

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w  
Szczecinie  
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa

Mgr inż. Alicja Izabela Auriga

Rozprawa doktorska

**Ocena oddziaływania preparatów EM i Tytanit®  
na kształtowanie się parametrów biochemicznych,  
fizjologicznych i jakościowych wybranych  
roślin ogrodniczych**

Evaluation of the impact of EM and Tytanit® preparations  
on the biochemical, physiological and quality parameters of  
selected horticultural plants

Promotor  
dr hab. inż. Jacek Wróbel, prof. ZUT  
Katedra Bioinżynierii

SZCZECIN 2021



### *Podziękowania*

*Pragnę podziękować promotorowi mojej pracy doktorskiej, Profesorowi Jackowi Wróblowi za wieloletnią współpracę, opiekę merytoryczną i zaufanie.*

*Dziękuję współautorom publikacji, a przede wszystkim Profesorowi Ireneuszowi Ochmianowi za zaangażowanie, przekazaną wiedzę i nieocenioną pomoc przy realizacji badań.*

*Dziękuję także moim najbliższym, mamie Annie i bratu Radosławowi oraz przyjaciołom za wsparcie, wiarę w moje możliwości i mobilizację do ukończenia tej pracy.*



## Streszczenie

Stosowanie biostymulatorów w uprawach ogrodnich wpływa na ograniczenie chemizacji produkcji roślin przy jednoczesnym utrzymaniu wydajności i jakości plonów oraz zachowaniu zasobów środowiska naturalnego. Należy jednak zaznaczyć, że biostymulatory nie są uniwersalne, a ich dobór do uprawianego gatunku jest uzależniony od takich zmiennych jak m. in. czynniki abiotyczne czy uwarunkowania genetyczne roślin. Dotychczasowe badania nad zastosowaniem biostymulatorów skupiały się głównie na ich wpływie na produktywność i wielkość plonowania, natomiast w mniejszym stopniu analizowano ich oddziaływanie na procesy biochemiczne i fizjologiczne roślin ogrodnich. Efektywne Mikroorganizmy (EM) i Tytanit® należą do grupy biostymulatorów cieszących się coraz większym zainteresowaniem producentów żywności, jednak wiedza o ich wpływie na konkretne gatunki i odmiany roślin użytkowanych gospodarczo jest podstawowa i wymaga uzupełnienia.

W ramach niniejszej pracy przeprowadzono cztery niezależne eksperymenty na wybranych gatunkach roślin ogrodnich. Zastosowanie EM w uprawie bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum* L.) odmiana Piccolino spowodowało obniżenie dwóch badanych wskaźników stresu oksydacyjnego tj. proliny i dialdehydu malonowego. W przypadku uprawy dwóch odmian winorośli (*Vitis vinifera* L.) Regent i Cabernet Cortis prowadzonych na 4 i 8 pędów, EM nie miały istotnego wpływu na zawartość ekstraktu ogólnego oraz kwasowość owoców, natomiast wpłynęły na obniżenie w owocach ogólnej zawartości polifenoli. Eksperyment dotyczący zastosowania Tytanitu w uprawie poziomki pospolitej (*Fragaria vesca* L.) odm. Baron von Solemacher uprawianej w warunkach zasolenia wykazał zróżnicowany wpływ preparatu na zbadane parametry fizjologiczne. Na początku okresu wegetacji Tytanit® wpłynął na obniżenie poziomu proliny w roślinach, natomiast w późniejszym okresie obniżył wartości wskaźników wydajność aparatu fotosyntetycznego roślin  $F_v/F_M$  i  $F_v/F_o$ , a także spowodował zmniejszenie zawartości barwników asymilacyjnych. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że preparat nie wykazał łagodzącego wpływu na stres wywołany zasoleniem, jak zakładano. Eksperyment z fasolą zwyczajną (*Phaseolus vulgaris* L.) odm. Jagusia, wykazał pozytywny wpływ obu preparatów tj. EM i Tytanitu na zwiększenie zawartości barwników asymilacyjnych. Efektywne Mikroorganizmy w przeciwieństwie do Tytanitu, zredukował syntezę proliny i dialdehydu malonowego. Zastosowane preparaty nie miały wpływu na wielkość plonu, natomiast istotnie obniżyły jego jakość poprzez zmniejszenie zawartości manganu, magnezu, fosforu oraz wapnia w strąkach.



