

prof. dr hab. inż. Bożena Pawłowska  
Katedra Roślin Ozdobnych i Sztuki Ogrodowej  
Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa  
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Kraków, 12.02.2023

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Mikołaja Kostryco

### **Struktura nektarników kwiatowych i ziaren pyłku oraz nektarowanie i pylenie sześciu odmian *Rubus idaeus* L. z uwzględnieniem wybranych składników ich nektaru i pyłku**

wykonanej w Katedrze Botaniki i Fizjologii Roślin

Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,  
pod kierunkiem naukowym dr hab. Mirosławy Chwil, profesor uczelni

Podstawą formalną do wykonania recenzji jest pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 20 grudnia 2022 roku informujące o uchwale Rady z dnia 7 grudnia 2022 roku powołującej mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr inż. Mikołaja Kostryco.

Zasadniczym elementem przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej mgr inż. Mikołaja Kostryco są 4 spójne tematycznie, anglojęzyczne publikacje, opublikowane w czasopiśmie z bazy Journal Citation, które ukazały się w latach 2020 – 2022:

- Kostryco M., Chwil M. 2022. Nectar secretion, morphology, anatomy and ultrastructure of floral nectary in selected *Rubus idaeus* L. varieties. *Agriculture* 12, 7: 1017
- Kostryco M., Chwil M. 2022. Nectar abundance and nectar composition in selected *Rubus idaeus* L. varieties. *Agriculture* 12: 1132
- Kostryco M., Chwil M. 2021. Structure of anther epidermis and endothecium, production of pollen, and content of selected nutrients in pollen grains from six *Rubus idaeus* L. cultivars. *Agronomy* 11, 9: 1723
- Kostryco M., Chwil M., Matraszek-Gawron R. 2020. Comparison of the micromorphology and ultrastructure of pollen grains of selected *Rubus idaeus* L. cultivars grown in commercial plantation. *Plants*. 9, 9, 1-31: 1194

Dwie z wymienionych prac opublikowano w czasopiśmie Agriculture, po jednej w Agronomy i Plants. Sumaryczny współczynnik Impact Factor za przedstawione publikacje wynosi 14,700, a łączna liczba punktów wg Ministerstwa Edukacji i Nauki 370. Trzy artykuły stanowiące rozprawę są 2-autorskie, jeden ma trzech autorów. Udział Doktoranta w ich powstaniu szacowany jest na 60-70% i został potwierdzony deklaracjami współautorów, które przygotowano oddzielnie dla każdej opublikowanej pracy. We wszystkich publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem. Uczestniczył we wszystkich etapach ich powstawania, od opracowania koncepcji i hipotezy badawczej, poprzez prowadzenie doświadczeń i obserwacji oraz analiz, po opracowanie wyników i stworzenie manuskryptu. Zatem udział mgr inż. Mikołaja Kostryco w przedstawionych publikacjach jest znaczący i nie budzi zastrzeżeń.

Przygotowana do recenzji rozprawa doktorska została przedstawiona w formie opracowania, które podzielono na rozdziały zgodnie z przyjętym schematem dla dysertacji doktorskich. Składa się z następujących części: wprowadzenie, cel pracy i hipotezy badawcze, materiał i metody badań, wyniki badań i dyskusja, podsumowanie i wnioski. Dalej zamieszczono streszczenia w języku polskim i angielskim, spis literatury, oświadczenia autorów publikacji i pozostały dorobek naukowy Doktoranta. W ostatniej części znajdują się kopie 4 opublikowanych prac wchodzących w skład rozprawy. Opracowanie jest dobrze zredagowane i przygotowane starannie pod względem edytorskim. Wszystkie rozdziały poprzedzające załączone publikacje są napisane jasnym językiem i dobrze poprowadzone. Odwołują się do badań opublikowanych w czterech pracach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, stanowiąc przejrzystą i zrozumiałą całość.

Podjęta przez Doktoranta tematyka badawcza jest aktualna i związana z wieloletnią tradycją badań prowadzonych w Katedrze Botaniki Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie i kontynuowanych w obecnej Katedrze Botaniki i Fizjologii Roślin. Dotyczy ona biologii kwitnienia, a w szczególności problematyki związanej z budową i liczebnością nektarników oraz jakością i ilością produkowanego nektaru. W prezentowanej do oceny pracy rozszerzono tradycyjne metody badań i dzięki wykorzystaniu nowoczesnej aparatury uzyskano cenne wyniki będące bazą do zapoczątkowania wielu nowych ścieżek badawczych.

