozdrowotnych.

W publikacji 5 pt. „The quality of freeze-dried and rehydrated blueberries depending on their size and preparation for freeze-drying”, opublikowanej w *Acta Universitatis Cibinensis, Series E: Food Technology*, potwierdzono, że owoce borówki wysokiej odmiany ‘Brigitta Blue’ polecane są do dłuższego przechowywania. Charakteryzują się grubą skórą i intensywnym nalotem woskowym, który chroni owoce przed wędnięciem. Owoce, które nie nadają się do sprzedaży ze względu na ich małe rozmiar można zamrozić lub wysuszyć. Stwierdzono, że liofilizacja jest dobrą metodą konserwacji owoców borówki wysokiej, pozwalającą na utrzymanie właściwości prozdrowotnych na wysokim poziomie.

Na podstawie przeprowadzonych badań osiągnięto założone cele badawcze, które zamieszczono w cyklu powiązanych tematycznie publikacji stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Do najważniejszych wniosków rozprawy doktorskiej Pani Mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej należy zaliczyć:

1. Wykazanie, że uzyskanie przez producenta zadowalającego zwrotu z inwestycji, wymaga analizy każdego etapu produkcji. Począwszy od wyboru materiału roślinnego, użytej pożywki do namnażania kultur *in vitro*, aplikowanych dodatków (Hydroplus™ Actisil, chitozan, woda kokosowa), źródła światła zastosowanego, aż po zagospodarowanie niekomercyjnych owoców (liofilizacja).
2. Opracowanie protokołów mikrorozmnażania borówki wysokiej dla wybranych odmian (‘Elizabeth’, ‘Liberty’, ‘Meader’).
3. Wykazanie, że zastosowanie substancji biologicznie czynnych daje pozytywne efekty zarówno w kulturach *in vitro* jak i w uprawie polowej borówki, a także wpisuje się w

3. Wykazanie, że zastosowanie substancji biologicznie czynnych daje pozytywne efekty zarówno w kulturach *in vitro* jak i w uprawie polowej borówki, a także wpisuje się w ekologiczne trendy produktów do spożycia. Woda kokosowa jako naturalny kompleks substancji organicznych, może stanowić zamiennik dla komercyjnie stosowanej zeatyny. Komercyjny roztwór Si (Hydroplus™ Actisil) może być z powodzeniem stosowany w kulturach *in vitro* borówki wysokiej jako środek łagodzący stres wywołanym podwyższonym pH pożywki. Zastosowanie chitozanu w formie oprysku w okresie intensywnego wzrostu owoców, pozytywnie wpłynęło na ich jakość (ograniczanie wzrost patogenów grzybowych, wzrost masy owoców, poprawa jędrności i składu chemicznego).

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiony cykl publikacji pod wspólnym tytułem: „Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)” stanowi dobrą podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora w dyscyplinie naukowej rolnictwo i ogrodnictwo.

Podczas lektury pracy nasunęło mi się jednak kilka uwag i pytań.

Uwagi i pytania:

1. W Streszczeniu pracy doktorskiej brakuje (na początku) nazwy łacińskiej określającej gatunek. Ponadto we Wstępie brakuje wyjaśnienia dla nazwy synonimowej gatunku (borówka amerykańska), która jest powszechnie używana dla określenia gatunku *Vaccinium corymbosum*.
2. W Streszczeniu pracy pojawia się określenie „fitochemikaliów” w odniesieniu do antocyjanów. Lepsze określenie byłoby tu „fitozwiązki” lub „związki bioaktywne”.
3. W pracy doktorskiej pojawiają się określenia typu: „sadzonki do hodowli przemysłowej”, „rośliny zostały przeniesione na plantację borówki,...gdzie hodowano je...” itp. Proszę wyjaśnić czy na pewno chodziło tu o „hodowlę” czy o „uprawę”?
4. Czy określenie „certyfikowany materiał wegetatywny” nie powinien brzmieć: „certyfikowany materiał rozmnożeniowy”?
5. Niektóre skróty nie zostały wyjaśnione w pracy, np. test FRAP.
6. Na stronie 10 (drugi akapit) antocyjany zostały wymienione oddzielnie od flawonoidów do których należą, jakby tworzyły odrębną grupę związków. Dlaczego?

7. W pracy zeatyna określona jest jako hormon. Jednak jest to związek już wyekstrahowany z rośliny i dodany do pożywki egzogennie. Czy nie powinien występować tu jako regulator wzrostu?
8. Nazwy odmian powinny być pisane z pojedynczym górnym apostrofem (wyjątek stanowią tabele i wykresy, gdzie można pominąć apostrof).
9. Jednostki wymagają ujednolicenia pisowni w pracy doktorskiej np. litry (L czy l?).
10. Wielokrotnie w pracy doktorskiej pada określenie „fitotron”. Mam jednak wątpliwość czy nie był to jednak pokój wzrostowy? Czy mogłaby się Pani do tego ustosunkować?
11. Natężenie światła wyrażone $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotosyntetycznej gęstości strumienia fotonów (PPFD) pomiędzy zastosowanymi w badaniach źródłami światła różniła się (wynosiła od 60 dla lampy LED Flora dla roślin do 13 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dla lampy rtęciowej z luminoforem). Czy Pani zdaniem większe znaczenie na końcowy wynik doświadczenia miał typ lampy i spektrum światła czy też natężenie światła?
12. W publikacji 1 niektóre zdjęcia są nieczytelne, szczególnie jeśli chodzi o napisy pod zdjęciami, brakuje także odniesienia wielkości (tzw. „bar”) np. na zdjęciach mikrosadzonek.