## Abstract

The use of biostimulants in horticultural reduces the chemization of plant production while maintaining yield and quality of crops and preserving natural resources. However, it should be noted that plant biostimulants are not universal and their use for a species depends on many variables such as abiotic factors and genetic variations. Previous studies on the use of biostimulants have focused mainly on their impact on productivity and yielding, while their impact on the biochemical and physiological traits of horticultural plants has been analyzed to a lesser extent. Effective Microorganisms (EM) and Tytanit® are biostimulants that become more popular among food producers, but the knowledge about their influence on specific species and varieties of plants is basic and requires supplementation.

Four individual experiments were carried out on selected species of horticultural plants. The use of EM in the cultivation of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), var. Piccolino, resulted in the reduction of two analyzed parameters related to oxidative stress, i.e. proline and malondialdehyde contents. In the case of the cultivation of two grapevines (*Vitis vinifera* L.) cv. Regent and Cabernet Cortis rooted with 4 and 8 buds, EM had no significant effect on the total extract content and fruit acidity. However, it reduced the overall content of polyphenols in the fruit. The experiment on the use of Tytanit® in the cultivation of wild strawberry (*Fragaria vesca* L.) var. Baron von Solemacher under salinity conditions, showed varied effect on the studied physiological parameters. At the beginning of the growing season, Tytanit® lowered the level of proline in plants, while later it lowered the efficiency of the photosynthetic apparatus of plants  $F_v/F_M$  and  $F_v/F_o$ , and reduced the content of assimilation pigments. On the basis of the obtained results, it can be concluded that the preparation did not show an alleviating effect on salinity stress, as assumed. The experiment with common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Jagusia, revealed a positive effect of both preparations on photosynthetic pigments. EM, unlike Tytanit®, reduced the synthesis of proline and malondialdehyde. However, the preparations did not affect yield, but significantly decreased its quality by reducing the content of manganese, magnesium, phosphorus and calcium in the pods.





## Spis treści

DOROBEK NAUKOWY STANOWIĄCY ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ .....	11
1. Przegląd literatury .....	13
2. Cel i zakres pracy .....	18
3. Materiał i metody badań .....	20
3.1. Materiał badawczy .....	20
3.2. Metodyka badań .....	22
3.3. Analiza statystyczna danych eksperymentalnych .....	23
4. Omówienie uzyskanych wyników.....	24
4.1. Effect of effective micro-organisms on the proline and MDA contents in herb plant material of <i>Ocimum basilicum</i> L. var. Piccolino (P1) .....	24
4.2. The influence of Effective Microorganisms and number of buds per cane in viticulture on chemical composition in fruits (P2).....	26
4.3. Effect of Tytanit® on the physiological activity of wild strawberry ( <i>Fragaria vesca</i> L.) grown in salinity conditions (P3).....	30
4.4. Influence of Tytanit® and EM on biochemical, physiological, and qualitative parameters of common bean (P4).....	33
5. Podsumowanie i wnioski .....	37
Spis literatury .....	39
KOPIE ARTYKUŁÓW STANOWIĄCYCH JEDNOTEMATYCZNY CYKL PUBLIKACJI I OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW .....	45



## DOROBEK NAUKOWY STANOWIĄCY ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

### Ocena oddziaływania preparatów EM i Tytanit® na kształtowanie się parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych wybranych roślin ogrodniczych