*Rubus idaeus* jest jednym z najważniejszych sadowniczych gatunków pośród roślin jagodowych uprawianych w Polsce, a w szczególności na Lubelszczyźnie. Owoce maliny są cennym surowcem przetwórczym, a w ostatnim czasie podkreśla się ich znaczenie jako owoce deserowe. Na przestrzeni ostatnich lat zmieniała się struktura produkcji malin, obecnie uprawia się więcej odmian owocujących na pędach jednorocznych, w porównaniu do odmian

owocujących na dwuletnich pędach. Wynika to z łatwiejszej agrotechniki oraz mniejszej podatności na choroby, którą cechują się odmiany z tej pierwszej grupy. Ponadto dzięki odmianom owocującym na pędach jednorocznych okres podaży owoców wydłuża się praktycznie do pierwszych przymrozków.

Nowoczesne technologie uprawy maliny wymuszają na szkółkarzach produkcję specjalnej sadzonki. W przypadku odmian owocujących na pędach dwuletnich dostarcza się na rynek sadzonki typu „long cane”, jedno- albo dwupędowe, o dobrze wykształconych pąkach kwiatowych. Są one zazwyczaj przeznaczone do sterowanej produkcji owoców, którą prowadzi się pod osłonami. Intensywnie eksploatowana sadzonka musi mieć dużą liczbę zawiązanych i zróżnicowanych dobrze wykształconych pąków kwiatowych. W przypadku odmian owocujących na pędach jednorocznych najczęściej korzysta się z mikrosadzonki wyprodukowanej *in vitro*, która także powinna się charakteryzować najwyższym potencjałem ilościowym i jakościowym pąków kwiatowych.

Malina jest gatunkiem owadopylnym, a większość uprawianych odmian wykazuje cechy samopłodności. Kwiaty maliny obficie wydzielają nektar, są więc bardzo dobrym pożytkiem dla pszczoły miodnej. Plantacje malin są w ostatnich latach doceniane przez pszczelarzy, którzy chętnie ustawiają tam ule, co pozwala na produkcję bardzo cennego miodu malinowego, o specjalnych właściwościach, przede wszystkim immunomodulujących. Kompleksowa uprawa odmian malin owocujących na pędach dwuletnich oraz tych owocujących na rocznych pędach, dostarcza pożytku przez długi okres w czasie wegetacji. Chociaż odmiany owocujące na pędach dwuletnich kwitną zaledwie 3-4 tygodnie, to w tej drugiej grupie kwitnienie rozciąga się nawet na kilka miesięcy (12-15 tygodni). Tym samym czas kwitnienia wydłuża się praktycznie do samych przymrozków, a późny pożytek nektarowy jest bardzo cennym źródłem energetycznym dla pszczół przed zimową.

W kontekście przedstawionych powyżej danych, podjęta w pracy tematyka badawcza jest jak najbardziej uzasadniona, cenna dla nauki i praktyki sadowniczej.

W rozdziale zatytułowanym „Wprowadzenie” Autor zwraca uwagę na rosnącą produkcję malin na świecie i odnosząc się do literatury podkreśla istotę wpływu produkcji pyłku i sekrecji nektaru na zapylenie oraz przedstawia strukturę i funkcje nektarników kwiatowych. Dalej pokazuje składniki nektaru i ich znaczenie w zapyłaniu. W ostatniej części skupia się na zagadnieniach dotyczących pylników. W mojej ocenie, zaprezentowana wiedza jest związana z podjętymi badaniami i dobrze wprowadza do analiz podjętych w pracy.

W rozdziale „Cel pracy i hipotezy badawcze” Doktorant omawia postawione hipotezy badawcze będące podstawą podjętej tematyki. Przedstawia główny cel pracy oraz cele

szczegółowe, które posłużyły do jego realizacji. Zasadniczym zamierzeniem było porównanie mikromorfologii, anatomii i ultrastruktury nektarników kwiatowych oraz obfitości nektarowania, a także mikromorfologii i ultrastruktury oraz produkcji ziaren pyłku sześciu odmian *Rubus idaeus*: 'Glen Ample', 'Laszka' i 'Radziejowa', 'Polana', 'Polka' i 'Pokusa'. Ponadto porównano jakościowy i ilościowy skład cukrów, aminokwasów w nektarze oraz profil chemiczny kwasów tłuszczowych i aminokwasów, a także pierwiastków w ziarnach pyłku badanych odmian. Postawione hipotezy badawcze zakładają, że odmiany różnią się między sobą w zakresie zaplanowanych do analiz parametrów morfologicznych oraz cech biochemicznych nektaru i pyłku.

