

em. Dr hab. Eleonora Gabryszewska, prof. IO  
Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3  
96-100 Skierniewice

*Adres prywatny*  
*ul. Lipowa 13*  
*96-127 Lipce Reymontowskie*

### **Recenzja**

osiągnięcia naukowego i całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr inż. Dariusza Kulusa w związku z postępowaniem habilitacyjnym przed Radą Naukową Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy

Pan dr inż. Dariusz Kulus ukończył studia magisterskie w roku 2011 na Wydziale Rolnictwa i Biotechnologii Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy na kierunku biotechnologia. Pracę magisterską pt. „Embriogeneza somatyczna u kaktusa z rodzaju *Astrophytum*” wykonał w pod kierunkiem dr Justyny Lemy-Rumińskiej. W okresie studiów trzykrotnie uzyskał Odznakę Honorową Najlepszego Studenta UTP nadaną przez JM Rektora oraz Nagrodę Dziekana Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii za osiągnięcie wyróżniających wyników w nauce. Podczas studiów magisterskich (2007-2011) otrzymywał stypendia naukowe.

W latach 2014 – 2017 był zatrudniony na stanowisku asystenta w Katedrze Roślin Ozdobnych i Warzywnych Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy. W tym okresie odbył krótkie staże zagraniczne na Wydziale Rolniczym Politechniki w Coimbrze w Portugalii (2015) i na Uniwersytecie Przyrodniczym w Pradze (CULS) w Czechach (2016).

W latach 2011 – 2016 odbył studia doktoranckie na Wydziale Rolnictwa i Biotechnologii UTP w Bydgoszczy. Podczas studiów otrzymał Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla doktorantów za wybitne osiągnięcia za rok akademicki 2014/2015 oraz Stypendium Prezydenta Miasta Bydgoszczy dla wybitnych młodych studentów. W styczniu 2016 roku uzyskał stopień naukowy doktora nauk rolniczych w dyscyplinie biotechnologia na podstawie pracy doktorskiej: „Wpływ krioprezerwacji metodą kapsułkowania-dehydratacji na stabilność genetyczną chryzantemy wielkokwiatowej (*Chrysanthemum × grandiflorum* /Ramat./Kitam.)” nadany uchwałą Rady Wydziału Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Praca ta została wykonana pod kierunkiem doktor hab. inż. Anny Mikuły, prof. PAN, jako promotora. Należy dodać, że dr inż. Dariusz Kulus zajmował I. miejsce na liście rankingowej doktorantów WRiB UTP w trakcie naboru i wszystkich lat studiów, a jego rozprawa doktorska była wyróżniona.

Od roku 2017 pracuje jako adiunkt w Katedrze Roślin Ozdobnych i Warzywnych UTP w Bydgoszczy (obecnie Pracownia Roślin Ozdobnych i Warzywnych; PROiW). W 2021 roku został powołany na stanowisko kierownika Pracowni Roślin Ozdobnych i Warzywnych PBŚ. Pracuje także jako lektor języka angielskiego w szkole językowej.

W dniu 8 czerwca 2022 roku zostałam powiadomiona przez Dziekana Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii Politechniki Bydgoskiej, Pana dr hab. inż. Edwarda Wilczewskiego, prof. PBŚ, że Rada Naukowa Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich powołała mnie na recenzenta w postępowaniu o nadanie Panu dr inż. Dariuszowi Kulusowi stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Wszystkie wymagane materiały i dokumenty otrzymałam.

### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Osiągnięcie naukowe stanowi jednotematyczny cykl dziesięciu publikacji przedstawionych pod wspólnym tytułem: „Morfogeneza in vitro, krioprezerwacja i indukcja zmienności u serduszki okazałej (*Lamprocapnos spectabilis* (L.) Fukuhara): aspekty fizjologiczne, biochemiczne, (cyto)genetyczne i

fenotypowe”. Cykl ten zawiera dziewięć artykułów oryginalnych i jeden komunikat, które były opublikowane w latach 2019 – 2022:

- P1. **Kulus D.**, 2020. Influence of growth regulators on the development, quality, and physiological state of in vitro-propagated *Lamprocapnos spectabilis* (L.) Fukuhara. In *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant* 56(4): 447-457. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10064-1> IF: 2,252 (40 pkt. MEiN)
- P2. **Kulus D.**, Muhire J.D., Aksoy B., 2021. Growth regulation and validation of homogeneity in in vitro-derived bleeding heart by molecular markers and spectral analysis of pigments. *Journal of Plant Growth Regulation* 40: 1521-1538. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10204-2> IF: 4,169 (70 pkt. MEiN)
- P3. **Kulus D.**, Tymoszuik A., 2020. Induction of callogenesis, organogenesis, and embryogenesis in non-meristematic explants of bleeding heart and evaluation of chemical diversity of key metabolites from callus. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 5826. <https://doi.org/10.3390/ijms21165826> IF: 5,923 (140 pkt. MEiN)
- P4. Miler N., **Kulus D.**, Woźny A., Rymarz D., Hajzer M., Wierzbowski K., Nelke R., Szeffs L., 2019. Application of wide-spectrum light-emitting diodes in micropropagation of popular ornamental plant species: A study on plant quality and cost reduction. In *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant* 55: 99-108. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9939-5>. IF: 1,814 (40 pkt. MEiN)
- P5. **Kulus D.**, 2020. Cryopreservation of bleeding heart (*Lamprocapnos spectabilis* (L.) Fukuhara) shoot tips using encapsulation-dehydration. *CryoLetters* 41(2): 75-85 IF: 1,066 (40 pkt. MEiN)
- P6. **Kulus D.**, 2020. Shoot tip cryopreservation of *Lamprocapnos spectabilis* (L.) Fukuhara using different approaches and evaluation of stability on the molecular, biochemical, and plant architecture levels. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 3901. <https://doi.org/10.3390/ijms21113901> IF: 5,923 (140 pkt. MEiN) Dariusz Kulus Załącznik nr 3 Strona 5 z 55
- P7. **Kulus D.**, 2020. Effect of bead composition, PVS type, and recovery medium in cryopreservation of bleeding heart ‘Valentine’ – Preliminary study. *Agronomy* 10: 891. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060891> IF: 3,417 (100 pkt. MEiN)
- P8. **Kulus D.**, Miler N., 2021. Application of plant extracts in micropropagation and cryopreservation of bleeding heart: An ornamental-medicinal plant species. *Agriculture* 11(6): 542. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060542> IF: 2,925 (100 pkt. MEiN)
- P9. **Kulus D.**, Tymoszuik A., 2021. Gold nanoparticles affect the cryopreservation efficiency of in vitro-derived shoot tips of bleeding heart. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 146: 297-311. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02069-4> IF: 2,711 (100 pkt. MEiN)
- P10. **Kulus D.**, Tymoszuik A., Jędrzejczyk I., Winięcki J., 2022. Gold nanoparticles and electromagnetic irradiation in tissue culture systems of bleeding heart: biochemical, physiological, and (cyto)genetic effects. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02236-1> IF: 2,711 (100 pkt. MEiN)

Od strony formalnej przedstawiony wniosek nie budzi wątpliwości. Cztery prace stanowiące osiągnięcie naukowe są samodzielne. Pozostałe sześć to prace współautorskie. Należy jednak podkreślić, że w pięciu z nich Habilitant jest pierwszym autorem i tylko w jednej publikacji drugim autorem. Świadczy to o dominującym wkładzie dr inż. Dariusza Kulusa w kontekście przedstawionego osiągnięcia naukowego, ponieważ pełnił wiodącą rolę w opracowaniu koncepcji badań i założeń metodycznych oraz w planowaniu, organizacji oraz w wykonaniu doświadczeń i analiz. Uczestniczył w opracowaniu wyników i analizie statystycznej danych, przygotowaniu zestawień tabelarycznych, rycin i manuskryptu oraz poprawy prac po recenzji.

Wszystkie prace napisane są w języku angielskim i zostały opublikowane w renomowanych, indeksowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, z bazy *Journal Citation Reports* (JCR). Łączna wartość prac dokumentujących osiągnięcie naukowe zgodnie z rokiem publikacji wynosi 870 punktów MEiN, a sumaryczny Impact Factor ww. publikacji zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 32,911.

Celem nadrzędnym przeprowadzonych badań naukowych było opracowanie podstaw wegetatywnego rozmnażania in vitro oraz długoterminowego przechowywania tkanek *L. spectabilis* w ciekłym azocie, a także poszerzenie zakresu zróżnicowania genetycznego u tego gatunku z wykorzystaniem klasycznych i nowoczesnych narzędzi biotechnologicznych. Oprócz celu głównego Autor sformułował sześć celów szczegółowych:

1. Opracowanie procedur umożliwiających regenerację *in vitro* roślin *L. spectabilis* o wysokiej jakości
2. Opracowanie procedury umożliwiającej długotrwałe przechowywanie tkanek serduszki okazałej w warunkach kriogenicznych
3. Poznanie komórkowej odpowiedzi serduszki okazałej na warunki kultur *in vitro*, w szczególności zdolności do biosyntezy substancji o działaniu antyoksydacyjnym
4. Określenie wielkości genomu *Lamprocapnos spectabilis* (L.) Fukuhara
5. Indukcja zmienności genetycznej dla potrzeb dalszej hodowli i doskonalenia roślin serduszki okazałej
6. Wskazanie markerów molekularnych SPAR (ang. Single Primer Amplification Reaction) umożliwiających identyfikację oraz ocenę zróżnicowania genetycznego roślin *L. spectabilis*

Badania przeprowadzono na czterech odmianach serduszki okazałej (*Lamprocapnos spectabilis* (L.) Fukuhara): 'Alba', 'Gold Heart', 'Valentine', 'White Gold'. W doświadczeniach stosowano rośliny pochodzące z warunków *in vitro* lub *ex vitro*. Do realizacji kilku różnych celów szczegółowych i szerokiej problematyki badawczej konieczne było opracowanie przez Habilitanta odpowiednich układów doświadczalnych i opanowanie różnych metod badawczych i technik analitycznych. Poza tradycyjnymi metodami pomiarów stosowanych podczas uprawy roślin *in vitro* oraz *in vivo*, korzystano z technik mikroskopowych (w tym transmisyjnej mikroskopii elektronowej; TEM), narzędzi cytogenetycznych, technik pomiaru wymiany gazowej i intensywności fotosyntezy roślin, metod chromatograficznych (HPLC), spektralnych oraz molekularnych.