Lp.	Tytuł publikacji	Pkt.*	IF**
<b>P1</b>	<b>Auriga A.</b> , Wróbel J. (2018) Effect of effective micro-organisms on the proline and MDA contents in herb plant material of <i>Ocimum basilicum</i> L. var. Piccolino. <i>Fresenius Environmental Bulletin</i> , vol. 27 (11/2018), 7409-7415	15	0,691
<b>P2</b>	<b>Auriga A.</b> , Ochmian I., Wróbel J., Oszmiański J. (2018) The influence of Effective Microorganisms and number of buds per cane in viticulture on chemical composition in fruits. <i>Journal of Applied Botany and Food Quality</i> 91, 271 - 280, DOI:10.5073/JABFQ.2018.091.035	25	1,106
<b>P3</b>	<b>Auriga A.</b> , Wróbel J., Ochmian I. (2020) Effect of Tytanit® on the physiological activity of wild strawberry ( <i>Fragaria vesca</i> L.) grown in salinity conditions. <i>Acta Universitatis Cibiniensis Series E: FOOD TECHNOLOGY</i> , vol. XXIV, no. 2, 279-288, DOI:10.2478/aucft-2020-0025	140	2,000
<b>P4</b>	<b>Auriga A.</b> , Wróbel J. (2021) Influence of Tytanit® and EM on biochemical, physiological, and qualitative parameters of common bean. <i>Horticultural Science (Prague)</i> 48, (2): 98 – 104, <a href="https://doi.org/10.17221/72/2020-HORTSCI">https://doi.org/10.17221/72/2020-HORTSCI</a>	70	0,925
<b>Suma</b>		<b>250</b>	<b>4,722</b>

\*Liczba punktów według listy MNiSW zgodna z rokiem ukazania się pracy

\*\*Sumaryczny Impact Factor (IF) według bazy Journal Citation Reports (JCR) z roku wydania



## 1. Przegląd literatury

Postępująca degradacja środowiska naturalnego jest wynikiem nierozważnej działalności człowieka. Rozwój technologiczny z jednej strony przyczynia się do polepszenia warunków życia, jednak z drugiej strony często niesie ze sobą coraz większe zagrożenie dla otoczenia przyrodniczego (Gołębiewska i Pajewski, 2017).

Sektor rolniczy ze względu na charakter wytwarzanych produktów jest niezwykle istotny dla egzystencji ludzkości. Intensyfikacja upraw i produkcji roślin metodami konwencjonalnymi wiąże się z dużą chemizacją rolnictwa, co bezpośrednio wpływa na jakość żywności oraz ograniczenie zasobów słodkiej wody i przydatnych do upraw arealów. Dodatkowo zachodzące w przyrodzie zmiany klimatu, co za tym idzie, pojawiające się coraz częściej anomalie pogodowe, wpływają na potęgowanie się stresu abiotycznego u roślin, wywołane między innymi suszą, zasoleniem czy niedoborem składników pokarmowych.

Rośliny poddane działaniu długotrwałego stresu są w słabszej kondycji fizjologicznej, dlatego ich plony charakteryzują się mniejszą wydajnością i jakością (Starck i in., 1993). Z tego powodu w nowoczesnym rolnictwie dużo uwagi poświęca się wykorzystywaniu różnorodnych preparatów, które wspomagają produktywność roślin, ale też mają działanie ochronne i jednocześnie nie generują efektów ubocznych, takich jak wyjałowienie czy zakwaszenie gleb. Są to najczęściej biostymulatory lub preparaty wzbogacone pożytecznymi mikroorganizmami (Sas Paszt i in., 2015), naturalnymi wyciągami roślinnymi albo zwierzęcymi (Sas Paszt i in., 2010; Lisiecka i in., 2011). Do oceny kondycji fizjologicznej roślin wykorzystuje się, zarówno wskaźniki biochemiczne, jak i fizjologiczne. Szczególnie przydatne w badaniach ekosystemów i upraw zagrożonych czynnikami fitotoksycznymi i oceny tolerancji roślin na różnorodne czynniki stresowe są metody fluorescencyjne. Mogą one często zastępować bardziej czasochłonne metody gazometryczne stosowane dotąd w fizjologii roślin (Kalaji i Łoboda 2010).

