

Prof. dr hab. Agnieszka Płazek
Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Kraków, 8 maja 2017 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Olgi Długosz Grochowskiej zatytułowanej:
„Wpływ doświetlania uzupełniającego światłem LED o różnej charakterystyce spektralnej na
wzrost i wybrane właściwości antyoksydacyjne roszonek warzywnej”

Jednym z głównych czynników wpływających na wydajność fotosyntetyczną, a przez to na plon, jest światło. Ten czynnik w warunkach polowych jest z oczywistych względów niekontrolowany przez rolników. Natężenie światła, widmo spektralne zależy od położenia geograficznego, pory roku i dnia. Dzięki uprawom szklarniowym rynek konsumencki zdobył fantastyczne źródło roślin, warzyw i kwiatów w porach niesprzyjających dla polowej uprawy danego gatunku rośliny. Od kilkudziesięciu lat przyzwyczailiśmy się do obecności na naszych stołach, przez cały rok, typowo letnich warzyw takich jak ogórki, pomidory, papryka, szpinak, sałata, rukola, szczypiorek i in. Ze względu na koszty związane z uprawą szklarniową, wymagającą utrzymywania odpowiedniej temperatury, a więc ogrzewania dużych powierzchni, jak też oświetlania upraw, cena warzyw kupowanych poza tzw. sezonem jest znacznie wyższa. Poszukiwanie zatem nowych, tańszych źródeł światła, o odpowiednim spektrum elektromagnetycznym, zapewniających najwyższą efektywność fotosyntetyczną, jest w pełni zrozumiałe.

Na rynku obecnie znajduje się wiele nowych typów lamp, bardziej energooszczędnych, o wybiórczej barwie światła i mocy. Przełomem w zastosowaniu nowych źródeł światła w uprawach pod szkłem było skonstruowanie diody elektroluminescencyjnej tj. LEDy (light-emitting diode). Jej przydatność w uprawie w warunkach kontrolowanych badano od lat 80. XX wieku, ale obecnie ich wykorzystanie przeżywa prawdziwy „boom”. Lampy tego typu posiadają różną moc i bardzo precyzyjnie dopasowane długości fal światła, odpowiadające danej barwie. Fizjologom roślin od dawna znane jest spektrum promieniowania elektromagnetycznego, najefektywniej wykorzystywanego przez rośliny w procesie fotosyntezy. Właściwości te są związane z budową chlorofilu a i b, które

wykorzystują głównie światło niebieskie o długości fali 420 i 435 nm oraz czerwone z zakresu 660 i 642 nm. W procesach fazy jasnej fotosyntezy uczestniczą jeszcze karoteny i ksantofile, które absorbują światło od 400 do 550 nm. Oczywiście istnieją jeszcze inne barwniki fotosyntetycznie czynne, które absorbują najsilniej inne zakresy barw i są one dowodem na ewolucyjne przystosowania się roślin do specyficznych warunków siedliskowych. Tematyka rozprawy doktorskiej pani mgr Olgi Długosz-Grochowskiej jest zatem jak najbardziej aktualna, a ze względu na wyniki uzyskane przez Doktorantkę ma wręcz charakter nowatorski i wnoszący wiele nowych informacji naukowych o zastosowaniu diod o różnej barwie światła w uprawie roślin pod osłonami.

Drugim ważnym aspektem badań Doktorantki jest ich obiekt, a mianowicie roszonka (*Valerianella locusta*), zielona roślina warzywna zawierająca wiele prozdrowotnych związków takich jak kwas askorbinowy, kwas foliowy, związki fenolowe czy kwasy z grupy omega-3. Roślinę tę możemy kupić przez cały rok w supermarketach i ma ona zastosowanie jako dodatek do wszelkich rodzajów sałatek. Wraz z tendencją prawidłowego i zdrowego odżywiania, popularność tej rośliny wciąż wzrasta.

Ogólne uwagi na temat pracy

Rozprawa doktorska pani mgr Olgi Długosz-Grochowskiej została przedstawiona w postaci pięciu artykułów naukowych opublikowanych w takich czasopismach jak: *Folia Horticulturae* (14 pkt MNiSW), *Scientia Horticulturae* (IF 1,538; 35 pkt), *Journal of Functional Foods* (IF 3,973; 45 pkt), *Acta Scientiarum Polonorum - Hortorum Cultus* (IF 0,583; 15 pkt). Piąta praca została zaakceptowana do druku w *Horticulture, Environment and Biotechnology* (IF 0,662; 25 pkt). Sumaryczny IF wszystkich prac wynosi 6,756 i 134 pkt MNiSW.