W badaniach nad opracowaniem metody wegetatywnego rozmnażania *in vitro* serduszki okazałej analizowano wpływ regulatorów wzrostu na regenerację eksplantatów merystematycznych i niemerystematycznych (P1, P2, P3), określono działanie naturalnych ekstraktów roślinnych i nanocząstek w kulturach *in vitro* (P8, P10) i badano wpływ szeroko-spektralnych diod elektroluminescencyjnych (LED) na morfogenezę (P4). Wykazano, że reakcja morfogenetyczna merystemów na zastosowane regulatory wzrostu, naturalne ekstrakty roślinne i nanocząsteczki różniła się w zależności od genotypu (odmiany). Znaczny wzrost wartości współczynnika namnażania uzyskano po zastosowaniu ekstraktu kokosowego i ryżowego, które stymulowały proliferację pędów. Przełomem w opracowaniu protokołów mikrorozmnażania *L. spectabilis* okazało się dodanie nanocząstek złota do pożywki, które pozytywnie wpłynęły na proliferację pędów bocznych (dwukrotnie wyższa wartość współczynnika namnażania niż w przypadku klasycznych regulatorów). Lampy LED o wysokiej zawartości światła czerwonego i dalekiej czerwieni były optymalne dla wzrostu *in vitro* i mikrorozmnażania serduszki okazałej, jako gatunku. Efektywność kallogenezy na eksplantatach niemerystematycznych (liście, ogonki liściowe, międzywęzła) była niezależna od typu eksplantatu. Stwierdzono wpływ rodzaju eksplantatu i składu pożywki na suchą i świeżą masę otrzymanego kalusa. Obserwowano słabą regenerację z kalusa pędów przybyszowych i korzeni, a nieco lepszą zarodków somatycznych. Na podstawie uzyskanych wyników badań, Autor zaproponował modelowe procedury prowadzenia kultury pędowej oraz kultury kalusa. Ważnym elementem tych procedur jest ocena zmienności somaklonalnej, która jest zjawiskiem niekorzystnym podczas rozmnażania materiału *in vitro*, który musi być jednorodny fenotypowo i genotypowo. Autor stwierdził, że jednoczesna obecność auksyn i cytokinin w pożywce powoduje występowanie zmienności somaklonalnej. Zmienność na poziomie sekwencji DNA została wykryta odpowiednio u 36,8% i 69,1% roślin serduszki okazałej przez markery SCoT i RAPD (P2). Znaczenie tych badań jest bardzo ważne z punktu widzenia komercyjnej produkcji *in vitro*, gdzie pojawienie się zmienności somaklonalnej wyklucza materiał roślinny z procesu produkcyjnego. Stąd też ważne jest aby rośliny ze zmienionym genotypem jak najwcześniej eliminować po wykryciu zmian przez markery molekularne.

Nasuwa się jednak pewna uwaga. Doświadczenia dotyczące reakcji morfogenetycznych eksplantatów merystematycznych przeprowadzono na dwu odmianach - 'Gold Heart', 'White Gold' (P1, P2), natomiast do badania reakcji eksplantatów niemerystematycznych użyto jednej, innej od poprzednich odmiany - 'Alba' (P3). Ze względów metodycznych lepiej byłoby stosować te same odmiany w obydwu rodzajach doświadczeń.

Kolejne badania koncentrowały się na opracowaniu optymalnej metody dla długoterminowego przechowywania eksplantatów *L. spectabilis* w ciekłym azocie. Habilitant wykazał, że technika

kapsułkowania-witryfikacji zapewniła najlepszą przeżywalność materiału biologicznego (ponad 73%), jak również najbardziej intensywny rozwój roślin po odmrożeniu eksplantatów, tj. proliferację pędów i regenerację korzeni, której nie obserwowano w obiekcie kontrolnym (P6). Po raz pierwszy w badaniach z zakresu krioprezerwacji merystemów wykorzystano nanomateriały, które w niskich stężeniach spowodowały podniesienie efektywności technik kriogenicznych. Dodatek nanocząstek złota (w niskich stężeniach) do alginianowej kapsułki podnosił znacząco skuteczność krioprezerwacji (wzrost przeżywalności eksplantatów o 20% w porównaniu do nietraktowanej kontroli), bez wpływu na stabilność genetyczną roślin (P9). Odkrycie to może być przełomowe dla dalszego rozwoju kriobiologii. Przeprowadzone analizy molekularne materiału biologicznego (ISSR, RAPD, SCoT) wykazały, że zachowanie stabilności genetycznej uzyskano w przypadku metod opartych na kapsułkowaniu (P5, P6).

Kilka z przedstawionych do oceny prac przedstawia wyniki analizy biochemicznej pędów i kalusa serduszki uzyskanych *in vitro*. Analizowano zawartość barwników fotosyntetycznych i nieenzymatycznych przeciwutleniaczy (P1-P3, P6, P10). Wykonane analizy porównawcze wykazały znaczne różnice w zawartości barwników w kalusie i pędach. Wykazano, że auksyny (IAA, NAA) stymulowały biosyntezę chlorofilu, karotenoidów antocyjanów i polifenoli w pędach lub kalusie, a nanocząsteczki złota biosyntezę tanin (P10).