Podsumowanie

Podsumowując, niniejszym stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska **Pani Mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej pt. „Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)”** spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku (z późn. zm.) Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. 2023, poz. 742). Z tego względu przedkładam wniosek do Wysokiego Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie **Pani Mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej** do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.



Dr. inż. hab. Iwona Szot
Instytut Produkcji Ogrodniczej
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin. 19.07.2023

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej

Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)

Wykonanej w Katedrze Ogrodnictwa (promotor główny) oraz Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin (promotor pomocniczy) na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie

Informacje o pracy oraz ocena strony formalnej

Podstawą formalną do wykonania recenzji jest pismo Pana Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, prof. dr hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego z dnia 07 czerwca 2023 r. informujące o uchwale nr 132 Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego (ZUT) w Szczecinie z 29 maja 2023r. powołującą mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej Pani mgr. inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej. Praca Pani mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej na stopień doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, została wykonana pod kierunkiem dr. hab. inż. Ireneusza Ochmiana, prof. ZUT. Funkcję promotora pomocniczego sprawowała dr. hab. inż. Marcelina Krupa-Małkiewicz, prof. ZUT. Rozprawę przygotowano zgodnie z wymogami ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku, Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dziennik Ustaw z 2023 r., pozycja 742 z później wprowadzonymi zmianami), stawianymi kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora.

Ocena problematyki badawczej

Podjęte przez Doktorantkę zagadnienia badawcze są niezmiernie istotne dla optymalizacji produkcji bardzo ważnej w Polsce rośliny jagodowej jaką jest borówka wysoka. Światowa wielkość uprawy i spożycie owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.), zwanej też borówką amerykańską, wykazuje tendencję wzrostową. Największymi producentami tych owoców są Stany Zjednoczone, Chile, Kanada i Peru. Polska znajduje się na siódmym miejscu, wśród producentów światowych i na drugim miejscu (po Hiszpanii) wśród producentów europejskich. Chociaż Ameryka dominuje w produkcji borówki amerykańskiej z udziałem ok. 81%, to udział krajów europejskich w produkcji tych owoców stanowi 17%. Owoce są bardzo istotnym składnikiem naszej codziennej diety. Borówka wysoka charakteryzuje się niską kalorycznością i jest wartościowym źródłem węglowodanów, w tym błonnika oraz składników mineralnych i witamin. Ponadto w tych owocach występuje wiele fitozwiązków, które są niezbędne dla organizmu człowieka ze względu na ich funkcje regulacyjne w wielu procesach metabolicznych i ochronę przed stresem oksydacyjnym. Ciemnoniebieskie zabarwienie skórki sprawia, że są doskonałym źródłem polifenoli, w tym antocyjanów. W wielu badaniach medycznych udowodniono ich właściwości zdrowotne ze względu na działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne i przeciwdrobnoustrojowe. Regularne spożywanie owoców chroni

przed chorobami nowotworowymi, cukrzycą typu 2, opóźnia procesy starzenia, chroni układ nerwowy, poprawia pamięć, funkcjonowanie układu krążenia i moczowego, zwiększa odporność na infekcje i dodaje energii.

Borówka amerykańska nadaje się do uprawy w warunkach klimatycznych Polski, jednakże ma specyficzne wymagania glebowe, gdyż pH gleby powinno się zawierać pomiędzy 3.8 do 4.5. Założenie plantacji jest kosztowne, a rośliny tego gatunku mogą być użytkowane nawet przez kilkadziesiąt lat, dlatego wybór dobrego materiału nasadzeniowego i odmian powinien opierać się na wnikliwej ocenie wielu cech jakościowych i użytkowych. Szybki wzrost powierzchni upraw borówki wysokiej wymusza na szkółkarzach jak najkrótszy okres produkcji sadzonek, które mogą być pozyskiwane jako sadzonki zielne, półdREWNIĄTE i zdREWNIĄTE. Jednakże te sposoby rozmnażania są długotrwałe i charakteryzują niskim procentem ukorzenienia. Alternatywą dla szybszego rozmnażania wegetatywnego, w ciągu całego roku, jest zastosowanie mikrorozmnażania, czyli rozmnażania *in vitro*. Rozmnażane w ten sposób rośliny są identyczne jak rośliny rodzicielskie i wolne od wirusów. Ten rodzaj rozmnażania wymaga dopracowania dla borówki wysokiej doboru podłoża do namnażania, roślinnych regulatorów wzrostu, warunków wzrostu, typów eksplantatów, sposobu pobierania próbek i stanu fizjologicznego eksplantatów. Istotne jest także odpowiednie pH podłoża oraz źródło i natężenie światła.

Owoce borówki wysokiej są bardzo chętnie spożywane w stanie świeżym. Dlatego poszczególne zbiory przeprowadza się ręcznie i owoce sprzedaje jako deserowe. Konsumenci wymagają owoców jak najwyższej jakości, którą oceniają na podstawie ich wyglądu na półce sklepowej. Trwałość owoców w handlu może przedłużać aplikacja preparatów tworzących jadalną powłokę, minimalizującą tempo oddychania i zmniejszającą transpirację wody, np. chitozanu. Chitozan tworzy na owocach przezroczysty, nietoksyczny, biokompatybilny, biofunkcjonalny i biodegradowalny film, podnoszący mechaniczną odporność owoców i chroniący przed patogenami.