Doktorantka jest pierwszą autorką w dwóch pracach, (w trzech jest autorem korespondencyjnym), a w pozostałych publikacjach pierwszym autorem jest pani dr hab. Renata Wojciechowska, pełniąca rolę promotora niniejszej rozprawy. Jakkolwiek domyślam się, że udział Doktorantki w planowaniu i prowadzeniu doświadczeń był bardzo duży, to jednak zabrakło mi tej informacji w przedłożonej dokumentacji.

Kopie artykułów stanowiących rozprawę poprzedza doskonale przygotowane streszczenie, wstęp teoretyczny oraz omówienie uzyskanych wyników. Do całości został dołączony wykaz dorobku naukowego Doktorantki, na który składają się artykuły niewchodzące w skład rozprawy, czyli 7 publikacji (trzy z nich są opublikowane w

czasopismach z Listy Filadelfijskiej, a pani mgr Długosz-Grochowska jest pierwszym autorem trzech publikacji wydrukowanych w Episteme i Folia Horticulturae), oraz 13 doniesień konferencyjnych. Wykaz ten świadczy o dużym zaangażowaniu naukowym Doktorantki i z całą stanowczością mogę stwierdzić, że jest Ona bardzo obiecującym na przyszłość naukowcem.

Szczegółowe uwagi do pracy

Publikacje stanowiące rozprawę doktorską zostały poprzedzone Autoreferatem. Pragnę zauważyć, że został on napisany niezwykle starannie, a całość dokumentacji została świetnie opracowana edytorsko.

We **Wstępie teoretycznym** Doktorantka bardzo szczegółowo wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z podstawami fizycznych właściwości światła, nowoczesnych źródeł energii świetlnej i możliwości ich wykorzystania. Największą efektywnością w konwersji energii elektrycznej na promieniowanie elektromagnetyczne odznaczają się diody niebieskie, czerwone, a następnie białe chłodne i białe neutralne, natomiast najmniejszą ilość fotonów po dostarczeniu jednego dzuła energii emitują diody ultrafioletowe. Zdaniem niektórych naukowców nowoczesne, zmodernizowane wysokoprężne lampy sodowe ustępują skutecznością świetlną lampom diodowym, które osiągają kilkukrotnie dłuższą żywotność, dochodzącą do 50 000, a nawet 100 000 godzin. Do innych zalet diod LED jest szybki czas włączania i wyłączenia (bez potrzeby rozgrzewania), niska emisja promieniowania cieplnego i niewielkie rozmiary, co pozwala na ich zastosowanie w uprawach wielopoziomowych także w pomieszczeniach. Ponadto LEDy nie zawierają substancji niebezpiecznych, jak np. rtęć. Inną bardzo ważną zaletą tych lamp jest możliwość łączenia w panele poszczególnych jednostek diodowych, emitujących wyselekcjonowane długości fal promieniowania, umożliwiając uzyskanie widma światła dopasowanego do wymagań konkretnych grup roślin, gatunków lub odmian, a nawet fazy rozwojowej.

Niezwykle interesującym rozdziałem Autoreferatu jest przegląd informacji na temat powstawania różnych metabolitów roślinnych w zależności od zastosowanej barwy światła. Szczególną uwagę Doktorantka skupia na związkach fenolowych i innych związkach antyoksydacyjnych, mających charakter prozdrowotny i pożądaných w diecie człowieka. W tekście muszą jedynie zaznaczyć jedną usterkę, a mianowicie Autorka użyła określenia d-glukoza i d-galaktoza, a oznaczenie izomerów optycznych związków powinno się pisać z dużej litery tj. D-glukoza i D-galaktoza.

Po „Wstępie” została przedstawiona **hipoteza badawcza i cel pracy**. Hipotezą było założenie, że energooszczędne źródła światła oparte o technologię SSL (Solid State Lighting) LED mogą zastąpić tradycyjne lampy sodowe w jesiennej i zimowej uprawie roszonek, a także, że te źródła światła mogą poprawić jej wartość biologiczną.