W kolejnych badaniach określono aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych w roślinach *L. spectabilis*. (P9, P10). Analiza aktywności enzymatycznej komórek pozwoliła wskazać peroksydazę gwajakolową (G-POX) jako najbardziej czuły marker stresu oksydacyjnego u *L. spectabilis* wywołanego m.in. przez deficyt wody lub czynnik termiczny. Natomiast najbardziej stabilnym spośród przebadanych białek katalitycznych w warunkach stresu była reduktaza glutationowa (GR).

Ważnym osiągnięciem Habilitanta jest określenie wielkości genomu serduszki okazałej. Przeprowadzone analizy cytometryczne pozwoliły stwierdzić, że *L. spectabilis* posiada bardzo mały genom (1281 Mbp). Oznaczona wielkość zostanie zgłoszona do międzynarodowej bazy wielkości genomu, the Plant DNA C-values Database, prowadzonej przez Royal Botanic Gardens, Kew w Wielkiej Brytanii (P10).

Kolejne badania dotyczyły wykorzystania zmienności somaklonalnej i indukowanej mutagenezy w poszerzaniu zakresu zmienności genetycznej u serduszki okazałej. Autor po raz pierwszy przeprowadził badania zmierzające do zwiększenia zakresu zmienności genetycznej serduszki okazałej na drodze indukowanej mutagenezy (P10). Stosował następujące mutageny, których skuteczność uszeregował następująco: mikrofałe < AuNPs < promieniowanie X. W wyniku prowadzonych prac udało się otrzymać rośliny o zmienionym kształcie liści. Po pozytywnym przejściu badań OWT, mutanty te będą mogły być zarejestrowane jako nowe odmiany. Wyniki tych badań mają znaczenie praktyczne dla programów hodowlanych nowych odmian *L. spectabilis* dla celów ogrodniczych, jak i fitofarmaceutycznych.

Bardzo ważnym elementem osiągnięcia naukowego Habilitanta była optymalizacja warunków reakcji PCR i wytypowanie starterów DAMD, ISSR, RAPD i SCoT umożliwiających identyfikację oraz ocenę zróżnicowania genetycznego roślin *L. spectabilis* (P2, P5, P6, P9, P10). Były one zastosowane do oceny stabilności genetycznej kultur *in vitro* serduszki okazałej (rośliny, kalus, zarodki somatyczne) i roślin regenerujących po przechowywaniu w ciekłym azocie oraz uzyskanych na drodze indukowanej mutagenezy.

Przedstawiony przez dr inż. Dariusza Kulusa cykl publikacji do postępowania habilitacyjnego stanowi spójny i logiczny materiał, który koncentruje się na procesie regeneracji i rozmnażaniu *in vitro* gatunku *Lamprocapnos spectabilis* (L.), długoterminowym przechowywaniu kultur *in vitro* w ciekłym azocie, indukowaniu zmienności oraz wskazaniu markerów molekularnych umożliwiających identyfikację oraz ocenę zróżnicowania genetycznego roślin serduszki okazałej. Osiągnięte wyniki badań stanowią istotny merytoryczny wkład w wiedzę dotyczącą kultur *in vitro* *L. spectabilis* i szeroko pojętej biotechnologii tego gatunku. Mają one nie tylko charakter podstawowy, ale także aplikacyjny i mogą być wdrożone w bankach genów (przechowywanie w ciekłym azocie) w celu zachowania różnorodności biologicznej, w produkcyjnych laboratoriach kultur *in vitro* w celu mikrorozmnażania i oceny stabilności genetycznej rozmnażanych roślin, w firmach farmaceutycznych dla pozyskiwania metabolitów wtórnych, a także w firmach prowadzących prace hodowlane nowych odmian serduszki.

Należy dodać, że dr inż. Dariusz Kulus dysponuje bardzo dobrym warsztatem badawczym, o czym świadczy szeroki zakres badań, zastosowanie nowoczesnych metod i technik badawczych, umiejętność interpretacji uzyskanych wyników oraz duża znajomość literatury dotyczącej przedmiotu. Habilitant w sposób dojrzały rozwiązuje problemy badawcze i klarownie przedstawia ich wyniki.

### Ocena aktywności naukowej

Dorobek naukowy Habilitanta obejmuje w sumie 40 publikacji naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych (w tym 10 wydanych przed uzyskaniem stopnia doktora). Przedstawiony dorobek zawiera 25 prac oryginalnych (23 w periodykach z listy JCR) i 15 publikacji przeglądowych (5 z listy JCR). Wszystkie publikacje oryginalne oraz 11 przeglądowych są pracami anglojęzycznymi. Prace te zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach o wysokiej wartości współczynnika wpływu (IF), takich jak: *International Journal of Molecular Sciences*, *Journal of Plant Growth Regulation*, *Industrial Crops and Products*, *Agronomy*, *Biodiversity and Conservation*, *Agriculture*, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, *In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, *Scientia Horticulturae*, *Acta Physiologiae Plantarum*, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *CryoLetters*, *Turkish Journal of Biology*, *Acta Scientiarum Polonorum*, *Hortorum Cultus*, *Propagation of Ornamental Plants*, *Haseltonia*.

