

ABSTRACT

Still gaining popularity of high quality plant-base products (as functional food) makes them an interesting research topic. One of such products are goji berries, which contain many bioactive compounds including polyphenols, polysaccharides, carotenoids and polyunsaturated fatty acids.

The aim of the doctoral dissertation was to determine the influence of pruning on yield and fruit quality and development of disinfection method, micropropagation and rooting of two cultivars of goji berries in *in vitro* cultures.

In this study, a field experiment was conducted to evaluate the effect of plant pruning on fruit quality. Field studies have shown that wolfberry plants are well adapted to the climatic conditions prevailing in the north-western part of Poland. The cultivated goji shrubs showed no signs of frost damage and the flowers were not damaged by spring frosts. The greatest influence on fruit quality had shrubs pruning on 3 shoots. Fruits from cut shrubs were bigger and darker, with a higher content of *L*-ascorbic acid.

The performed series of studies and the results obtained during them made it possible to develop a complete micropropagation protocol for two cultivars of *Lycium chinense* 'No 1' and 'New Big'. MS medium supplemented with *meta*-Topoline at a concentration of 0,6 mg L⁻¹ and WPM medium without growth regulators, showed good results for rapid multiplication and growth of goji shoots. The medium supplemented with 20 ppm chitosan proved to be very effective at the rooting stage as it provided a high percentage of rooted plants (70-80%) and well developed seedlings. Preparation of the protocol may be useful to improve the efficiency of micropropagation, rooting and acclimatisation of goji seedlings.

Key words: fruit size, goji berries, micropropagation, polyphenols, seeds disinfection, shrubs cutting

21.02.2022 *Krzysztof Arlet*

STRESZCZENIE

Wciąż rosnąca popularność wysokowartościowych produktów pochodzenia roślinnego (jako żywności funkcjonalnej) sprawia, że stanowią one interesujący temat badawczy. Jednym z takich produktów są jagody goji, które zawierają wiele bioaktywnych związków, w tym polifenole, polisacharydy, karotenoidy i wielonienasycone kwasy tłuszczowe.

Celem pracy doktorskiej było określenie wpływu cięcia krzewów kolcowoju chińskiego na plonowanie oraz jakość owoców oraz opracowanie metody dezynfekcji, procesu mikrorozmnażania i ukorzeniania dwóch odmian kolcowoju chińskiego w kulturach *in vitro*.

W ramach pracy przeprowadzono doświadczenie polowe, w którym oceniono wpływ cięcia roślin na jakość owoców. Badania polowe wykazały dobre przystosowanie roślin kolcowoju do warunków klimatycznych panujących w północno-zachodniej części Polski. Uprawiane krzewy goji nie wykazywały oznak uszkodzeń mrozowych, a kwiaty nie były uszkodzone przez wiosenne przymrozki. Największy wpływ na jakość owoców miało cięcie krzewów na 3 pędy. Owoce z krzewów ciętych były większe i ciemniejsze, o większej zawartości kwasu *L*-askorbinowego.

Wykonany cykl badań i otrzymane w ich trakcie wyniki pozwoliły na opracowanie kompletnego protokołu mikrorozmnażania dwóch odmian *Lycium chinense* 'No 1' i 'New Big'. Podłoże MS uzupełnione *meta*-Topoliną w stężeniu 0,6 mg L⁻¹ oraz podłoże WPM bez regulatorów wzrostu, wykazywały dobre wyniki w zakresie szybkiego namnażania i wzrostu pędów goji. Pożywki uzupełnione 20 ppm chitozanu okazały się bardzo efektywne na etapie ukorzeniania, gdyż zapewniły wysoki procent roślin ukorzenionych (70-80%) i dobrze rozwijające się sadzonki. Opracowanie protokołu może być przydatne do poprawy efektywności procesu mikropropagacji, ukorzeniania oraz aklimatyzacji sadzonek goji.

Słowa kluczowe: cięcie roślin, dezynfekcja nasion, jagody goji, mikrorozmnażanie, polifenole, wielkość owoców

21.02.2022 *Kruszel Aleta*

Dr hab. Monika Bieniasz prof. URK
Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa
Katedra Ogrodnictwa
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Recenzja pracy doktorskiej

pt "Wpływ zabiegów agrotechnicznych na plonowanie kolcowoju chińskiego (*Lycium chinense* Moll.) oraz jego wzrost w kulturach in vitro"

Autor; mgr inż. Arleta Kruczek

Recenzję wykonano na zlecenie prof. dr hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego, Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, zgodnie z uchwałą nr 50 w dniu 28 marca 2022 roku przez Senat ZUT podjętej na podstawie art. 14 ust. 1 pkt. 1 oraz art. 14 ust. 2 oraz art. 20 ust. 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 ze zm.) w związku z § 3 ust. 1 pkt 1 rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. Rozprawę przygotowano zgodnie z wymogami dla tego typu prac.

Informacje o pracy oraz ocena strony formalnej

Pani mgr inż. Arleta Kruczek przedstawiła do recenzji pracę uprawniającą ją do dalszego postępowania dotyczącego nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Praca została wykonana pod kierunkiem dr hab. Ireneusza Ochmiana prof. ZUT z Katedry Ogrodnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego. Funkcję promotora pomocniczego sprawowała dr hab. Marcelina Krupa-Małkiewicz z Katedry Genetyki Hodowli i Biotechnologii tego samego Uniwersytetu.