Rozdział **Wyniki** bardzo szczegółowo omawia poszczególne publikacje, zawiera zatem nie tylko wyniki, ale także schemat doświadczeń opisanych w poszczególnych artykułach. Rozdział ten zawiera doskonale zdjęcia uprawy roszonek doświetlanej różnymi barwami światła.

Celem pierwszej pracy było uzyskanie potwierdzenia, że doświetlanie lampami LED w sezonie jesiennym i zimowym rzeczywiście zwiększa wydajność produkcyjną roszonek. Uzyskane wyniki wykazały wyższą wydajność fotosyntetyczną tego gatunku w wyniku doświetlania mieszaniną światła czerwonego i niebieskiego niż w przypadku naświetlania światłem białym. Następna publikacja opisuje doświadczenie, którego celem było sprawdzenie, jakie proporcje pomiędzy emitowanym światłem czerwonym i niebieskim dają najlepsze efekty pod względem otrzymania suchej masy roszonek, zawartości cukrów, kwasu askorbinowego, związków fenolowych i aktywności antyrodnikowej. Doktorantka zastosowała różne warianty uzupełniania światła dziennego lampami LED w następujących proporcjach: 100% światła czerwonego, 90% światła czerwonego i 10% światła niebieskiego, 70% światła czerwonego i 30% niebieskiego, 50% światła czerwonego i niebieskiego, oraz ciepłą barwę światła białego jako oświetlenie kontrolne. Zdjęcia dołączone do tego rozdziału doskonale ilustrują barwy zastosowanych lamp LED. **Mam w związku z tym pytanie: ze zdjęć wynika, że pomiędzy stolami, na których uprawiano roszonek i oświetlonymi różnymi barwami światła, nie było żadnych osłon. Czy nie było zatem obawy, że barwy te mogły przenikać na inne obiekty doświadczalne?**

W tym doświadczeniu stwierdzono największy wpływ 90% światła czerwonego i 10% światła niebieskiego. Jednocześnie uznano, że wynik ten należy zweryfikować, ponieważ światło dzienne mogło bardziej wpływać na akumulację związków fenolowych niż światło lamp LED. Analizy chromatograficzne polifenoli występujących w roszonek, przedstawione w trzeciej publikacji, wykazały wysoką zawartość związków fenolowych takich jak kwasu p-hydroksybenzoesowego, p-kumarowego, ferulowego, hesperydiny, rutyny oraz diosmetyny. W pracy zaprezentowano badania nad koncentracją trzech form folianów w liściach roszonek warzywniej i ich obecności w zależności od zastosowanego doświetlania. Formami tymi były tetrahydrofolian, 5-formylotetrahydrofolian oraz 5-metylotetrahydrofolian, przy czym ten ostatni został stwierdzony w ilościach dominujących względem pozostałych form. Zawartości

tych związków były wyższe w roślinach doświetlanych światłem LED w proporcjach 90R/10B, 70R/30B oraz białym ciepłym i chłodnym, zarówno w uprawie jesiennej, jak i zimowej. Wyniki tej pracy sugerują, że odpowiednim światłem można zwiększać w roślinach zawartość cennych związków prozdrowotnych.

W czwartej publikacji przedstawiono wpływ poszczególnego oświetlenia roślin na liczbę liści w rozecie, długość i szerokość liścia, świeżą i suchą masę rozety, zawartość kwasu askorbinowego i rozpuszczalnych cukrów oraz zużycie energii i koszty produkcji. Podobnie jak w drugiej publikacji, najwyższy plon roszonek uzyskano, doświetlając rośliny światłem LED o składzie spektralnym 90% czerwonego i 10% niebieskiego. Wykazano niższe zużycie energii przez zastosowanie lamp LED emitujących światło czerwono-niebieskie (od 36% w przypadku kombinacji 90R/10B i 50R/50B do 55% w przypadku kombinacji 100R i 70R/30B) w porównaniu do lampy HPS. Uwzględniając wszystkie koszty produkcji i uzyskany plon, stosując doświetlanie lampą emitującą światło z 90% udziałem pasma czerwonego i 10% udziałem pasma niebieskiego, udało się obniżyć koszt wyprodukowania 100 g roszonek warzywnej o 23% w porównaniu do uprawy z zastosowaniem lampy typu HPS. Podobnie, obniżenie kosztów wyprodukowania 100 g masy roślin o 21% w porównaniu do masy uzyskanej w świetle kontrolnym uzyskano, stosując doświetlanie lampą LED emitującą 70% światła czerwonego i 30% światła niebieskiego.