Według rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej z 2019 r. biostymulatorem określa się produkt, który stymuluje procesy odżywiania roślin niezależnie od zawartości składników pokarmowych w produkcie. Jego rolą jest poprawa co najmniej jednej z następujących właściwości roślin lub ryzosfery roślin: efektywności wykorzystania składników pokarmowych; cechy jakościowej; przyswajalności składników pokarmowych z form trudnodostępnych w glebie lub ryzosferze. Rozporządzenie wskazuje również podział biostymulatorów na mikrobiologiczne i niemikrobiologiczne. Pierwsze

składają się z mikroorganizmu lub konsorcjum mikroorganizmów, a poziom poszczególnych patogenów w preparatach jest ściśle określony przez ww. rozporządzenie. Natomiast wszystkie biostymulatory, które nie są zaliczane do grupy mikrobiologicznych, stanowią grupę biostymulatorów niemikrobiologicznych.

Efektywne Mikroorganizmy™ to nazwa handlowa biostymulatorów mikrobiologicznych, w których skład wchodzi specjalnie wyselekcjonowane, naturalnie występujące drobnoustroje, takie jak np.: bakterie mlekowe (*Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*), bakterie fotosyntetyzujące (*Rhodospseudomonas palustris*, *Rhodobacter spae*), drożdże (*Saccharomyces albus*, *Candida utilis*), promieniowce (*Streptomyces albus*, *S. griseus*) oraz grzyby pleśniowe (*Aspergillus oryzae*, *Mucor hiemalis*) (Higa i Parr, 1994; Janas, 2009; Hu i Qi, 2013). Technologia EM została opracowana w latach 80. XX wieku przez japońskiego profesora ogrodnictwa Teruo Higa, który uważał, że w przyrodzie decydującą rolę odgrywają mikroorganizmy (Higa 2004).

Mikroorganizmy znajdujące się w preparatach EM posiadają duże predyspozycje adaptacyjne. Tworzą one dwuwarstwowe kapsuły żelowe ze środowiskiem tlenowym na zewnątrz a beztlenowym wewnątrz. Strefą oddzielającą te dwa środowiska są organizmy fakultatywne, które po stronie zewnętrznej prowadzą metabolizm aerobowo, a po stronie wewnętrznej anaerobowo (Schneider 2005). Obecne w preparacie bakterie fotosyntetyczne mają zdolność wytworzenia przeciwutleniaczy, cukrów, aminokwasów, a także innych substancji bioaktywnych, które korzystnie wpływają na wzrost roślin. Antyoksydanty wytwarzane przez EM naturalnie wspierają system obronny roślin przeciwdziałając wolnym rodnikom, które są główną przyczyną wielu chorób (Higa, 2004; Mrugalska i in., 2009; Małuszyńska i in., 2012).

Działanie preparatów EM nie jest jednoznaczne. W literaturze przedmiotu można znaleźć doniesienia, zarówno o pozytywnych, jak i negatywnych skutkach stosowania tych biostymulatorów. Hui-lian (2000) oraz Chaudhry (2005) wykazali korzystny wpływ EM na uprawę kukurydzy. Podali oni, że preparat stymulował wzrost roślin, indukował ich odporność i procesy fotosyntezy. Z kolei brak istotnego wpływu EM na plon kukurydzy stwierdzili Priyadi i in. (2005). Badania prowadzone przez Prisa (2019a) w uprawie papryki i chili wykazały znaczące zwiększenie biomasy oraz obniżenie zawartości azotanów w roślinach traktowanych EM. Inne badania prowadzone przez Fawzy i in., (2012) oraz Prisa (2019b) wykazały istotny, pozytywny wpływ EM na wzrost roślin cebuli, a także na wielkość oraz jakość uzyskanego plonu. Natomiast EM nie miało wpływu na

plon czy pojawianie się wad bulw ziemniaka (Zarzyńska i Goliszewski, 2011), a także na plon lnu oleistego (Wielgusz i in., 2009).