Przedstawiona do oceny praca jest zbiorem sześciu publikacji naukowych o jednolitej linii tematycznej dotyczącej kolcowoju chińskiego opublikowanych w latach 2016 – 2021. Łączna punktacja wynosi 310, w tym trzy publikacje do roku 2018, kiedy obowiązywała niższa punktacja, sumaryczny IF wynosi 5.85. W pięciu publikacjach

doktorantka jest pierwszym autorem. Wkład pracy włożony w powstawanie tych artykułów jest określony w zgodnych oświadczeniach pozostałych autorów.

Z oświadczeń wynika, że doktorantka w pięciu pracach ma wkład od 50 do 70 procent, a w jednej 30 procent. Pani mgr inż. Arleta Kruczek uczestniczyła w projektowaniu i wykonywaniu eksperymentów, przygotowywaniu materiału badawczego, prowadzeniu analiz laboratoryjnych, analizie i interpretacji danych, jak również w przygotowywaniu manuskryptów do druku.

We wstępnej części rozprawy, zaprezentowano następujące treści: Spis artykułów stanowiących rozprawę doktorską, streszczenie, wstęp teoretyczny, cel pracy i cele badawcze, metodykę eksperymentów. Pierwsza część pracy obejmuje 16 stron. W kolejnych rozdziałach autorka przystępuje do omawiania kolejnych prac. Do pracy dołączono również wydruk wszystkich sześciu artykułów naukowych będących podstawą rozprawy doktorskiej.

Wartość naukowa i merytoryczna pracy

Kolcowój chiński (*Lycium chinense* Moll.) nazywany handlowo jagodą goji jest jednym z najmłodszych gatunków owocowych, które od kilku lat pojawiają się w polskich i europejskich uprawach. Plantatorzy poszukują alternatywy, dla owoców tradycyjnych takich jak np. jabłka, gruszki, śliwy, wiśnie, czy truskawki. Poszukiwanie nowych gatunków do uprawy, jest związane z nowymi trendami w dietetyce i poszukiwaniami przez konsumentów produktów, należących do tzw. „superfood”. Kolcowój chiński (*Lycium chinense* Moll.) znany jest od tysięcy lat, wymieniany w farmakopeach starożytności europejskiej i chińskiej. Współczesna nauka, coraz częściej sięga do wiedzy zgromadzonej przez naszych przodków, wielokrotnie naukowo potwierdzając bioaktywne właściwości roślin opisywanych w starożytnych farmakopeach.

Zagadnienia podjęte w pracach badawczych mgr inż. Arlety Kruczek wpisują się w aktualne wyzwania stojące przed współczesnym sadownictwem. Wprowadzenie do uprawy nowego gatunku wymaga wielu wcześniejszych, bardzo starannych badań i prób, pozwalających na sukces agrotechniczny, uzyskanie surowca o wysokich standardach bioaktywności, a także na zadowalający wynik ekonomiczny. W dostępnej literaturze istnieje bardzo niewiele prac dotyczących uprawy tej rośliny, dlatego wszelkie eksperymenty, które są podjęte przez naukowców mają dużą wartość

poznawczą. W przedstawionej pracy autorka opisuje zagadnienia dotyczące prowadzenia roślin na plantacji, wpływu cięcia na fizjologię rośliny, właściwości fizykochemiczne oraz zawartość substancji bioaktywnych liści i owoców. Ponadto wprowadzono roślinę do kultur tkankowych opracowano protokół rozmnażania oraz składy pożywek pozwalające na uzyskanie zdrowych i dobrze ukorzenionych roślin.

We wstępie teoretycznym autorka zwięźle zaprezentowała stan wiedzy na temat badań opublikowanych w zestawie swoich publikacji. Spis literatury do wstępu teoretycznego liczy 37 pozycji z czego około 60 procent obejmuje ostatnie lata badań.

W przeprowadzonych eksperymentach zostało postawionych siedem celów badawczych takich jak;

1. porównanie wpływu cięcia na wzrost krzewów kolcowoju chińskiego odmiany, oraz określenie parametrów fizycznych owoców i ich skład chemiczny **(P1)**,
2. wytypowanie odmian, które charakteryzują się najbardziej wartościowymi owocami pod względem aktywności przeciwcukrzycowej i antyoksydacyjnej, o najwyższej zawartości polifenoli oraz o najlepszych właściwościach morfologicznych i fizykochemicznych **(P2)**,
3. porównanie właściwości fizyko-chemicznych liści i owoców goji uprawianych w sadzie oraz w kulturze *in vitro*, a także ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych liści goji, co może stanowić podstawę do wykorzystania tej rośliny jako żywności funkcjonalnej **(P3)**,
4. porównanie skuteczności różnych metod dezynfekcji nasion dwóch odmian goji 'A' i 'New Big' w kulturach *in vitro* **(P4)**,
5. opracowanie pożywki do rozmnażania pędów dwóch odmian goji w kulturach *in vitro* **(P5)**,
6. ocena proces ukorzeniania otrzymanych roślin *in vitro* i *ex vitro* **(P5)**,
7. określenie wpływu działania egzogenego 1 mM kwasu askorbinowego na wzrost i parametry biochemiczne *Lycium* w warunkach stresu wywołanego 1 mM Pb(NO₃)₂ w kulturach *in vitro* **(P6)**.

Doświadczenie agrotechniczne zostało założone na plantacji w stacji doświadczalnej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego na Nizinie Szczecińskiej stąd też pochodził materiał badawczy do dalszych eksperymentów.

Pierwsza praca pt **“The influence of shrubs cutting method on yielding and quality of the goji berries (*Lycium barbarum* L.)”**.