Celem ostatniej publikacji była weryfikacja wpływu wybranych w poprzednim doświadczeniu warunków świetlnych z zastosowaniem dwóch odmian roszonek warzywnej: 'Noordhollandse' oraz 'Holländischer'. Tym razem zmodyfikowano spektra światła uzupełniającego. Ze względu na wykazaną bardzo niską opłacalność produkcji oraz nikły wpływ na wartość prozdrowotną zrezygnowano z doświetlania upraw roszonek światłem białym. Zmodyfikowano także proporcje pasma czerwonego i niebieskiego w jednej kombinacji, a światło 50R/50B zastąpiono światłem 80R/20B (80% światła czerwonego i 20% światła niebieskiego), by uzyskać udział światła niebieskiego najbardziej zbliżony do promieniowania słonecznego (18%). W tym doświadczeniu dodatkowo oznaczano zawartość potencjalnie szkodliwych azotanów oraz chromatograficzne analizy barwników asymilacyjnych, m.in. karotenoidów. Dwie badane odmiany roszonek wykazały różne tendencje w reakcji na wybrane pasma światła pod względem syntezy karotenoidów oraz związków fenolowych, jednakże w przypadku obydwu odmian wyniki potwierdziły istotne znaczenie światła niebieskiego w stymulowaniu akumulacji tych związków. Zastosowanie doświetlania lampami LED skutkowało niższą akumulacją azotanów w tkankach obydwu

odmian roszoneki w porównaniu do zawartości tych związków w roślinach doświetlanych lampą HPS.

W **Podsumowaniu** wyników Doktorantka stwierdziła, że kombinacja złożona w 80% ze światła czerwonego i 20% ze światła niebieskiego jest najkorzystniejsza pod względem wpływu na przyrost biomasy oraz akumulację związków prozdrowotnych. Do ważnych osiągnięć niniejszej rozprawy zaliczyła zidentyfikowanie w liściach roszoneki warzywnej siedmiu związków należących do roślinnych polifenoli (kwasu phydroksybenzoesowego, chlorogenowego, p-kumarowego, ferulowego, hesperydyny, rutyny, diosmetyny) i stwierdzenie zależności pomiędzy ich stężeniem a zastosowanymi kombinacjami światła. Największym zaś osiągnięciem prezentowanej rozprawy doktorskiej było zidentyfikowanie trzech form naturalnie występujących folianów (tetrahydrofolianu, 5- metyloctetrahydrofolianu i 5-formyloctetrahydrofolianu) w liściach badanych roślin oraz stwierdzenie związku pomiędzy ich akumulacją a zastosowanym doświetlaniem uzupełniającym. Doktorantka zaliczyła te badania do pionierskich w dziedzinie fotobiologii roślin, a najważniejszym osiągnięciem było wykazanie wpływu światła na metabolizm pochodnych kwasu foliowego.

Wniosek końcowy

Tematyka badawcza Pani mgr Olgi Długosz-Grochowskiej jest bardzo ciekawa i dotyczy aktualnych problemów dotyczących rozszerzenia przydatności upraw szklarniowych nie tylko pod względem opłacalności plonu uzyskiwanego z jednostki powierzchni, ale także wartości prozdrowotnych tj. zawartości cennych składników odżywczych w uprawianych roślinach. Przedstawiona rozprawa doktorska w postaci pięciu publikacji i Autoreferatu jest przykładem nowej tendencji w rozwoju naukowym i zdobywania stopni naukowych młodych pracowników. Jestem przekonana, że ta forma będzie coraz częściej promowana i jest dowodem na to, że doktorant może nie tylko uczestniczyć przy wykonywaniu analiz i opracowywaniu wyników, ale także może aktywnie brać udział w publikacji dorobku naukowego Katedry, w której prowadzi badania. Wniosuję zatem o dopuszczenie Pani mgr Olgi Długosz-Grochowskiej do dalszej procedury związanej z obroną pracy oraz nadaniem Jej stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie ogrodnictwo. Wysoki poziom naukowy prezentowanych prac, dojrzałość naukową Pani mgr Olgi Długosz-Grochowskiej oceniam bardzo wysoko i dlatego też wniosuję do Rady Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa o wyróżnienie niniejszej rozprawy.

A. P. T. C.