

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-Malkiewicz, 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, półdrewniałe i zdrewniałe. Jednakże te sposoby rozmnażania są długotrwałe i charakteryzują niskim procentem ukorzenia. 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 pozbiorczej 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 physicochemical 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 ryzogenezы *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 przeciwcukrzycową 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 gibberelinowego 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 **Material 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 wnioski 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