Autorka skupiła się na analizie cięcia krzewu i wpływowi tej czynności na jakość otrzymanych owoców oraz parametry fizjologiczne krzewu. Zagadnienie to jest bardzo ważne, gdyż naturalny charakter wzrostu tej rośliny nie pozwala na uzyskanie plonu wysokiej jakości, dlatego podjęcie próby prowadzenia krzewu na 3 i 6 pędów było interesującym wyzwaniem badawczym i agrotechnicznym. Jednak w pracy wkradły się pewne skróty myślowe. Kolcowój chiński owocuje najlepiej na starszych pędach dwu, trzy i czteroletnich pozostawienie liczby pędów (3 lub 6 sztuk) w tym wieku jest korzystne gdyż krzew jest ażurowy i mniej podatny na infekcję patogenami grzybowymi. Z opisu doświadczenia nie ma jasności w jakim wieku były te pozostawione pędy. Metody cięcia i prowadzenia krzewów, dla każdego nowo wprowadzanego do uprawy gatunku muszą być dokładnie opracowane i wymaga to wielu doświadczeń agrotechnicznych, dlatego podjęte wyzwanie jest bardzo ważne. Autorka oceniła wysokość roślin, pole powierzchni przekroju pędów głównych, plon oraz potencjał regeneracyjny roślin, a także jakość i ilość uzyskanego plonu. Badania prowadzono w latach 2013 – 15. W pracy przedstawiono średnie z sezonów badawczych.

Uzyskane wyniki są interesujące, intensywne cięcie roślin i pozostawienie trzy lub sześć pędów znacząco wpłynęło na poprawienie takich parametrów jakościowych jak; masa owoców, ich długość, zawartość azotanów oraz kwasu l-askorbinowego. Z wielu danych literaturowych wiemy, że roślina, która ma ograniczoną agrotechnicznie liczbę pędów i dobrze wykształcony system korzeniowy, to proporcja ta wpływa korzystnie na parametry jakościowe plonu. Substancje odżywcze są przeznaczone dla ograniczonej liczby pędów, co często zwiększa parametry bioaktywne uzyskanych owoców. W wynikach można zaobserwować, że niektóre parametry nie mają takiej zależności. Doktorantka prowadziła badania w dwóch sezonach, a wyniki są przedstawione jako średnia, co może zaburzać tę zależność od strony „arytmetycznej”. Interesujące byłoby prześledzenie tej zależności w latach, z pewnością takie wyniki są zebrane przez autorkę.

Druga praca pt „**Comparison of morphological, antidiabetic and antioxidant properties of goji fruits**”.

Kolcowój (*L. chinense*), jest rośliną uprawianą powszechnie w Chinach, natomiast w Europie i w Polsce nasadzenia tego gatunku występują w ilości „galanteryjnej”, chociaż z roku na rok zainteresowanie tą rośliną zwiększa się. Z tego względu badań dotyczących jakości owoców uzyskanych w naszej szerokości geograficznej jest niewiele. Dlatego podjęte zadanie badawcze ma głębokie uzasadnienie nie tylko badawcze, ale i społeczne. Wyniki wskazują, że krzewy dobrze rosną i plonują w naszym klimacie, a skład biochemiczny jest zróżnicowany w zależności od odmiany. Autorzy publikacji wskazują, że odmiany Nr.1 i Big Lifeberry mogą być uznane za super żywność, ze względu na bogactwo polifenoli, prowitaminy A oraz kwasu *L*-askorbinowego, ponadto wykazują potencjalne działanie przeciwcukrzycowe i antyoksydacyjne. Obecność w owocach enzymów wpływających na obniżenie poziomu cukru we krwi zwiększa potencjał owoców do wykorzystywania ich w produktach typu „superfood”. Jednak stwierdzenie, że mają one działanie przeciwcukrzycowe jest za daleko idące, choć niewątpliwie potencjał taki owoce mogą mieć dlatego do takiego wniosku należałoby przedstawić szersze medyczne badania. Cenną informacją jest to, że w owocach nie wykryto obecności steroidów (α -solanina) oraz alkaloidów tropanowych (skopolamina), gdyż mają one w działanie toksyczne, a nawet niewielka ich zawartość w żywności może być alergenna. Dlatego bardzo cenne jest przebadanie odmian pod tym kątem. Z kolei odmiany New Big i Sweet Berry charakteryzują się wysokim ekstraktem, co może poprawiać smakowitość tych owoców dla konsumenta. W tej części badań cenne byłoby wykonanie testów organoleptycznych gdyż jagody tego gatunku nie cechują się dużą „smakowitością”

Trzecia praca **Health-promoting capacities of *in vitro* and cultivated goji (*Lycium chinense* Mill.) fruit and leaves; polyphenols, antimicrobial activity, macro-and microelements and heavy metals.**