Oprócz tego Habilitant jest autorem 11 rozdziałów w monografiach (4 w języku angielskim oraz 7 w języku polskim), z czego 6 ukazało się przed uzyskaniem stopnia doktora. Pierwszym autorem jest w przypadku 38 prac, w 47 autorem korespondencyjnym, a jedynym autorem 24 publikacji (około 43%). Przedmowa jego autorstwa do książki Cambridge Scholars Publishing Limited jest obecnie w druku. Brał udział w 68 konferencjach naukowych, w tym 29 międzynarodowych, z których 17 odbyło za granicą (Austria, Belgia, Bułgaria, Francja, Indie, Szwecja, Turcja, USA). Wyniki badań przedstawił w formie 37 referatów oraz 28 posterów. Jest autorem 50 streszczeń opublikowanych w materiałach konferencyjnych. W zdecydowanej większości prac wkład Habilitanta w ich powstanie polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, uczestniczeniu w wykonaniu doświadczeń i analiz, udziale w pisaniu manuskryptu i jego przygotowaniu do druku.

Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) według listy JCR, zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 66,918 (3,300 przed uzyskaniem stopnia doktora), a liczba punktów MNiSW/MEiN – 2216 (189 pkt. przed doktoratem). Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS) wynosi 325 (indeks Hirscha 10), wg bazy Scopus: 341 (H-indeks 10, 7 bez autocytowań), wg Google Scholar: 609 (H-indeks: 13, i10-index 20), a według portalu ResearchGate: 558 cytowań i 111 rekomendacji (H-indeks 13, 10 bez autocytowań).

Pan dr inż. D. Kulus wykazuje bardzo dużą aktywność w zakresie wykonanych recenzji prac naukowych. Dotychczas wykonał 193 recenzje (z czego 30 przed uzyskaniem stopnia doktora i 163 po) dla 82 czasopism (50 z bazy JCR). W tym 139 recenzji dla periodyków znajdujących się w bazie JCR i 54 dla czasopism spoza tej bazy. Ponadto wykonał kilkanaście tłumaczeń i korekt językowych manuskryptów i autoreferatów dla pracowników naukowych rodzimej uczelni i innych ośrodków badawczych.

Był kierownikiem dwóch projektów badawczych realizowanych w ramach konkursów NCN i MNiSW. Wykonawcą w projektach MRiRW i B+R Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego.

Poza tematyką omówioną w osiągnięciu naukowym, dr inż. Dariusza Kulusa zajmował się także innymi zagadnieniami badawczymi. Dotyczyły one gatunków roślin ozdobnych, rolniczych, warzywnych, leczniczych i owocowych rosnących *in vitro* oraz *in vivo*. Nie sposób tutaj omówić szczegółowo szerokiej i imponującej działalności naukowej, stąd też ograniczę się do krótkiego zasygnalizowania kilku grup tematycznych.

Najobszerniejsze zagadnienie badawcze to zastosowanie technik kriogenicznych dla przechowywania żywego materiału roślinnego. Już podczas studiów doktoranckich zajmował się zagadnieniem dotyczącym erozji genetycznej oraz wykorzystaniem krioprezerwacji w ochronie bioróżnorodności. Rozprawa doktorska dr inż. Dariusza Kulusa, której promotorem była dr hab. Anna Mikula, prof. PAN, dotyczyła krioprezerwacji chimer roślinnych chryzantemy oraz analizy ich szeroko pojętej stabilności po przechowywaniu w ciekłym azocie. Wyniki badań wykazały możliwość

bezpiecznego przechowywania chimer roślinnych w ciekłym azocie, bez separacji ich komponentów. Zainteresowanie Habilitanta metodą krioprezewacji było kontynuowane i zaowocowało kilkoma oryginalnymi i przeglądowymi publikacjami. Wyniki badań z tego obszaru były przedstawione także na kilku konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Inne badania dotyczyły zastosowania metod i narzędzi biotechnologicznych w indukowaniu zmienności w hodowli twórczej chryzantemy. Badano wpływ nanocząsteczek srebra i mikrofal (generowanych przez klasyczną kuchenkę mikrofalową) na proces regeneracji i rozmnażania *in vitro* chryzantemy oraz na stabilność genetyczną i fenotypową otrzymanych roślin. Stwierdzono, że wysokie stężenie nanocząsteczek srebra działało mutagennie i powodowało zmiany w fenotypie i genotypie chryzantemy (RAPD i ISSR). Opublikowane wyniki były pierwszą pracą, która wskazywała na możliwość wykorzystania AgNPs w kulturach *in vitro* zastosowanych w hodowli roślin ozdobnych. W efekcie prowadzonych badań uzyskano dwie nowe odmiany chryzantemy wielkokwiatowej, które pomyślnie przeszły testy prowadzone przez Centralny Ośrodek Badań Odmian Roślin Uprawnych (COBORU). Wykazano także, że zastosowanie mikrofal powodowało zmiany w fenotypie, które zostały potwierdzone przez analizy RAPD. Habilitant badał także zjawisko chimeryzmu jako źródła zmienności u roślin. Badania te prowadził na chryzantemie wielkokwiatowej, u której chimery pojawiają się często. Do detekcji zmienności stosował metodę cytometrii przepływowej. Uzyskane wyniki wykazały, że analiza zawartości jądrowego DNA w młodych roślinach chryzantemy (na etapie namnażania roślin *in vitro*) jest wiarygodnym wskaźnikiem stabilności koloru kwiatostanów, zwłaszcza w przypadku odmian chimeralnych, a także może być wykorzystana w detekcji somaklonów.