Ostatni zbiór, gdy owoce są znacznie mniejsze i przez to mniej atrakcyjne dla konsumentów, można przeprowadzić mechanicznie i owoce przeznaczyć do przetwórstwa. Owoce borówki amerykańskiej nadają się do sporządzania soków, dżemów, mrożonek oraz suszu. Wartościowym produktem są owoce liofilizowane. Uzyskany w tym procesie susz charakteryzuje się stabilną strukturą i barwą oraz niską zawartością wody, co gwarantuje długoterminowe przechowywanie i atrakcyjność dla konsumentów. Ponadto w stosunku do tradycyjnego suszenia, liofilizacja pozwala na zachowanie związków bioaktywnych w owocach.

Z powyższych względów podjęcie przez Doktorantkę tematyki badawczej związanej z optymalizacją procesu rozmnażania borówki wysokiej metodą *in vitro* oraz poprawą jakości pozbiorowej owoców, jak też ze sposobem ich zagospodarowania, jest uzasadnione.

Ocena struktury oraz strony formalnej rozprawy doktorskiej

Recenzowana rozprawa doktorska mg in. Moniki Figiel – Kroczyńskiej ma formę monotematycznego zbioru 5 artykułów naukowych pod wspólnym tytułem „Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)”

W skład cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe wchodzi następujące prace:

- Figiel-Kroczyńska m., Krupa-Małkiewicz M., Ochmian I. 2022. Efficient micropropagation protocol of three cultivars of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Noluae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj* –

Napoca, 50 (4).

- Figiel-Kroczyńska M., Krupa-Małkiewicz M., Ochmian I. 2022. Effect of Actisil (Hydroplus™) organic supplements, and pH of the medium on the micropropagation of *Vaccinium corymbosum*. Acta Sci.Pol. Hortorum Cultus, 21 (5).
- Figiel-Kroczyńska M., Ochmian I., Krupa-Małkiewicz M. Lachowicz S. 2022. Influence of various types of light on growth and phisicochemical composition of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L) leaves. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus. 21 (2).
- Figiel-Kroczyńska M., Ochmian I., Krupa-Małkiewicz M. 2022. Effect of Chitosan-based spraying on fruit quality of highbush blueberry cv. Sunrise. Progres on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives, Volume XXVII.
- Ochmian I., Figiel-Kroczyńska M., Lachowicz S. 2020. The quality of freeze-dried and rehydrated blueberries depending on their size and preparation for freeze-drying. Acta Universitatis Cinbinesis Series E: Food Technology, 24 (1).

Cztery prace zostały opublikowane w 2022 r., a jedna w 2020 r, z czego 3 w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Report, posiadających łączny współczynnik oddziaływania IF= 2.709. Sumaryczna liczba punktów, według listy czasopism MNiSW, dla wszystkich publikacji wchodzących w skład rozprawy, wynosi 450. Wszystkie prace są opublikowane w języku angielskim. W czterech pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, a dołączone oświadczenia Doktorantki oraz współautorów wskazują na jej znaczący udział we współtworzeniu koncepcji, postawieniu hipotez badawczych, wyborze metodyki badań, założeniu doświadczeń i ich częściowej realizacji, opracowaniu wyników, przygotowaniu manuskryptów do druku oraz przeprowadzaniu korekt manuskryptów po recenzjach.

Zebrane publikacje poprzedzone są *Streszczeniem* w języku polskim i *Abstractem* w języku angielskim, następnie Doktorantka umieściła przegląd literatury powiązany z tematem pracy, określiła cele badawcze, opisała materiał i stosowane metody oraz przedstawiła uzyskane wyniki badań i wynikające z nich wnioski, kończąc spisem literatury. Prezentacja omawianych treści liczy 40 stron. Do pracy dołączono również kopie wszystkich artykułów naukowych będących podstawą rozprawy doktorskiej. Na końcu opracowania zamieszczono oświadczenia autora i współautorów przedmiotowych prac.

Merytoryczna ocena rozprawy doktorskiej

W pierwszej pracy wchodzącej w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe Doktorantka opisała badania dotyczące optymalizacji rozmnażania w kulturach *in vitro* trzech odmian borówki wysokiej: Meader, Elizabeth i Liberty. Dowiedziono, że badane odmiany różniły się zdolnością ukorzeniania pędów. Pożywka Woody Plant Medium (WPM) z dodatkiem kwasu giberelinowego IAA i zeatyny w stężeniu 0,1 mg·L⁻¹ była najskuteczniejsza w indukcji korzeni. Najwyższy procent ukorzenionych sadzonek zanotowano dla odmiany Liberty (85%) i był on istotnie wyższy niż odmian Maeder i Elizabeth. Ponadto zaobserwowano, że rośliny wszystkich badanych odmian ukorzenianych na podłożu Anderson's Rhododendron (AN) nie wykształciły korzeni. Przedstawione wyniki potwierdzają, że proces ryzogenezy *in vitro* roślin z gatunku *Vaccinium corymbosum* zależy od

odmiany oraz warunków wzrostu rośliny.