Jak podają Iriti i in. (2019), zastosowanie preparatów EM w uprawie fasoli zwyczajnej spowodowało zwiększenie liczby ziaren w strąku, liczby ziaren przypadającą na roślinę oraz na zmniejszoną zawartość lipidów i wody w ziarnach. Efektywne Mikroorganizmy wpłynęły również na obniżenie zawartości wapnia, natomiast zwiększyły zawartość magnezu, manganu, fosforu i sodu w ziarnach fasoli. Ponadto, Iriti i in. (2019) u roślin fasoli poddanych działaniu preparatów EM obserwowali wydłużenie o dwa tygodnie optymalnej wydajności fotosyntezy liści w porównaniu do roślin kontrolnych. Badania prowadzone przez Talaat (2015) w warunkach zasolenia wykazały łagodzący wpływ EM na występujący u roślin fasoli stres oksydacyjny, co szczególnie widoczne jest w zwiększonej syntezie białek i zmianie składu poliamin w tkance roślin. Natomiast badania przeprowadzone przez Borowski i Balmonowski (2009) nad zastosowaniem preparatów EM w uprawie bazylii *Ocimum basilicum* L., wykazały znaczny wzrost stężenia proliny w badanym materiale roślinnym, co wskazuje na istotne zaburzenie stanu fizjologicznego rośliny.

Janasa i Grzesika (2005, 2006) wykazali, że biokondycjonowanie preparatem EM nasion wybranych gatunków roślin leczniczych i warzywnych zwiększa zdrowotność nasion oraz poprawia ich wartość siewną. Zastosowanie EM sprzyja także wczesnemu owocowaniu oraz wzrostowi korzeni pomidora (Ncube i in., 2011), natomiast nie sprzyja ogólnemu rozwojowi kapusty pekińskiej (In-Ho i Ji-Hwan, 2012).

Mayer i in (2010) stwierdzili brak wpływu zastosowanych preparatów EM na biomasę drobnoustrojów w glebie, strukturę zbiorowisk drobnoustrojów, parametry aktywności drobnoustrojów w glebie, czy też wielkość plonu w uprawie ziemniaka, jęczmienia ozimego, lucerny oraz pszenicy ozimej.

Według niektórych doniesień EM mają również zdolność hamowania rozwoju patogenów. Biostymulator ograniczył występowanie grzybów z rodzaju *Fosariu* w uprawie lnu włóknistego (Langner i in., 2003) i grzybów z rodzaju *Fusarium* w uprawie grochu siewnego (Okorski i Majchrzak, 2008). W uprawach pszenicy EM chroniły przed rozwojem septoriozy i brunatnej plamistości liści, natomiast nie miały istotnego wpływu na łamliwość źdźbła powodowaną przez grzyby *Pseudocercospora herpotrichoides* czy na porażenie źdźbła przez zgorzel (*Gaeumannomyces graminis*) (Bolińska i Gleń, 2008).

Do grupy biostymulatorów niemikrobiologicznych można zaliczyć Tytanit®, którego głównym składnikiem jest tytan (0,85% Ti). Tytan naturalnie występuje

w materiale geologicznym, jest dziewiątym najbardziej rozpowszechnionym pierwiastkiem w skorupie ziemskiej i stanowi ok. 0,57% jej masy (Buettner i Valentine, 2012). Pierwiastek ten jest metalem przejściowym i wykazuje cztery stopnie utlenienia, z których  $Ti^{4+}$  jest najbardziej stabilnym jonem. Wpływ tytanu na rośliny jest badany od ponad 100 lat. Pierwsze badania tego pierwiastka w glebie, trzcinie cukrowej (*Saccharum spp.*) i burakach cukrowych (*Beta vulgaris* L.) przeprowadzili Pellet i Fribourg (1905). Jednak do tej pory nie poznano dokładnego mechanizmu oddziaływania Ti na organizmy roślinne.