Kolejne zagadnienie badawcze to zastosowanie embriogenezy somatycznej i mikrorozmnażania jako narzędzi w biotechnologii roślin ogrodniczych. Zainteresowanie dr inż. Dariusza Kulusa wyżej wymienioną tematyką rozpoczęła się od realizacji badań do pracy magisterskiej, które dotyczyły indukcji embriogenezy somatycznej u *Astrophytum asterias* (Zucc.) Lem. – zagrożonego gatunku meksykańskiego kaktusa. Były to pierwsze badania dotyczące kultur *in vitro* tego gatunku, a ich wyniki mogą być pomocne w odtwarzaniu populacji *A. asteria*. W późniejszym okresie Habilitant kontynuował badania nad regeneracją w kulturach *in vitro* innych gatunków kaktusów i sukulentów. Ponadto prowadził badania dotyczące możliwości wykorzystania technologii sztucznych nasion w propagacji kilku odmian chryzantemy i innych przedstawicieli astrowatych. Uczestniczył w pracach polsko-portugalskiej grupy badawczej, które dotyczyły wyselekcjonowania nowych linii jeżówki purpurowej (*Echinacea purpurea* (L.) Moench), zasobnych w metabolity wtórne. Badano potencjał regeneracyjny roślin z wyselekcjonowanych linii i możliwość ich namnażania *in vitro* na drodze embriogenezy somatycznej.

W ramach międzynarodowego zespołu badawczego (pod kierunkiem dr. Jaime A. Teixeira da Silva z Japonii) prowadzono badania dotyczące metod dezynfekcji eksplantatów i warunków prowadzenia kultur tkankowych u *Crocus sativus* L. Owocem tej współpracy była także publikacja dotycząca biotechnologii chryzantemy.

Znaczącym osiągnięciem było opracowanie po raz pierwszy kompletnej procedury mikrorozmnażania serduszki hybrydowej (*Dicentra × hybrida*), gatunku blisko spokrewnionego z serduszką okazałą.

Inna tematyka to badania nad strukturą genetyczną pomidora i jego zasobów genowych, sposobów ich ochrony i przechowywania (*in situ/ex situ*), bibliotek DNA oraz wykorzystania technik molekularnych w mapowaniu zmienności i klasycznej oraz nowoczesnej hodowli.

Jedyny obszar badawczy, który dotyczył kwestii związanych z uprawą szklarniową lub polową roślin (truskawka, poziomka, pszenica, pszenżyto) to badania dotyczące fizjologicznej, biochemicznej i molekularnej kontroli roślin uprawianych w warunkach *in vivo*. Badano przydatność czterech popularnych odmian poziomki i truskawki w uprawie na matach kokosowych, w szklarni z systemem fertygacji i doświetlania. Analizowano dynamikę kwitnienia i owocowania, analizę biomasy liści, zawartości barwników i cukrów w owocach i liściach, a także pomiary aktywności fotosyntetycznej i wymiany gazowej. Przeprowadzone analizy biochemiczne potwierdziły wysoką wartość odżywczą owoców wyprodukowanych zimą w szklarni.

W roku 2021 Habilitant włączył się w realizację projektu finansowanego w ramach programu MRiRW „Postęp biologiczny w produkcji roślinnej 2020”, którego kierownikiem jest dr hab. Grzegorz Lemańczyk, prof. PBS. Celem badań jest poszukiwanie fenotypowych, molekularnych i metabolicznych markerów odporności na patogen *Puccinia graminis* Pers. u dwóch popularnych gatunków zbóż – pszenicy (*Triticum aestivum* L.) i pszenżyta (\**Triticosecale*).

Wyniki badań ze wszystkich omawianych grup tematycznych były opublikowane w wielu renomowanych międzynarodowych czasopismach i prezentowane na konferencjach, co zostało przedstawione na początku opisu oceny osiągnięć naukowych.

Pan dr inż. Dariusz Kulus przez cały okres swojej pracy na uczelni współpracuje z wieloma ośrodkami naukowymi w kraju i zagranicą. Na pierwszym miejscu należy wymienić Ogród Botaniczny Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej PAN w Powsinie, gdzie realizował część badań do pracy doktorskiej. Jako kierownik projektu naukowego w ramach programu MNiSW Iuventus Plus prowadził badania na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego. Należy zaznaczyć, że współpraca z PAN oraz UW zaowocowała powstaniem 7 publikacji naukowych (4 z listy JCR). Wspólnie z Katedrą Onkologii i Brachyterapii CM UMK i Zakładem Fizyki Medycznej Centrum Onkologii w Bydgoszczy prowadzi badania nad indukowaną mutagenezą u roślin.

Współpraca naukowa dr inż. Dariusza Kulusa z ośrodkami badawczymi zagranicznymi jest bardzo bogata i dotyczy następujących instytucji naukowych:

- King Saud University (Arabia Saudyjska)
- São Paulo State University (UNESP) School of Agricultural and Veterinarian Sciences oraz School of Sciences and Engineering (Brazylia)
- Chinese Academy of Sciences, South China Botanical Garden, Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, Guangzhou (Chiny)
- Czech University of Life Sciences in Prague, Faculty of Tropical AgriScience (Czechy)
- Helsinki University (Finlandia) –
- University of Murcia, CEBAS-CSIC (Hiszpania)
- Hamdard University, Delhi (Indie)
- Rubber Research Institute of India (Indie)
- Sardar Patel University (Indie)
- Islamic Azad University (Iran)
- Kagawa University (Japonia)
- Polytechnic Institute of Coimbra, Institute of Applied Research, CERNAS - Research Centre for Natural Resources, (Portugalia)
- Delaware State University (USA).