Kolejnym zagadnieniem badawczym była ocena wpływu trzech stężeń preparatu krzemowego Hydroplus™Actisil oraz dwóch stężeń wody kokosowej i mleka kokosowego na cechy morfologiczne borówki wysokiej odmiany Liberty rozmnażanej *in vitro*, a także ich skuteczności w łagodzeniu stresu związanego ze zmiennym pH podłoża WPM. Stwierdzono, że efektywność mikrorozmnażania *V. corymbosum* odmiany Liberty można poprawić stosując jako dodatek do pożywki Hydroplus™Actisil w stężeniu 200 mg·dm⁻³. Zastosowanie wody kokosowej, jako naturalnego kompleksu organicznego, wpływa stymulująco na wzrost i rozwój roślin borówki wysokiej *in vitro* i może być stosowana jako zamiennik zeatyny. Najwyższą efektywność mikrorozmnażania uzyskano na podłożu WPM o pH 5. Spośród zastosowanych związków, tylko roztwór krzemu (Hydroplus™Actisil) wykazał łagodzące działanie negatywnych skutków wywołanych podwyższonym pH pożywki.

W trzeciej publikacji cyklu Pani Magister oceniała wpływ różnych rodzajów światła w fitotronie na wzrost i parametry fizyczne i chemiczne sadzonek borówki amerykańskiej odmian Aurora i Huron. Niezależnie od rodzaju zastosowanego światła, rośliny odmiany Aurora były wyższe i miały jaśniejsze liście, z wyższą zawartością polifenoli i mniejszą zawartością proliny w porównaniu z odmianą Huron. Rośliny obu odmian doświetlane fioletową diodą LED były niższe i miały mniejsze liście. Stwierdzono, że nieodpowiednie źródło światła jest czynnikiem stresogennym dla roślin, o czym świadczy niska wartość parametru CIE a* i b* oraz wysoka zawartość proliny ogółem i polifenoli. Rośliny uprawiane w świetle fluorescencyjnym białym miały o 22,7% mniej polifenoli ogółem, a rośliny uprawiane w świetle białym LED miały o 19,2% mniej ogółem, niż te uprawiane w świetle fioletowym LED. W wielkotowarowej produkcji sadzonek borówki wysokiej wskazane jest stosowanie zamiast białego światła fluorescencyjnego, białego światła LED, gdyż zużycie energii elektrycznej jest mniejsze oraz wyeliminowuje się szkodliwą dla środowiska rtęć.

W kolejnym doświadczeniu Doktorantka badała wpływ zróżnicowanego pod względem masy cząsteczkowej chitozanu na pozbiornicze zmiany parametrów fizycznych i chemicznych borówki wysokiej odmiany. Określiła również rodzaj i ilość zanieczyszczeń mikrobiologicznych oraz mykotoksyn w owocach. Właściwości powłoki wytworzonej przez chitozan (CH) zależały od jego masy cząsteczkowej i stopnia deacetylacji. Wyniki badań wskazują, że chitozan zastosowany na owoce borówki wysokiej poprawił jej jakość po zbiorze. Chitozan o wysokiej masie cząsteczkowej 125 i 500 kDa, spowodował zwiększenie wartości cech jakościowych owoców takich jak średnia masa 100 owoców, odporność skórki na przebicie i ich jędrność, a także zawartość kwasu L-askorbinowego, N-NO₃ i FRAP, w stosunku do grupy kontrolnej. Borówki te miały również najbardziej intensywną niebieską barwę i wysoką zawartość polifenoli, zwłaszcza antocyjanów, i nie były zanieczyszczone mykotoksynami.

W ostatniej pracy wchodzącej w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe Doktorantka oceniła wielkość plonu niehandlowego borówki wysokiej odmiany Brigitta Blue w zależności od warunków panujących w sezonie wegetacyjnym oraz nawodnienia. Ponadto Pani magister badała wpływ sposobu nacięcia lub nakłucia niehandlowych owoców borówki wysokiej na czas trwania liofilizacji. Porównano także wartość biologiczną świeżych, liofilizowanych i ponownie uwodnionych owoców. Dowiedziono, że pogoda w czasie wegetacji, zwłaszcza temperatura i opady, mają wpływ na wielkość plonu niehandlowego. W latach o mniejszej ilości opadów liczba owoców pozostawianych na krzewach była mniejsza. Nawadnianie krzewów spowodowało, że liczba owoców



niehandlowych była prawie dwukrotnie mniejsza niż na krzewach nienawadnianych. Liofilizacja jest dobrą metodą zagospodarowania owoców borówki wysokiej, zwłaszcza tych, które nie nadają się do spożycia jako deser, ze względu na małe rozmiary. Owoce liofilizowane charakteryzują się znacznie wyższą zawartością polifenoli, wyższą aktywnością przeciwutleniającą i zdolność przeciwutleniającą w porównaniu ze świeżymi owocami. Po ponownym uwodnieniu większość związków ma wartość zbliżoną do świeżych owoców, co wskazuje, że jest to dobry sposób na przetwórstwo owoców i zatrzymanie w nich substancji prozdrowotnych.

Najważniejsze wnioski w przedłożonej do oceny pracy to:

- Pożywka Woody Plant Medium (WPM) z dodatkiem kwasu giberelinowego IAA i zeatyny w stężeniu 0,1 mg·L⁻¹ była najskuteczniejsza w indukcji korzeni.
- Dodatek do pożywki Hydroplus™ Actisil w stężeniu 200 mg·dm⁻³ poprawia efektywność mikrorozmnażania *V. corymbosum* odmiany Liberty
- W wielkoobszarowej produkcji sadzonek borówki wysokiej wskazane jest stosowanie białego światła LED ze względu na wysoką jakość roślin uprawianych pod tym światłem oraz korzystny wpływ na ekonomikę produkcji.
- Zastosowanie chitozanu w uprawie ekologicznej borówki wysokiej może wpłynąć na uzyskanie bardziej jędrnych owoców o zwiększonych właściwościach prozdrowotnych.
- Owoce borówki wysokich o małych rozmiarach (niehandlowe) charakteryzują się wysoką wartością biologiczną i powinny być wykorzystane w przetwórstwie np. do liofilizacji.