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie wykorzystywaniem w diecie i suplementach diety surowców o dużej wartości bioaktywnej i składzie chemicznym uzupełniającym dietę w mikro i makroskładniki. Z tego względu wykorzystuje się często jako surowiec zielarski całe rośliny korzenie, pędy liście, kwiaty i owoce. Zadanie badawcze podjęte w trzeciej pracy miało na celu przeanalizowanie materiału

roślinnego dwóch odmian jagody goji pochodzącego z uprawy polowej oraz z warunków *in vitro*, pod kątem zawartości mikro- i makroskładników, związków polifenolowych, aktywności przeciwbakteryjnej oraz wartości odżywczej. Oceniono stężenia makroelementów i mikroelementów. Na uwagę zasługuje wysokie stężenie żelaza i miedzi akumulowane przez roślinę w liściach. Spożycie 100 g świeżych jagód goji dziennie przyczynia się do pokrycia około 30% i 35% normy dziennej dla miedzi. Choć wydaje się, że znacznie cenniejsze są związki bioaktywne, w które roślina jest bogata. W praktyce nie będziemy uzupełniać makroskładników spożywając liście jagody goji. Natomiast wspomaganie organizmu zróżnicowanymi, cennymi związkami bioaktywnymi, odbywa się w znacznie mniejszej ilości masy roślinnej. Dlatego uważam te analizy za bardzo wartościowe od strony poznawczej. Na szczególną uwagę zasługuje fakt bardzo rzetelnej analizy składu chemicznego. W załączonej publikacji oceniono zawartości 25 związków fenolowych obecnych w owocach, a także potencjał antyoksydacyjny (DPPH i FRAP). W owocach oznaczono występowanie czterech kwasów organicznych. Parametry te były oznaczane dla dwóch odmian Nr 1 i New Big.

Porównanie stężenia pierwiastków w materiale pochodzącym z *in vitro* i z sadu nie wydaje się być zasadnym, gdyż o stężeniu akumulowanych pierwiastków będzie decydował skład pożywki oraz warunki atmosferyczne w danym sezonie. Natomiast można opisać tendencję do akumulacji niektórych związków i taka analiza byłaby bardzo ciekawa, myślę że można ją przedstawić na podstawie danych zebranych przez doktorantkę.

Bardzo interesujące są wyniki dotyczące antybakteryjnego działania ekstraktu z owoców w stosunku do pięciu groźnych bakterii *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, *S. aureus* i *L. monocytogenes*. Informacje te mogą być wykorzystane poprzez dodatek ekstraktu z jagód goji do żywności, w celu stabilizacji mikrobiologicznej i mogą być przedmiotem dalszych bardzo interesujących projektów.

Czwarta praca **The effectiveness of disinfection methods on germination of goji seeds (*Lycium barbarum* L.) in *in vitro* culture**

Rozmnażanie jagody goji w warunkach *in vitro* jest bardzo trudne, roślina ta bardzo słabo rozmnaża się wegetatywnie i nie opracowano do tego do dzisiaj żadnego protokołu. Zakładanie kultur z merystemów czy pąków jest bardzo nieefektywne, choć

w przyszłości dla podtrzymania cech nowych odmian może stać się konieczne. Interesujące byłoby podjęcie wyzwania badawczego, pozwalającego na opracowanie składu pożywki do tej formy rozmnażania. Do tego gatunku najczęściej stosuje się techniki rozmnażania z nasion. Gatunek ten jest w dużym stopniu samopłodny, dlatego nasiona pozyskiwane z plantacji jednodmianowych w dość wiernie powtarzają cechy odmiany rodzicielskiej.

Opracowanie odpowiedniego protokołu odkażania nasion przed wprowadzeniem do kultury *in vitro* jest bardzo cenne. Wiele skutecznych środków dezynfekujących pozwala na ograniczenie infekcji bakteryjnych i grzybowych, ale też zmniejsza prawdopodobieństwo startu kultury. Określenie optymalnego środka dezynfekującego i jego stężenia jest bardzo istotne. Bardzo interesujący wydaje się sposób dezynfekcji za pomocą ozonowania. Metoda ta znajduje bardzo szerokie zastosowanie w produkcji ogrodniczej, jednak i w tym przypadku musi zostać określony precyzyjnie czas traktowania i stężenie ozonu w atmosferze dezynfekowanego materiału.

Piąta praca **Micropropagation, rooting, and acclimatization of two cultivars of goji (*Lycium chinense*)**.

Trudności z pozyskaniem dobrze ukorzenionego materiału produkowanego *in vitro* spowodowało poszukiwanie metod wzbogacenia pożywki w substancje, które mogły by wspomóc uzyskanie większej liczby ukorzenionego materiału. Pożywka standardowa MS uzupełniona *meta*-Topoliną w stężeniu 0,6 mgL⁻¹ oraz WPM bez dodatku roślinnych regulatorów pozwoliły na najlepszy wzrost eksplantatów. Do ukorzeniania zastosowano standardową pożywkę MS wzbogaconą o 20 ppm chitozanu co pozwoliło na bardzo wysoki procent ukorzenienia roślin. Trzeba wspomnieć że ten etap produkcji roślin w *in vitro* dla wielu gatunków przysparza wielu problemów. Dodatek chitozanu miał bardzo korzystny wpływ na ryzogenezę. Jest to bardzo interesujący aspekt badań. Przeniesienie roślin ze szkła w warunki szklarniowe wiąże się z dużym szokiem fizjologicznym. Rośliny muszą przystosować się do przyswajania substancji pokarmowych z innego podłoża. Badania

W procesie aklimatyzacji *ex vitro* mieszanina 90% torfu i 10% perlitu o wysokiej wilgotności (90%) była skutecznym podłożem dla odmian goji: No 1 i New Big. Uzyskane

wyniki mogą być przydatne do poprawy efektywności mikrorozmnażania i ukorzeniania roślin kolcowoju.

Szósta praca **Alleviating effects of ascorbic acid on lead toxicity in goji (*Lycium barbarum* L.) *in vitro*.**

Możliwą strategią przetrwania dla roślin w warunkach stresowych (w tym obecności na przykład metali ciężkich) jest zastosowanie niektórych związków, które mogłyby łagodzić efekt stresu. Zastosowanie kwasu askorbinowego jako antyoksydantu pośredniczy w tolerancji na metale ciężkie. Wpływ różnych antyoksydantów wpływa na poprawę odporności i adaptacji do wielu abiotycznych czynników stresowych.