Rezultatem tej bogatej współpracy były 4 rozdziały w monografiach, 7 oryginalnych prac naukowych i 4 doniesienia konferencyjne.

Pan dr inż. Dariusz Kulus był członkiem komitetu naukowego 3 konferencji krajowych i 1 zagranicznej. W latach 2018-2021 był edytorem sekcyjnym kwartalnika BioTechnologia.

W okresie dotychczasowej aktywności naukowej odbył 5 staży i praktyk krajowych oraz uczestniczył w 6 studyjnych stażach zagranicznych (Portugalia, Czechy, Chorwacja, Gruzja, Grecja, Hiszpania). Uczestniczył w 5 programach europejskich lub międzynarodowych (np. Projekt I-STAR, MSc Thesis Project, Erasmus+). Brał udział w 7 projektach finansowanych w ramach wydziałowego funduszu grantowego WRiB (BSM) Granty dla Młodych Naukowców, w 3 projektach prowadzonych w ramach badań naukowych (BN) i statutowych (BS) oraz jako wykonawca w 1 projekcie międzynarodowym.

Bardzo ważnym elementem aktywności dr inż. Dariusza Kulusa jest współpraca naukowa z podmiotami gospodarczymi, głównie w zakresie rozmnażania roślin in vitro. W latach 2018 – 2019 pełnił funkcję analityka badań na zlecenie firmy VITROFLORA Grupa Producentów Sp. z o.o. w Trzęsaczu w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego. Przedsięwzięcia to miało na celu opracowanie technologii połączonego procesu aklimatyzacji i ukorzeniania in vivo roślin pochodzących z rozmnażania in vitro. Obecnie jest wykonawcą w projekcie dotyczącym opracowania technologii inicjacji i namnażania kultur in vitro borówki wysokiej (*Vaccinium*

*corymbosum* L.), realizowanym w ramach badań zleconych i prac B+R. Wspólnie z naukowcami z Politechniki Gdańskiej oraz pracownikami przedsiębiorstwa NIVISS w Gdyni (producenta urządzeń elektrycznych i elektronicznych) prowadził badania, w których określono wpływ warunków świetlnych (składu widma optycznego) na wzrost i rozwój *in vivo* dwóch popularnych odmian bazylii (*Ocimum basilicum* L.): właściwej i czerwonej. Współpraca ta jest obecnie kontynuowana i dotyczy wpływu lamp LED o zróżnicowanym spektrum światła na wzrost i aktywność metaboliczną roślin zielarskich.

W roku 2020 dr inż. Dariusz Kulus złożył 5 wniosków patentowych na wynalazek do Urzędu Patentowego RP. Dotyczą one następujących wynalazków: Sposób otrzymywania pędów bocznych u *Dicentra × hybrida* (1 wniosek), sposobów krioprezerwacji pąków wierzchołkowych *Lamprocapnos spectabilis* (4 wnioski). Wnioski te znajdują się obecnie na etapie weryfikacji merytorycznej.

Dorobek naukowy dr inż. Dariusza Kulusa jest bardzo duży, wartościowy i innowacyjny, a tematyka badawcza bardzo szeroka i różnorodna. Badania były przeprowadzone na wysokim poziomie z wykorzystaniem nowoczesnych metod i technik biotechnologicznych. Habilitant wykazał bardzo dużą aktywność w zakresie współpracy naukowej z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami badawczymi oraz w pozyskiwaniu projektów badawczych. Współpraca naukowa Habilitanta z firmami biotechnologicznymi zajmującymi się rozmnażaniem roślin *in vitro* świadczy o praktycznym zastosowaniu wyników badań naukowych w gospodarce.

### **Działalność dydaktyczna i organizacyjna**

Główną działalnością dydaktyczną dr inż. Dariusza Kulusa jest prowadzenie zajęć dydaktycznych ze studentami krajowymi i zagranicznymi. Są to wykłady, seminaria i ćwiczenia laboratoryjne oraz prace projektowe, np.:

- ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotu „Biotechnologia w produkcji roślinnej” oraz seminaria dyplomowe w języku polskim i angielskim
- przygotowanie sylabusów semestralnych wykładów fakultatywnych (elektywów) z przedmiotu „Kriobiologia”
- prowadzenie semestralnych wykładów i ćwiczeń laboratoryjnych z przedmiotu „Agrobiotechnologia” w ramach projektu Umiejdzynarodowienie oferty dydaktycznej na Wydziale Rolnictwa i Biotechnologii UTP w Bydgoszczy.

Pan dr inż. Dariusza Kulusa był promotorem 2 prac magisterskich wykonanych przez studentów zagranicznych oraz 1 pracy inżynierskiej. Był także opiekunem naukowym podczas realizacji doświadczeń do 1 pracy magisterskiej i 2 prac inżynierskich. Oprócz tego sprawował opiekę naukową nad studentami zagranicznymi (2-miesięczna, semestralna) w ramach programów: Erasmus+ (Turcja), MSc Thesis Project (Turcja), I-STAR (USA). Opiekował się także studentami z Manash Kozybayev North Kazachstan State University biorącymi udział w Szkole Letniej w UTP.