Oryginalne prace naukowe stanowiące rozprawę doktorską opublikowano w prestiżowych czasopismach naukowych, o czym świadczy ich Impact Factor oraz punkty przyznane przez MNiSW. Proces redakcyjny zapewnia poddanie manuskryptów wnikliwej ocenie kompetentnych recenzentów, więc trudno znaleźć w nich poważne uchybienia. Jedyne uwagi dotyczą polskojęzycznej części pracy i odnoszą się do pewnych nieścisłości i braków oraz błędów stylistycznych i typograficznych:

Sam tytuł rozprawy „Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) jest bardzo ogólnikowy, wręcz pomniejszający zakres badanych zagadnień.

W rozdziale **Materiał i Metody Badań**, str. 16, w podrozdziale „Dezynfekcja pędów i inicjacja kultur tkankowych” dla przedstawienia pożywki namnażającej zacytowano Ryc. 2a.....

W rozdziale D. Analizy właściwości fizycznych i chemicznych owoców, liści oraz pędów borówki wysokiej str. 19, podano, że zawartość kwasu *L*-askorbinowego i azotanów mierzono **rekwantometrem** RQflex 10, a powinno być reflektometrem.

W podrozdziale Składniki mineralne str. 20, nie podano w jaki sposób wykonano mineralizację przy określaniu zawartości **Mg**.

W rozdziale Omówienie wyników badań str. 23 niewłaściwie zacytowano rysunek dla zdania „Ponadto eksplantaty ‘Liberty’ wykształciły ponad 2,5 razy dłuższe korzenie w porównaniu z innymi testowanymi odmianami (Ryc. 1c), gdyż przedstawia on nadziemną część roślin podczas aklimatyzacji. Także na tej samej stronie w zdaniu Procent roślin zaaklimatyzowanych do warunków szklarniowych... jest niewłaściwie zacytowany: (Ryc 1d,e), powinno być

(Ryc. 1 c,d).

Błąd stylistyczny str. 24; Na podstawie uzyskanych wyników badań **wynika...**, str 27co mogłoby sugerować **sugeruje**, że...; str 28 „Światło ma kluczowe znaczenie dla roślin, ponieważ rośliny są zależne od niego w kwestii wytwarzania energii.... **Istotę tej kwestii** stanowi; str 29 **Ekonomika produkcji wykazała...** należałoby napisać Na podstawie analizy ekonomicznej stwierdzono, że...; str 32. W zdaniu: Celem przeprowadzonego doświadczenia była ocena wpływu **cięcia** lub nakłuwania **niekomercyjnych** owoców borówki wysokiej..., powinno być nacięcia, ewentualnie przekrojenia owoców oraz niehandlowych zamiast niekomercyjnych.

str. 24, sformułowanie rośliny z gatunku *Vaccinium*... powinno być z rodzaju *Vaccinium*;

Str. 28 Dowiedziono, że **źródło światła jest czynnikiem stresowym dla rośliny** – niewłaściwe sformułowanie, bo prędzej czynnikiem stresowym jest brak światła. Należałoby napisać, że nieodpowiednio dobrane źródło światła wywołuje stres.

Str. 30 podano, że „Zastosowanie chitozanu w wyższej masie cząsteczkowej 500 kDa, a zwłaszcza 125kDa zwiększyło średnią masę owoców, odporność na przebiccia skórki, jędrność owoców. Zwiększyła się również zawartość kwasu *L*-askorbinowego i **szkodliwych** N-NO₃ w porównaniu z kontrolą”...Czy przy takim stwierdzeniu uzasadniony jest wniosek nr 3 str. 34: Zastosowanie chitozanu w formie oprysku w okresie intensywnego wzrostu owoców, pozytywnie wpłynęło na ich jakość (ograniczenie wzrost patogenów grzybowych, wzrost masy owoców, poprawę jędrności i składu chemicznego).

Str. 32 w tabeli 4 zamiast **rozpuszczalne substancje stałe** powinno być zawartość ekstraktu.

Podczas lektury publikacji nasunęły mi się pewne pytania, na które chętnie poznałabym opinię Doktorantki podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej:

1. Czy azotany są szkodliwe dla organizmu ludzkiego? Jaki jest wymagany zakres liczby granicznej N-NO₃ w owocach?
2. Czym można wytłumaczyć antyoksydacyjne właściwości antocyjanów w owocach borówki amerykańskiej?

Wniosek końcowy:

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pani mgr. inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej. zatytułowana „Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)” stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego. Doświadczenia zostały prawidłowo zaplanowane i zrealizowane, a uzyskane wyniki pozwalają na osiągnięcie założonych celów badawczych. Drobne uchybienia nie obniżają merytorycznej wartości pracy i nie podważają jej wartości naukowej, gdyż mają charakter redakcyjny.

Praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim wg ustawy z dnia 20 lipca 2018 r., Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dziennik Ustaw z 2023r., pozycja 742 z później wprowadzonymi zmianami). W związku z tym przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie wniosek o dopuszczenie mgr. inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy oraz jej formę w postaci pięciu

opublikowanych manuskryptów, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy i jej Autorki stosowną nagrodą. Pierwszym argumentem wyróżnienia jest szeroki zakres badań, wykorzystujących różnorodne techniki badawcze i analizy biochemiczne, co umożliwiło wielostronne przedstawienie tematyki badawczej. To świadczy o dużej otwartości Doktorantki na pozyskiwanie nowych umiejętności, pracowitości, sumienności i dojrzałości. Kolejnym, nie mniej ważnym argumentem jest fakt, że uzyskanie wyników badań oprócz wartości naukowej, mają szeroki charakter aplikacyjny. Opracowany protokół regeneracji *in vitro* może być przydatny w optymalizacji rozmnażania innych odmian borówki wysokiej oraz roślin z rodzaju *Vaccinium*, a także może pomóc w opracowaniu metod produkcji certyfikowanego materiału wegetatywnego lub do celów biotechnologicznych. Dopracowanie metody liofilizacji może być podstawą opatentowania nowych produktów na bazie borówki wysokiej na rynku.



Dr inż. hab. Iwona Szot

Skierniewice, 10.08.2023 r.

Dr hab. inż. Mirosław Sitarek, prof. IO
Zakład Odmianoznawstwa, Szkółkarstwa
i Zasobów Genowych
Instytut Ogrodnictwa-PIB
w Skierniewicach

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej pt.: **„Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)”**, wykonanej na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, pod kierunkiem dr hab. inż. Ireneusza Ochmiana, prof. ZUT. Promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej jest Pani dr hab. inż. Marcelina Krupa-Malkiewicz, prof. ZUT. Rozprawa doktorska została wykonana w dyscyplinie naukowej rolnictwo i ogrodnictwo.

Recenzja opracowana na podstawie uchwały nr 1 Komisji Doktorskiej powołanej uchwałą nr 132 Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z 29 maja 2023 r. oraz pisma Pana Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa prof. dr hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego (RD RiO/203/2023), z dnia 7 czerwca 2023 roku.

INFORMACJE OGÓLNE I OCENA PROBLEMATYKI BADAWCZEJ

W ostatnich dziesięcioleciach nastąpił dynamiczny rozwój uprawy borówki wysokiej w Polsce. Gatunek ten jest przykładem nie kwestionowanej „kariery” wśród roślin sadowniczych. Warto wspomnieć, że jeszcze w podręczniku akademickim dla studentów akademii rolniczych „Sadownictwo” prof. dr S.A. Pieniążka z 1978 roku, z którego czerpały wiedzę rzesze studentów, nie ma żadnej wzmianki o borówce wysokiej. Wystarczyło kilka dziesięcioleci, aby Polska od momentu zainicjowania upraw do czasów współczesnych, stała się wiodącym producentem owoców borówki wysokiej w Europie. O dużej popularności owoców borówki wysokiej wśród konsumentów, która stymulowała zakładanie nowych plantacji, przeważały ich właściwości deserowe i przetwórcze. W porównaniu do innych roślin jagodowych owoce borówki wysokiej długo zachowują trwałość po zbiorczą – mają długi tzw. shelf live ułatwiający ich dystrybucję – i wysoką wartość odżywczą. Są bogate w polifenole, głównie antocyjany, dzięki którym wykazują właściwości korzystne dla zdrowia człowieka. Poprawiają wzrok, mają działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne,

przeciwnowotworowe i przeciwbakteryjne. W fitomedycynie wykorzystywane są także liście. Aktualny stan wiedzy o uprawie borówki wysokiej jest już dość duży. Jednak ze względu na dużą zmienność genetyczną w obrębie gatunku *Vaccinium corymbosum* (obecnie rejestr liczy 20 odmian) istnieje trudność w opracowaniu uniwersalnych metod rozmnażania, pielęgnacji sadzonek i plantacji, uzyskiwania regularnego plonowania wysokiej jakości owoców. W tym zakresie jest jeszcze wiele do zrobienia, zwłaszcza w dobie oszczędzania energii i zużycia pestycydów w rolnictwie.

Tematy badawcze podjęte przez Panią mgr inż. Monikę Figiel-Kroczyńską dotyczące rozmnażania oraz jakości owoców borówki wysokiej, będące przedmiotem ocenianej rozprawy doktorskiej uważam za aktualne, ważne i uzasadnione. Przeprowadzone doświadczenia mają wysoką wartość poznawczą i użyteczną.

FORMALNA I MERYTORYCZNA OCENA PRACY

Przedstawiona do oceny praca doktorska Pani mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej stanowi zbiór recenzowanych pięciu tematycznie spójnych, oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w latach 2020-2022 w czasopiśmie anglojęzycznym o zasięgu międzynarodowym:

1. **Figiel-Kroczyńska, M.**, Krupa-Mańkiewicz, M., Ochmian, I. 2022. Efficient micropropagation protocol of three cultivars of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 50(4). (40 pkt MEiN, IF 1,249)
2. **Figiel-Kroczyńska, M.**, Krupa-Mańkiewicz, M., Ochmian, I. 2022. Effect of Actisil (Hydroplus TM), organic supplements, and pH of the medium on the micropropagation of *Vaccinium corymbosum*. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 21(%). (100 pkt MEiN, IF 0,730)
3. **Figiel-Kroczyńska, M.**, Ochmian, I., Krupa-Mańkiewicz, M., Lachowicz, S. 2022. Influence of various types of light on growth and physicochemical composition of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 21(2). (100 pkt MEiN, IF 0,730)
4. **Figiel-Kroczyńska, M.**, Ochmian, I., Krupa-Mańkiewicz, M., 2022. Effect of chitosan-based spraying on fruit quality of highbush blueberry cv. Sunrise. Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives, Volume XXVII. (70 pkt MEiN, IF 0)

5. Ochmian, I., **Figiel-Kroczyńska, M.**, Lachowicz, S. 2020. The quality of freeze-dried and rehydrated blueberries depending on their size and preparation for freeze-drying. *Acta Universitatis Cinbinesis, Series E: Food Technology*, 24(1). (140 pkt MNiSW, IF 0)

Sumaryczny IF przedłożonych publikacji, zgodnie z rokiem ich wydania, wynosi 2,709, a sumaryczna liczba punktów według listy MNiSW lub MEiN 450. Wybór wysoko punktowanych czasopism naukowych do opublikowania wyników badań świadczy o ich wartości.