Prawdopodobny mechanizm działania Ti w organizmie rośliny przedstawili Simona i in. (1988), Carvajal i Alcaraz (1998) oraz Cigler i in. (2010). Wg tych autorów tytan i żelazo (Fe) wpływają na siebie, zarówno synergistyczne, jak i antagonistyczne. Gdy roślina ma niedobór Fe, Ti może indukować ekspresję genów związanych z pozyskiwaniem Fe, zwiększając jego pobieranie i wykorzystywanie, a następnie poprawiając wzrost roślin. Możliwe, że rośliny posiadają białka, które specyficznie lub niespecyficznie wiążą Ti. Gdy stężenie Ti w tkance jest wysokie, pierwiastek może konkurować z Fe o ligandy lub białka. Natomiast wzmożona konkurencja między pierwiastkami może powodować fitotoksyczność Ti. Dlatego korzystne efekty Ti mogą być szczególnie widoczne lub mierzalne w okresie, gdy rośliny doświadczają niedoboru Fe.

Tytan wpływa na metabolizm roślin poprzez zwiększenie wchłaniania innych składników pokarmowych, prócz Fe także Mg (Simon i in., 1988; Kuzel i in., 2003). Pozytywny wpływ tytanu na fotosyntezę oraz aktywność enzymatyczną badanych roślin potwierdzili Carvajal i Alcaraz (1998).

Wpływ tytanu na zwiększenie zawartości chlorofilu *a*, *b* i karotenoidów został stwierdzony przez licznych badaczy (Carvajal i in., 1994; Simon i in., 1988; Hrubý i in., 2002). Samadi i in. (2014, 2015) odnotowali istotny wzrost zawartości karotenoidów w liściach mięty i melisy. Moaveni i in. (2011) zaobserwowali poprawę względnej zawartości wody (RWC) w materiale roślinnym pszenicy.

Grajkowski i Ochmian, (2007) stwierdzili, że oprysk Tytanitem przed zbiorem owoców maliny (*Rubus idaeus* L.) zwiększył zawartość ekstraktu ogólnego w owocach, ich jędrność i wielkość. Z kolei Szewczuk i Juszcak (2003) wykazali 30% zwiększenie plonowania fasoli tycznej uprawianej z wykorzystaniem tego preparatu. Ponadto zastosowanie Ti w uprawie wybranych odmian truskawek miało wpływ na zwiększenie zawartości antocyjanów oraz witaminy C (Skupień i Oszmiański, 2007).



Inne doniesienia naukowe potwierdzają działanie Tytanitu na wzrost aktywności jonów żelaza, zwiększenie wigoru ziaren pyłku i wzrost tempa pobierania składników pokarmowych, a także poprawę zdrowotności roślin (Michalski, 2008; Borkowski i in., 2017).

Zastosowanie preparatów zawierających tytan w uprawie niektórych roślin może mieć również niepożądane skutki. Ghosh i in. (2010) zaobserwowali wysoki (prawie 5-krotny) wzrost stężenia dialdehydu malonowego (MDA) w korzeniach cebuli (*Allium cepa*). Autorzy zasugerowali, że nanocząsteczki TiO<sub>2</sub> mogą prowadzić pośrednio do nadmiernego wytwarzania rodników ponadtlenkowych, co powoduje u roślin zwiększenie peroksydacji lipidów i stres oksydacyjny. Ponadto tytan może wchodzić w interakcję z żelazem w łańcuchu transportu elektronów, co przy wysokim stężeniu tytanu zmniejsza wydajność fotosyntezy II (Cigler i in., 2010).

Właściwy dobór preparatów ze względu na rodzaj uprawy ma kluczowe znaczenie w uzyskaniu, nie tylko wysokiej jakości plonu, ale także dla ochrony środowiska naturalnego. Upowszechnianie niechemicznych metod ochrony roślin przyczynia się do zmniejszenia zależności produkcji roślinnej od stosowania preparatów chemicznych. W rezultacie ryzyko związane z ich użyciem jest ograniczane, co również przekłada się na bezpieczeństwo konsumentów, osób wykonujących zabiegi, a w szczególności wpływa na czystość środowiska (MRiRW, 2019). Według danych Głównego Urzędu Statystycznego od 2010 roku do 2018 roku zużycie środków ochrony roślin ogółem i nawozów mineralnych NPK, zarówno w Polsce jak i całej Unii Europejskiej nieustannie wzrastało. W Polsce w roku gospodarczym 2018/2019 oba wskaźniki zmniejszyły się jednak o ok. 8,5% (środki ochrony) i o ok. 8,24% (nawozy NPK), co może wskazywać na rosnącą świadomość dotyczącą zagrożeń jakie niesie ze sobą nadmierna chemizacja produkcji żywności.