Dodatek do pożywki roztworu ołowiu miał negatywny wpływ na cechy morfologiczne goji takie, jak długość pędu i korzeni jest to oczywiste, gdyż jest to pierwiastek o wysokim stopniu toksyczności. Najwięcej zmian zaobserwowano w przypadku liczby korzeni, a także wpłynął negatywnie na cały wegetatywny wzrost rośliny. Dodanie do pożywki 1 mM ASA znacznie złagodziło reakcję wywołaną przez $Pb(NO_3)_2$.

Ekspozycja eksplantatów goji na działanie 1 mM $Pb(NO_3)_2$ zmniejszyła zawartość barwników takich jak chlorofil czy karotenoidy, w porównaniu z próbą kontrolą. Dodatek do pożywki MS 1 mM ASA w warunkach stresu metalami ciężkimi wyraźnie zwiększył zawartość chlorofilu a i b oraz karotenoidów. Ponadto zaobserwowano, że aplikacja samego 1 mM ASA istotnie zwiększyła zawartość barwników fotosyntetycznych (takich jak chlorofil, a oraz chlorofil b) i nefotosyntetycznych (karotenoidy). Ponadto, zaobserwowano, że po zastosowaniu 1 mM ASA lub 1 mM $Pb(NO_3)_2$ zawartość proliny w siewkach goji była istotnie wyższa w porównaniu z próbą kontrolną, co jest związane z silną reakcją na stres fizjologiczny w roślinie. Jednak należy nadmienić, że kolcowój chiński nie jest hiper akumulatorem metali ciężkich, więc raczej nie będzie wykorzystywany na glebach skażonych ołowiem w celu bioremedjacji tego pierwiastka. Kwas askorbinowy zmniejsza stres związany z obecnością metalu ciężkiego i jest to wniosek czytelny i oczywisty w przedstawionych badaniach. Natomiast nie jest dla mnie czytelny cel tego eksperymentu, nie znalazłam go w załączonym manuskrypcie. Dlatego podczas obrony publicznej warto byłoby ten cel przedstawić szerzej.

Wniosek końcowy: Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Arlety Kruczek zatytułowana „**Wpływ zabiegów agrotechnicznych na plonowanie kolcowoju chińskiego (*Lycium chinense* Moll.) oraz jego wzrost w kulturach in vitro**” jest zgodna z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668) i Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2018 r., poz. 261). Uważam rozprawę za oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i przyczynek do dalszych szczegółowych badań dotyczących uprawy kolcowoju chińskiego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Stan wiedzy na temat agrotechniki tej rośliny jest niewielki, dlatego każde doświadczenie próbujące opracować technologię w oparciu o doskonałą znajomość fizjologii rośliny jest bezcenne. Wniosuję do Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego o dopuszczenie Pani mgr inż. Arlety Kruczek do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Kraków dnia 8.06 2022


Dr hab. Monika Bieniasz prof. URK





Prof. UPP dr hab. Grzegorz Łysiak

Poznań, 30 maja 2022 roku

Katedra Roślin Ozdobnych, Dendrologii i Sadownictwa

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Recenzja rozprawy doktorskiej pt.

"Wpływ zabiegów agrotechnicznych na plonowanie i jakość owoców kolcowoju chińskiego (*Lycium chinense* Mill.) oraz jego wzrost w kulturach in vitro"

mgr inż. Arleta Kruczek

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w dziedzinie Nauki rolniczej, dyscyplina rolnictwo i ogrodnictwo.

Recenzję wykonano na zlecenie prof. dr hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego, Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Zlecenie było skutkiem podjęcia uchwały nr 50 w dniu 28 marca 2022 roku przez Senat Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie podjętej na podstawie art. 14 ust. 1 pkt. 1 oraz art. 14 ust. 2 oraz art. 20 ust. 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 ze zm.) w związku z § 3 ust. 1 pkt 1 rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim.

Podstawa opracowania recenzji

Recenzję wykonano na podstawie wydruku pracy doktorskiej mgr. inż. Arlety Kruczek w 2022 roku w Szczecinie, wykonanej na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie pod kierunkiem naukowym promotora dr hab. Ireneusza Ochmiana, prof. ZUT z Katedry Ogrodnictwa oraz promotora pomocniczego dr. hab. Marceliny Krupy-Mańkiewicz z Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin.

Ocena problematyki badawczej

Przez wiele dziesięcioleci uprawa nowych odmian roślin ogrodniczych koncentrowała się na intensyfikacji upraw prowadzących do zwiększenia plonu z jednostki powierzchni. Nowe gatunki wprowadzano do uprawy rzadko, jednak oprócz nacisku na aklimatyzację roślin pochodzących z różnych stron świata, koncentrowano się także na intensyfikacji uprawy w celu uzyskania wysokiego plonu. W ostatnich latach rosnąca świadomość społeczna prozdrowotnego oddziaływania produktów pochodzenia roślinnego a z drugiej strony wzrost zagrożenia chorobami cywilizacyjnymi spowodowanymi niewłaściwym trybem życia i odżywiania skłoniły