Zakres merytoryczny publikacji składających się na rozprawę doktorską jest zgodny z jej tytułem. Wszystkie dotyczą aspektów rozmnażania borówki wysokiej i wpływu różnych czynników na jakość owoców. W ten sposób został spełniony warunek spójności tematycznej prac zgłoszonych jako osiągnięcie naukowe i warunek stawiany kandydatom do stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Uważam, że ocena merytoryczna i edytorska prac naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej jest zbędna, a nawet niewskazana. Przed opublikowaniem były one poddane wnikliwej ocenie recenzentów wyznaczonych przez wydawnictwa.

Zgodnie z oświadczeniami autorów o wkład w publikację udział Doktorantki polegał na współtworzeniu koncepcji, postawieniu hipotez badawczych, wyborze metodyki badań, założeniu doświadczenia, prowadzeniu doświadczenia, wykonaniu części analiz, opracowaniu wyników, przygotowaniu manuskryptu do druku, odpowiedzi na recenzje. W czterech spośród pięciu prac mgr inż. Monika Figiel-Kroczyńska jest pierwszym autorem, a promotor dr hab. inż. Ireneusz Ochmian, prof. ZUT, pełniący funkcję promotora, jest współautorem wszystkich prac. Szkoda, że w oświadczeniach nie został podany procentowy udział wkładu Doktorantki w wykazanych pracach, co zwykle się czyni.

Zbiór pięciu artykułów naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego mgr inż. Monika Figiel-Kroczyńska uzupełniła opisowym opracowaniem liczącym 43 strony.

Typowym schematem dla rozpraw doktorskich przygotowywanych w oparciu o cykl spójnych tematycznie publikacji jest podział na: wykaz publikacji składających się na pracę doktorską, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz rozdziały: 1. Wstęp i cel pracy, 2. Przegląd literatury, 3. Materiał i metody, 4. Wyniki i ich omówienie, 5. Wnioski, 6. Literatura, 7. Załączniki. I w zasadzie Doktorantka przygotowała swoją rozprawę w sposób podobny. Dla oceniającego tę pracę nie zrozumiały jest fakt wydzielenia rozdziału „Wstęp teoretyczny”, co może sugerować, że jest jeszcze jakiś inny wstęp np. „praktyczny”. Wstęp jest wstępem i nie potrzeba dla niego dodatkowych określeń. Chyba lepszym rozwiązaniem

byłoby połączenie wstępu z celem pracy i wydzielenie rozdziału zawierającego przegląd literatury. Oczywiście uwagi te mają charakter edytorski, bez wpływu na końcową ocenę pracy.

W rozdziale zatytułowanym przez Doktorantkę „Wstęp teoretyczny” można znaleźć informacje o wielkości produkcji owoców borówki wysokiej na świecie i w Polsce, biologii tego gatunku, metodach rozmnażania, wymaganiach agrotechnicznych, czynnikach wpływających na wysokość i jakość plonu, możliwościach wykorzystania owoców w przetwórstwie. Wiele miejsca poświęca autorka także wartości odżywczej i prozdrowotnej owoców borówki wysokiej. Wśród krajów wiodących w światowej produkcji borówki wysokiej, do których za danymi literaturowymi Doktorantka zaliczyła USA, Chile i Kanadę, warto byłoby wspomnieć o Chinach, które według danych z 2017 roku produkują ponad 115 tys. ton owoców borówki wysokiej i mają ambicję na objęcie pozycji lidera w światowym rankingu.

Cele pracy zostały przez Doktorantkę określone bardzo czytelnie i osiągnięte. Należały do nich:

- opracowanie protokołu mikrorozmnażania borówki wysokiej dla wybranych odmian;
- opracowanie optymalnego składu pożywki do rozmnażania wybranych odmian borówki wysokiej w kulturach *in vitro*;
- określenie wpływu preparatu Actisil, dodatków organicznych i pH podłoża na mikrorozmnażanie borówki wysokiej;
- ocena skuteczności ukorzeniania roślin/pędów w warunkach *in vitro* oraz ich aklimatyzację do warunków *ex vitro*;
- analiza ekonomiczna wybranych aspektów produkcji (źródło światła, możliwość zastąpienia drogich dodatków tańszymi odpowiednikami, wykorzystanie owoców niekomercyjnych) w celu uzyskania zadowalającego zwrotu z inwestycji;
- ocena możliwości użycia naturalnych i ekologicznych dodatków w produkcji roślin i owoców borówki wysokiej;
- porównanie wpływu różnych rodzajów światła na wzrost i skład fizykochemiczny borówki wysokiej;
- porównanie skuteczności dwóch metod przechowywania owoców borówki wysokiej;
- określenie wpływu oprysku chitozanem na jakość owoców oraz metody przygotowania borówki wysokiej na jakość liofilizowanych owoców.