W rozdziale „Materiał i metody” Doktorant zaprezentował narzędzia do weryfikacji postawionych hipotez badawczych, przedstawiając kolejno procedury wszystkich użytych metod. Badania przeprowadził w latach 2016-2018, a materiałem badawczym było 6 odmian malin, w większości polskiej hodowli, tj. owocujące na pędach dwuletnich: 'Laszka', 'Radziejowa', oraz owocujące na pędach jednorocznych: 'Polka', 'Polana' i 'Pokusa'. Warto zwrócić uwagę, że polska szkoła hodowli malin jest jedną z najlepszych i wysoko ocenianych na świecie. W tym kontekście ważne jest, że Doktorant zajął się zgłębianiem wiedzy wykorzystując krajowe odmiany malin. Tylko jedna z odmian, 'Glen Ample', jest odmianą szkockiego pochodzenia.

W pracy określano strukturę nektarników kwiatowych, dokładnie opisano ornamentację kutykularną oraz aparaty szparkowe – przy wykorzystaniu skaningowego mikroskopu. Dokładnie przeanalizowano anatomię nektarników, w tym scharakteryzowano komórki epidermy, parenchymy, nektarnika i parenchymy podnektarnikowej z użyciem mikroskopów świetlnego i fluorescencyjnego. Wykorzystany był badaniach transmisyjny mikroskop elektronowy, który pozwolił na obserwację ultrastruktury komórek epidermy i nektarnika w dwóch fazach rozwojowych (początkowe i w pełnej sekrecji nektaru).

Badania nad ilością i jakością nektaru prowadzono z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczonej HPLC (cukry) i metody Kjeldahla (białka) oraz metody chromatografii jonowymiennej (aminokwasy).

W dalszej części tego rozdziału opisano metodykę badań nad strukturą ziaren pyłku i jego niektórych cech. Analizom była poddawana egzyna w zakresie topografii prążków i mikroprążków – z wykorzystaniem mikroskopu skaningowego. Badano cechy anatomiczne pyłku, w tym struktury ekto- i endoegzyny oraz intyny. Analizy chemiczne pyłku dotyczyły zawartości białka ogólnego oraz ilościowego i jakościowego składu aminokwasów. Oznaczono zawartość tłuszczów ogółem oraz wykonano profil kwasów tłuszczonych, korzystając z metody

chromatografii gazowej. Wykonano też mikroanalizę pierwiastków w ziarnach pyłku, tj. C, O, P, K, Mg, S, Cl, Mn. Kwiaty malin oceniono pod względem wydajności pyłkowej, w tym jakości pyłku, analizując poziom białka, wolnych aminokwasów i tłuszczów. Na koniec tego rozdziału przedstawia zasady przeprowadzonych analiz statystycznych.

W mojej opinii zaplanowane i przeprowadzone analizy pozwoliły zweryfikować słuszność postawionych hipotez.

W rozdziale „Wyniki” Doktorant przedstawia najważniejsze rezultaty uzyskane w badaniach. Stara się to czynić w sposób syntetyczny i sprawny, co nie jest łatwym zadaniem, ponieważ liczba zgromadzonych wyników jest bardzo duża. Podczas opisów Autor odwołuje się do konkretnych publikacji, stanowiących rozprawę doktorską. Prace te przed opublikowaniem zostały poddane ocenie ekspertów, specjalistów z zakresu biologii kwitnienia, zatem nie mogą i nie budzą wątpliwości. Kwiat maliny, a w szczególności pylniki i nektarniki, zostały w nich zbadane w wielu aspektach, co skutkuje mnóstwem cennych, nowych informacji, które wiele wnoszą do nauki. Mogą być wykorzystane w przyszłych badaniach, już teraz są świetną bazą nowej wiedzy.

W rozdziale „Wnioski” Autor podsumowuje wyniki badań w postaci 15 sformułowanych wniosków, odwołując się ponownie do uzyskanych wyników. Rozumiem, że mnogość wyników utrudnia wygenerowanie bardziej ogólnych, syntetycznych wniosków, ale namawiam Doktoranta, aby podjął taką próbę podczas publicznej obrony.

W rozdziale „Spis literatury” Doktorant przedstawia wykaz 199 pozycji literatury, głównie są to oryginalne prace naukowe opublikowane w ostatnich latach.

Za najważniejsze osiągnięcia pracy uważam:

- Opisanie urzeźbienia egzyny pyłku u ważnych gospodarczo odmian malin, które może służyć określeniu ekologicznych i filogenetycznych powiązań między pokrewnymi taksonami.
- Pokazanie mikromorfologicznych i ultrastrukturalnych cech ziaren pyłku, co może stać się pomocne w identyfikacji taksonomicznej rodzaju *Rubus*.
- Wykazanie różnic pomiędzy odmianami pod względem produktywności pyłkowej i wskazanie najbardziej produktywnych odmian.
- Wskazanie różnic odmianowych w aspekcie jakości pyłku, tj. zawartości białka ogólnego, kwasów tłuszczowych Omega-3, -6, -9, kwasu linolowy i linolelaidonowy, które wpływają na wartość odżywczą pyłku i idące za tym preferencje dla owadów.