badaczy do zainteresowania się nowymi gatunkami. Egzotyczne rośliny, z których produkty mają wysokie właściwości prozdrowotne czy też nawet nutraceutyczne, są testowane w wielu krajach rozwiniętych aby można było poszerzyć ofertę żywieniową. Bez wątpienia do takich roślin należy kolcowój chiński (*Lycium chinense* Mill.) – gatunek roślin z rodziny psiankowatych, pochodzący z obszarów Azji o umiarkowanym klimacie. Już samo pochodzenie z rejonów o klimacie zbliżonym do polskiego pozwala przypuszczać, że uprawa jego będzie możliwa w warunkach naszego kraju. Od początku tego stulecia jagody i soki Goji są sprzedawane jako zdrowa żywność w krajach zachodnich i chwalone w reklamach i mediach za sprzyjające dobremu samopoczuciu i jako środek przeciwstarzeniowy. Owoce w tradycyjnej medycynie chińskiej są traktowane jako lek o właściwościach pobudzających, zwiększających wytrzymałość, osłaniających wątrobę i poprawiających wzrok. Popularność produktów Goji gwałtownie wzrosła w ostatnich latach dzięki skutecznym strategiom marketingowym. Wszystkie te aspekty sprawiają, że jest to roślina godna sprawdzenia w warunkach Polski. Niewielka ilość informacji na temat niezbędnych zabiegów agrotechnicznych, sposobów uprawy i rozmnażania sprawia, że wybór takiej tematyki badawczej jest jak najbardziej uzasadniony. Uważam że, podjęcie tych badań na Uniwersytecie Zachodniopomorskim jest bardzo cenną decyzją, która może się w pełni przyczynić do wzrostu zainteresowania uprawą kolcowoju chińskiego, a w konsekwencji do powstania szeregu produktów cennych z punktu widzenia dietetycznego, prozdrowotnego. Borykające się z nadprodukcją w niektórych latach niektóre gałęzie sadownictwa przy poszerzeniu oferty mogą także zyskać z punktu widzenia biznesowego.

Ocena struktury rozprawy doktorskiej i formalnej strony

Rozprawa doktorska Pani mgr Arlety Kruczek przygotowana została jako cykl sześciu prac o charakterze doświadczalnym, opublikowanych w latach 2016-2021. Sumaryczna liczba punktów MNiSW wyniosła 310 punktów. Średnia liczba punktów na publikację wynosi 53, jednakże należy zwrócić uwagę na fakt, iż większość publikacji opublikowano przed zwiększeniem liczby punktów, która miała miejsce w 2019 roku. Jeśli policzono by je według aktualnie obowiązującej punktacji, to średnia wyniosłaby 73 pkt., co jest dobrym wynikiem. Dwie publikacje zostały wydane w czasopismach posiadających współczynnik wpływu (lista JCR) i suma tego miernika wyniosła 5,85. Pozostałe prace zostały wydane w Acta Universitatis Cibiensis oraz w macierzystym czasopiśmie Folia Pomeranae Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica. Wszystkie prace są wieloautorskie, lecz w pięciu z nich doktorantka jest pierwszym autorem, a w jednej drugim. Świadczy to o dominującym wkładzie doktorantki a także o umiejętności pracy w zespole, co uprawnia do zebrania prac w dorobek naukowy, stanowiący podstawę do rozprawy doktorskiej. Zgodnie z zebranymi oświadczeniami udział pani mgr Arlety Kruczek stanowił od 70% (3 prace), poprzez 60% (1 praca) i 50% (1 praca) do 30% (w której doktorantka jest drugim autorem).

Jeśli chodzi o piśmiennictwo zastosowane w artykułach, to dominują prace anglojęzyczne opublikowane w renomowanych czasopismach, na ogół z listy JCR. W publikacji dotyczącej agrotechniki (P1)

zacytowano 34 publikacji, z których 24 były po angielsku, natomiast polskojęzyczne miały swoje uzasadnienie, gdyż dotyczyły np. aspektów prawnych oraz formalnych zaleceń dla krzewów np. przy określaniu potrzeb nawozowych. W pracy drugiej dotyczącej morfologii oraz oceny właściwości chemicznych owoców dokonano przeglądu 54 prac, z których tylko pięć była w języku polskim. Przegląd literatury i dyskusja są niewątpliwie mocnym punktem tej publikacji. Pracę trzecią, badającą skład chemiczny liści i owoców oraz funkcjonalny charakter obecnych w nich związków (P3), zrealizowano w największym, pięcioosobowym, zespole, w skład którego wszedł prof. Oszmiański z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, który jest uznanym na arenie międzynarodowej ekspertem w tej tematyce. Pierwsza autorka (mgr Kruczek), zacytowała 58 pozycji literatury, z których tylko dwie były w języku polskim. Współpraca, czy też jak można domniemywać z racji pierwszego miejsca w publikacji, w znacznym stopniu kierowanie takim zespołem, z pewnością bardzo dobrze wpłynęło na naukowy rozwój doktorantki. Kolejna publikacja (P4) opisuje ocenę różnych metod dezynfekcji nasion na zdolność kiełkowania. Zajmuje się bardzo wąskim wycinkiem pracy z nowym gatunkiem i oceny możliwości jego uprawy, przez co w mojej ocenie do całości pracy nie wnosi dużo nowego. Ubogie i przewidywalne wyniki a także zastosowane piśmiennictwo (tylko 19 pozycji) wspierają moją opinię. Przedostatnia publikacja (P5) poprzez opracowanie procedury mikrorozmnażania wnosi ciekawe informacje zdobyte w czasie eksperymentu. Rozmnażanie dwóch odmian *Lycium chinense* na podstawie uzyskanych wyników nie powinno sprawiać rozmnażającym w ten sposób następcom większych problemów. Praca wzbogacona dokumentacją fotograficzną jest na dobrym poziomie. Jednak mam zastrzeżenia do ostatniej publikacji. Założenie, że gleba, na której zamierza ktoś uprawiać kolcowój, będzie skażona ołowiem i dlatego należy dopracować sposób ochrony rośliny przed tym metalem ciężkim, jest co najmniej zastanawiające. Nie widzę tu żadnego związku z poprzednimi pracami, ale także nie widzi tego związku sama doktorantka, gdyż nic takiego w jej autoreferacie nie znajduję. Proponuję, aby doktorantka uzasadniła to badanie, podając np. na podstawie źródeł, jaki jest udział gleb skażonych ołowiem w województwie zachodniopomorskim i ewentualnie jak wiele upraw sadowniczych musi się borykać z tym problemem. Jeśli dysponuje takimi danymi, to z pewnością powinna je zamieścić.