Rozdział „Materiał i metody badań” zawiera szczegółowy opis kombinacji doświadczalnych, sposobu wykonania pomiarów, aparatury pomiarowej, przyjętej metody

statystycznego opracowania wyników dla wszystkich doświadczeń cząstkowych i nie budzi zastrzeżeń.

Rozdział „Omówienie wyników badań” jest zawsze najważniejszą częścią pracy. W pierwszym zdaniu rozdziału Doktorantka stwierdza, że rozprawa doktorska składa się z cyklu publikacji opublikowanych w czasopismach naukowych listy MNiSW, zapomniawszy, że od 1 stycznia 2021 roku ministerstwem właściwym do spraw nauki jest Ministerstwo Edukacji i Nauki. Wydzielając podrozdziały w tej części pracy lepszym rozwiązaniem byłoby nadanie im tytułów zgodnie z tematyką badań, zamiast Publikacja 1,2,3... Już wyniki pierwszej publikacji z cyklu wybranych do rozprawy wskazują na złożoność badanych zagadnień. Zasadniczym wnioskiem z niej jest fakt, że zdolność ukorzeniania się pędów w czasie rozmnażania *in vitro* jest cechą odmianową. Ciekawym wnioskiem z drugiej publikacji jest możliwość zwiększenia efektywności mikrorozmnażania borówki wysokiej poprzez dodatek do pożywki roztworu Hydroplus TM Actisil w stężeniu 200 mg/ l. Taki roztwór krzemu wykazał także łagodzące działanie negatywnych skutków wywołanych podwyższonym pH pożywki. Najważniejszą konkluzją z trzeciej publikacji jest wyższość lamp LED nad innymi źródłami światła stosowanymi w szklarni podczas produkcji sadzonek. Z kolei czwarta publikacja przynosi informację o pozytywnym wpływie opryskiwań chitozanem na jakość owoców i ich właściwości prozdrowotne. Analizując tę część pracy nasunęło mi się pytanie: Jak można wyjaśnić różnicę w zawartości antocjanów w zależności od masy molekularnej chitozanu? Z piątej publikacji można się dowiedzieć, że owoce odmiany Brigitta Blue, dzięki grubej skórce i intensywnemu nalotowi woskowemu, są predysponowane do długiego przechowywania. Owoce nie spełniające kryteriów owoców deserowych mogą być przetworzone w procesie liofilizacji. Prawdopodobnie w tej części pracy wkraść się błąd, gdyż Doktorantka podaje: „Masa owoców pozostawiona na krzewach wynosiła około 1 do 2 t/ha, co stanowi do 5% całkowitego plonu dla Brigitta Blue”. Według wiedzy oceniającego tę pracę przeciętny plon owoców borówki wysokiej, jaki można zebrać z 1 ha, wynosi 5-6 ton.

Podsumowując, Pani mgr inż. Monika Figiel-Kroczyńska dokonała poprawnej analizy i interpretacji wyników badań, i umiejętnie porównała je z wynikami innych autorów. Dobór pozycji literatury i sposób prowadzenia dyskusji świadczą o znajomości problematyki badawczej. Doktorantka ma duże predyspozycje naukowe, posiada umiejętność wnikliwej obserwacji i analitycznego myślenia, a także, co jest ważne w pracy naukowca łatwość pisania. Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie pięciu wniosków o znaczeniu poznawczym i praktycznym. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalny

i cenny wkład w rozwój nauki. Wymienione przez mnie drobne uwagi i błędy stylistyczno-edytorskie nie mają wpływu na końcową wysoką ocenę pracy.

WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska prezentuje wysoki poziom merytoryczny, a uzyskane wyniki mają wartość poznawczą i mogą mieć zastosowanie w praktyce. Doktorantka zrealizowała wszystkie postawione cele naukowo-badawcze i zapoznała się z literaturą wiążącą się z tematem pracy. Doceniam ogromny zakres pomiarów i analiz wykonanych w ramach przeprowadzonych doświadczeń.

W mojej ocenie rozprawa doktorska Pani mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej pt.: „**Rozmnażanie oraz jakość owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.)**”, spełnia warunki stawiane pracom doktorskim określone w art. 13.ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. „o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki” Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595. (z późniejszymi nowelizacjami z dnia 18 marca 2011 r.), jak i spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1688).

Wnioskuje do Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie Pani mgr inż. Moniki Figiel-Kroczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. inż. Mirosław Sitarek, prof. IO

UCHWAŁA NR 15
Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
z dnia 27 października 2023 r.

w sprawie nadania mgr inż. Monice Figiel-Kroczyńskiej
stopnia doktora

Na podstawie § 17b ust. 1 pkt 2 Statutu ZUT (uchwała nr 75 Senatu ZUT z dnia 28 czerwca 2019 r., z późn. zm.) w związku z art. 178 ust. 1 pkt 1 i art. 186 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jedn. Dz. U. z 2023 r. poz. 742, z późn. zm.) oraz z § 12 ust. 1 uchwały nr 130 Senatu ZUT z dnia 29 maja 2023 r. (z późn. zm.) w sprawie określenia sposobu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora przez Rady Dyscyplin Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie uchwala się, co następuje:

§ 1.

Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie nadaje mgr inż. Monice Figiel-Kroczyńskiej stopień doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

§ 2.

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

Przewodniczący Rady Dyscypliny
Rolnictwo i Ogrodnictwo



dr hab. inż. Paweł Milczarski, prof. ZUT