Na uwagę zasługuje duże zaangażowanie dr inż. Dariusza Kulusa w działalność popularyzatorsko-dydaktyczną uczelni przejawiającą się aktywnym udziałem w realizacji imprez popularnonaukowych przeznaczonych głównie dla uczniów szkół średnich, a także dla słuchaczy Uniwersytetu Trzeciego Wieku i szerszego kręgu odbiorców. Omówienie całej aktywności Habilitanta w tym zakresie nie jest możliwe, wymienię tylko najważniejsze działania:

- prowadzenie zajęć dydaktycznych w ramach Uniwersytetu Dziecięcego UTP, Uniwersytetu Młodego Odkrywcę oraz Uniwersytetu Trzeciego Wieku,
- prowadzenie wykładów oraz warsztatów w ramach Bydgoskiego Festiwalu Nauki,
- pokazy, wykłady i wywiady popularyzujące naukę dla słuchaczy z różnych grup wiekowych,
- prowadzenie tematycznych stron/profilu na portalach społecznościowych,
- konkursy fotograficzne popularyzujące naukę,
- autorstwo lub współautorstwo licznych artykułów popularnonaukowych
- przewodniczący bloku Ogrodnictwo, Komitetu Okręgowego Olimpiady Wiedzy i Umiejętności Rolniczych (XLIV edycja, 2021 r.).

Jako członek towarzystw naukowych: Koła Naukowego BioX, Polskiego Towarzystwa Agronomicznego oraz Society for Cryobiology upowszechnia szeroko rozumianą wiedzę z zakresu biotechnologii roślin oraz nowoczesnego ogrodnictwa.



Zaangażowanie inż. dr Dariusza Kulusa w działalność organizacyjną na rzecz Uczelni i Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii jest bardzo szerokie i imponujące. Wymienię tutaj kilka najważniejszych funkcji, które obecnie pełni:

- Kierownik Pracowni Roślin Ozdobnych i Warzywnych WRiB PBŚ (2021- 2024)
- Członek Rad Naukowej Dyscyplin Rolnictwo i Ogrodnictwo WRiB PBŚ (2020- 2024)
- Członek Komisji ds. Ewaluacji (komisja doradcza Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo WRiB PBŚ) (2020-2024)
- Redaktor Wydziałowy ds. Expertusa - Bibliografii dorobku naukowego pracowników, doktorantów i studentów WRiB
- Wydziałowy Koordynator Międzynarodowych Programów Badawczych (od IX 2020)
- Przewodniczący bloku Ogrodnictwo, Komitetu Okręgowego prestiżowej Olimpiady Wiedzy i Umiejętności Rolniczych (XLIV edycja, 2021 r.)
- Członek Zespołu ds. Strategii Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii PBŚ (od lipca 2021)
- Vice-przewodniczący Komisji Stypendialnej Doktorantów na Wydziale Rolnictwa i Biotechnologii UTP w Bydgoszczy.

Oprócz tego uczestniczy w pracach Zespołu ds. Promocji i Wizerunku Wydziału i w pracach Zespołu ds. optymalizacji wykorzystania aparatury badawczej na Wydziale Rolnictwa i Biotechnologii PBŚ oraz jest członkiem Zespołu ds. Strategii Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii PBŚ.

Pan dr inż. Dariusz Kulus był wielokrotnie wyróżniany i nagradzany za osiągnięcia naukowe oraz organizacyjne nagrodami, wyróżnieniami i stypendiami o zasięgu lokalnym, ogólnopolskim i międzynarodowym. Jego Rozprawa doktorska wyróżniona była decyzją Rady Wydziału Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Nagrodę Rektora UTP za osiągnięcia w działalności naukowej otrzymał 5 razy, a Nagrodę Zespołową JM Rektora za wyróżniające osiągnięcia w działalności organizacyjnej 3 razy. W roku 2019 otrzymał Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla Wybitnych Młodych Naukowców. Był dwukrotnym laureatem programu SKILLS Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (FNP). Ponadto jego prezentacje i wystąpienia naukowe krajowe oraz międzynarodowe były kilka razy nagrodzone lub wyróżnione.

Bardzo cennym elementem działalności dr inż. Dariusza Kulusa jest doskonalenie zawodowe w zakresie biologii, chemii, biotechnologii i nauk rolniczych, a także z zakresu biznesu, finansowania nauki i ochrony własności intelektualnej oraz pedagogiki. W ciągu ostatnich 10 lat uczestniczył w 56 szkoleniach, webinarach i warsztatach.

#### **Wniosek końcowy**

Na podstawie analizy wniosku Habilitanta i zawartych w nim informacji oraz przeprowadzonej oceny Jego osiągnięć naukowo-badawczych, dorobku dydaktycznego i organizacyjnego oraz współpracy naukowej na forum krajowym i międzynarodowym uważam, że Pan dr inż. Dariusz Kulus spełnia kryteria stawiane w przewodzie habilitacyjnym określone w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawa o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.).

Jestem przekonana, że dr inż. Dariusz Kulus jest bardzo dobrze przygotowany do samodzielnej pracy naukowej i kierowania pracą badawczą młodszych pracowników naukowych oraz do współpracy w zespołach badawczych krajowych i zagranicznych. Z satysfakcją stawiam wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy o dopuszczenie dr inż. Dariusza Kulusa do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Skierniewice, 28. 07. 2022 r.

Dr hab. Eleonora Gabryszewska, prof. IO