- Opisanie mikrostruktur nektarników, dokonanie oceny ich liczby i jakości, co pozwala wytypować odmiany najefektywniejsze pod kątem wydzielania największej ilości nektaru o najlepszej jakości.
- Stworzenie specjalnej, szczegółowej i wieloaspektowej bazy danych do identyfikacji odmian malin, która może być pomocna w rozwiązywaniu kolejnych problemów badawczych.

Ważną ideą wynikającą z pracy jest zwrócenie uwagi na potrzebę zwiększenia różnorodności biologicznej, także w uprawach sadowniczych i konieczność dywersyfikacji produkcji w tym dziale ogrodnictwa. Właściwy i zróżnicowany dobór odmian malin, nie tylko będzie skutkował nieprzerwaną produkcją owoców, ale pozwoli na zwiększenie różnorodności, także w aspekcie zaproszenia owadów zapylających na plantacje.

Podczas pracy nad recenzją nasunęło mi się kilka pytań:

1. Dlaczego w języku angielskim raz używa Pan sformułowania *varietas*, innym razem *cultivars*. Które zdaniem Doktoranta określanie dla odmiany hodowlanej jest właściwe?
2. Czy Doktorant ma informacje w jakich godzinach badane odmiany malin najlepiej nektarują? Czy materiał do badań był pobierany o tej samej porze dnia?
3. Odmiany owocujące na dwuletnich pędach mają bardziej rozbudowany kompleks szparkowy, czy to oznacza, że wydzielają więcej nektaru? Czy znalazło to potwierdzenie w przeprowadzonych badaniach?
4. Analiza skupień odnosząca się do mikromorfologii cech epidermy nektarników wykazała, że odmiana 'Radziejowa' wyróżnia się spośród pozostałych badanych odmian. Czy sprawdzał Pan pochodzenie tej odmiany? Czy rzeczywiście, wyraźnie odbiega od pozostałych?
5. Czy mógłby Pan zaproponować najlepsze odmiany (na cały okres wegetacji), które gwarantują jak najdłuższy okres produktywności nektaru i pyłku, o jak najlepszej jakości, a co za tym idzie wabiące najwięcej zapylaczy?

Na koniec chciałabym podkreślić pozostały – nie wchodzący w skład rozprawy doktorskiej – dorobek naukowy Doktoranta, przedstawiony w końcowej części opracowania. Doktorant jest dodatkowo współautorem 3 publikacji naukowych w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports (2018-20), za łączną liczbę punktów 70 i IF 3,356. Jest też współautorem 3 prac w czasopiśmie naukowym wymienionych przez MNiSW w części B (2017-2018), a także współautorem 10 rozdziałów w monografiach (2017-2020). Wskazuje to, że mgr inż. Mikołaj

Kostryco jest obiecującym młodym naukowcem, który chętnie publikuje wyniki swoich badań. Łącznie liczba zgromadzonych punktów MNiSW/MEiN (wraz z cyklem publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej) wynosi 718, a IF 21,250.

W mojej opinii przedstawiona do oceny rozprawa doktorska zawiera nowe elementy poznawcze, które będą dobrym zasobem teoretycznym do prowadzenia dalszych badań oraz znajdą przełożenie na szeroko rozumianą praktykę sadowniczą. Praca pod względem formalnym i merytorycznym spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Na podkreślenie zasługuje ogromna pracochłonność i czasochłonność przeprowadzonych badań, a także szeroki warsztat badawczy, którym posługiwał się Doktorant, prowadząc wieloaspektowe analizy morfologiczne, anatomiczne i biochemiczne. Doceniam doskonałe umiejętności Doktoranta związane z przygotowaniem profesjonalnych preparatów mikroskopowych (mikroskopia świetlna, elektronowa transmisyjna i skaningowa) i obszerny warsztat pozwalający na przeprowadzenie analiz biochemicznych, oraz umiejętność prowadzenia analiz statystycznych i skrupulatnego przedstawiania wyników. Doktorant wykazał się umiejętnością rzetelnego realizowania zadań badawczych, umiejętnością dyskusowania otrzymanych wyników w oparciu o aktualną wiedzę literaturową.

Oceniając całokształt rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Mikołaja Kostryco stwierdzam, że spełnia ona kryteria stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65 poz. 595 z późn. zm.) w zw. z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 31 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669). Wobec powyższego stawiam wniosek do Rady Dyscypliny Naukowej Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie Pana mgr inż. Mikołaja Kostryco, ubiegającego się o stopień doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