We wszystkich pracach recenzowanego cyklu mgr Arleta Kruczek współprojektowała doświadczenia, a także decydowała o metodyce badań, jak również brała udział w pisaniu publikacji oraz ich korekcie, co świadczy o bardzo dużym zaangażowaniu i samodzielności autorki. Jednocześnie skład autorski tych publikacji wskazuje na duże wsparcie i współdziałanie zespołu badawczego w realizacji badań, których wyniki zawarte są w niniejszej rozprawie doktorskiej. Publikacje składające się na cykl napisane są po angielsku (z polskimi streszczeniami w pracach wydanych na macierzystej uczelni). Artykuły są starannie przygotowane, zawierają przejrzystą, właściwie dobraną do prezentowania określonego typu wyników analizę graficzną, wspierającą analizę statystyczną, a także dokumentację fotograficzną. Jediną wątpliwość, jaką budzi ten aspekt pracy

doktorskiej, jest dobór prac do tej tematyki, ponieważ wydaje się, że jest ona w dużym stopniu przypadkowa i nie rozwiązuje żadnego z przedstawionych problemów całkowicie.

Ponurzej błędy i wątpliwości znalezione podczas czytania pracy:

1. Liczne błędy stylistyczne i typograficzne niestety umniejszają zalety prezentowanego cyklu. Jeśli przyczyną był pośpiech to niedobrze, gdyż dobre zaplanowanie czasu na wszystkie etapy doktoratu świadczą o dojrzałości aplikanta.
2. Dlaczego w polskiej treści autorzy cytowani są połączeni angielskim łącznikiem 'and'? Podobnie niezrozumiałe jest, dlaczego w polskim tekście pozostawiono angielskie tytuły prac. Skoro są one omawiane po polsku, to także należałoby je przetłumaczyć.
3. W autoreferacie są błędy w nazwiskach cytowanych autorów, na przykład pani Gramza-Michałowska.
4. Brak jednoznacznego spójnego celu pracy, jakim powinna charakteryzować się praca doktorska. Cele, które zostały opisane, zostały podporządkowane tematyce poszczególnych publikacji, które są bardzo różnorodne. Moim zdaniem brak jest im jakiejś myśli przewodniej, spójnej dla całej pracy doktorskiej. Jedynym łącznikiem dla wszystkich publikacji jest to, że badania były prowadzone na tym samym gatunku. Różnorakie badania prowadzone w zakresie odrębnej tematyki sprawiają, że całość jest dosyć chaotyczna. Zdecydowanie lepiej byłoby, gdyby autorka skoncentrowała się na jednym aspekcie, czyli na przykład na badaniach agrotechnicznych, próbując różnego rodzaju metody uprawy, różne odmiany, różne rozstawy, różne metody cięcia itd. To pozwoliłoby opisać jasne zalecenia co do uprawy tego nowego gatunku. Innym celem mogłoby być, na przykład, porównanie różnych metod rozmnażania, które dałyby jasną odpowiedź, w jakich warunkach która z metod jest najbardziej efektywna. Skupienie się wyłącznie na rozmnażaniu *in vitro* sprawiło, że nie ma jednoznacznej odpowiedzi, czy innego rodzaju rozmnażanie nie byłoby w Polsce również efektywne.
5. W rozdziale 3 pracy dotyczącej materiałów i metod, w części pierwszej podano podstrefę 7A bez wyjaśnienia, jakiego rodzaju jest to strefa. Jest to skrót myślowy, który może wprowadzać w konsternację.
6. W omówieniu doświadczenia pierwszego, w którym cięto rośliny, moim zdaniem precyzyjniej byłoby określić liczbę lat, przez które użytkuje się pojedynczy pęd, a nie liczbę pędów. Byłoby to dużo bardziej jednoznaczne.
7. Określenie „współczynnik korelacji spadł” jest niezrozumiałe. Nic nie wskazuje, że na tej podstawie liczono jakiś współczynnik czy też przeprowadzono analizę korelacji. Jeżeli tak, to między czym a czym, czy też badano, jaka była względna zawartość chlorofilu w liściach, czyli oznaczano indeks SPAD.
8. Stwierdzenie zawarte na stronie 13 w rozdziale dotyczącym oceny właściwości jagód kolcowoja jest nieprawdziwe. Poprzez ocenę czy zbadanie zawartości enzymów możemy tylko stwierdzić, że jest jakiś potencjał oddziaływania przeciwcukrzycowego. Cukrzyca jest chorobą bardzo złożoną i sama w sobie

obecność enzymów wcale nie musi się wprost przekładać na działanie przeciwcukrzycowe. Stwierdzenie takie mogłoby być zawarte, jeżeli przeprowadzono by badanie *in vivo* na ludziach z cukrzycą i zostało by dowiedzione, że jagody mają działanie przeciwcukrzycowe. Skoro tego typu badania nie były prowadzone, to można mówić tylko o ewentualnym potencjale przeciwcukrzycowym jagód.

9. Również na stronie 13 w tytule użyta została fraza o hodowli odmian „*in vitro*”. Osoba ubiegająca się o tytuł naukowy doktora powinna potrafić odróżniać hodowlę od uprawy i rozmnażania. Są to podstawowe terminy, a mylenie tego może razić nie tylko specjalistę.

10. Strona 15 akapit omawiający ostatnią publikację (numer 6) – trudno w tej publikacji doszukać się celu związanego z poprzednio przeprowadzanymi eksperymentami. Doświadczenie zostało założone i przeprowadzone prawidłowo, jednakże jest ono całkowicie niezależne i niezwiązane z badaniami prowadzonymi dotychczas. Jedynym łącznikiem jest gatunek będący przedmiotem doświadczenia.

11. Strona 16: Autorka referatu w omówieniu doświadczenia agrotechnicznego, notabene bardzo ciekawego, choć niepozbawionego błędów, nie daje do końca odpowiedzi na postawione tezę, a mianowicie w jaki sposób ciąć i w jaki sposób prowadzić krzewy, tak aby zarówno plon jak jakość owoców były optymalne. Jedną z 2 metod cięcia nazwano „na sześć pędów”, a w założeniu wspomniano, że co roku jeden pęd jest wymieniany. Czyli jeżeli jest to prowadzenie na 6 pędów, to należałoby doświadczenie prowadzić przynajmniej przez 6 lat, a wyniki z poszczególnych lat mogłyby dać odpowiedź, co się dzieje, gdy wymieniamy pędy co 3 lata, co 4 lata, co 5 i co 6. Wyniki, które są przedstawione, są – jak przypuszczam – średnią wieloletnią, która w tym wypadku bardzo mocno zaciemnia obraz. Tylko analiza poszczególnych lat mogłaby dać znacznie więcej odpowiedzi na stawiane tezy. Kolcowój jako gatunek w Polsce zasadzie nie jest uprawiany i w tym wypadku przeprowadzenie kilku doświadczeń agrotechnicznych z różnymi rozstawami, różnymi sposobami prowadzenia, mogłoby dać bardzo dobry przepis na to, w jaki sposób w naszych warunkach uprawiać tą roślinę. Przeprowadzone doświadczenie oprócz bardzo wielu ciekawych rezultatów nie pozwala wysnuć wniosków ogólnych.

Wszystkie uwagi traktuję jako pewne niedociągnięcia i jestem przekonany, że nie obniżają one wysokiej wartości merytorycznej recenzowanej pracy doktorskiej

Za najważniejsze rezultaty w przedłożonej do oceny pracy uznaję:

1. Wykazanie, że w Polsce można uprawiać krzewy kolcowoja, a temperatury zimą i wiosną nie powodują uszkodzeń.
2. Stwierdzenie, że intensywne cięcie ma duży wpływ na jakość owoców.

3. W badanych owocach goji nie wykryto skopolaminy, a poziom azotanów oraz metali ciężkich był poniżej obowiązujących norm.
4. Opracowanie pełnego cyklu mikrorozmnażania goji – od etapu inicjacji do adaptacji w warunkach ex vitro.
5. Udowodnienie że ozon, który jest mniej toksyczny dla środowiska, jest równie skuteczny w dezynfekcji nasion jak podchloryn sodu.
6. Jagody goji, ze względu na szerokie spektrum aktywności biologicznej o korzystnym wpływie na zdrowie, mogą być uznane za superżywność lub żywność funkcjonalną.
7. Wśród badanych odmian, owoce 'Big Lifeberry' wydają się być szczególnie cenne i mogą przypaść do gustu konsumentom ze względu na wielkość, masę oraz skład chemiczny.

Chcę ponadto podkreślić, że Doktorantka potrafi formułować podsumowanie dla praktyki rolniczej, co oceniam wysoko. Pani Magister zebrała i przytoczyła właściwe pozycje literatury, a jej wykaz został przygotowany prawie bezbłędnie. Praca doktorska Pani mgr inż. Arlety Kruczek jest w mojej opinii wartościowym opracowaniem, które poszerza wiedzę z zakresu możliwości uprawy i wykorzystania kolcowoja chińskiego w Polsce.

Wniosek końcowy

Pracę oceniam jednoznacznie pozytywnie, uznając ją - zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668) i Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2018 r., poz. 261), za oryginalne rozwiązanie problemu badawczego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Wniosuję do Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego o dopuszczenie mgr inż. Arlety Kruczek do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Prof. UPP dr hab. Grzegorz Łysiak

UCHWAŁA NR 299
Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
z dnia 5 grudnia 2022 r.

w sprawie nadania mgr inż. Arlecie Kruczek
stopnia doktora

Na podstawie art. 179 ust. 21 i 3 pkt 2b ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. poz. 1669, z późn. zm.) w związku z art. 14 ust. 2 pkt 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jedn. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789, z późn. zm.) uchwala się, co następuje:

§ 1.

Senat Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie nadaje mgr inż. Arlecie Kruczek stopień doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

§ 2.

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

Przewodniczący Senatu

Rektor

dr hab. inż. Jacek Wróbel, prof. ZUT