## 2. Cel i zakres pracy

Celem naukowym pracy było określenie wpływu preparatów EM i Tytanit® na kształtowanie się niektórych parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych wybranych roślin ogrodniczych uprawianych w różnych warunkach siedliskowych.

Celem użytkowym pracy było określenie przydatności badanych preparatów w uprawie wybranych gatunków roślin ogrodniczych, w aspekcie poprawy jakości plonów w zmiennym klimacie regionu północno zachodniej Polski.

### **Zakres pracy został podzielony na cztery zadania, które obejmowały:**

*Zadanie 1. (P1)* – analizę wpływu działania preparatu EM na biochemiczne parametry stresu oksydacyjnego, takie jak stężenie wolnej proliny i MDA w świeżych tkankach zielonych bazylii drobnolistnej (*Ocimum basilicum* L.) odmiana Piccolino.

*Zadanie 2. (P2)* – badanie wpływu EM na zawartość ekstraktu cukrowego, kwasowość i profil polifenoli w owocach dwóch odmian winorośli (*Vitis vinifera* L.) Regent i Cabernet Cortis prowadzonych na różną liczbę pędów, uprawianych w północno-zachodniej Polsce, a także analiza interakcji między badanymi czynnikami i ich wpływu na zawartość poszczególnych grup polifenoli.

*Zadanie 3. (P3)* – analizę wpływu preparatu Tytanit® na parametry fizjologiczne i biochemiczne: zawartość barwników asymilacyjnych, wydajność aparatu fotosyntetycznego poprzez zmierzenie maksymalnej potencjalnej aktywności fotochemicznej Fv/Fm i maksymalnej efektywności rozszczepienia wody po donorowej stronie PSII Fv/Fo, stężenie wolnej proliny oraz względną zawartość wody RWC w tkankach zielonych poziomki pospolitej (*Fragaria vesca* L.) odmiana Baron von Solemacher uprawianej w warunkach zasolenia.

*Zadanie 4. (P4)* – badanie wpływu oddziaływania preparatów EM i Tytanit® na parametry fizjologiczne, biochemiczne i jakościowe fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.) zielonostrąkowej, odmiany Jagusia. Badania obejmowały oznaczenie chlorofilu *a* i *b*, karotenoidów, proliny i MDA w liściach roślin oraz badania związane z plonem, tj. oznaczeniem średniej liczby strąków, ich świeżej i suchej masy, a także oznaczenia wybranych mikro i makroskładników.

Określony w pracy cel posłużył do zweryfikowania prawdziwości następującej hipotezy badawczej: zastosowanie preparatów EM i Tytanit® w uprawie wybranych roślin ogrodniczych wpływa na poprawę ich procesów fizjologicznych i plonowania oraz na złagodzenie przebiegu reakcji stresowych wywołanych zasoleniem podłoża, co znajduje odzwierciedlenie w otrzymanych wartościach ich parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych.

### 3. Materiał i metody badań

#### 3.1. Materiał badawczy

**Zadanie 1. (P1).** Przeprowadzono dwuletnie doświadczenie wazonowe z bazylią pospolitą (*Ocimum basilicum* L.) odmiany Piccolino z zastosowaniem Efektywnych Mikroorganizmów (EM). Doświadczenie prowadzono w kontrolowanych warunkach wodnych. Materiał roślinny pozyskany w doświadczeniu poddano analizie w laboratorium Katedry Fizjologii Roślin i Biochemii Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Dwuczynnikowe doświadczenie wazonowe założono w układzie bloków losowych w trzech powtórzeniach. Pierwszym czynnikiem były 2 poziomy stosowania EM (1. poziom – wykorzystanie wodnego roztworu EM w rozcieńczeniu 1:100, 2. poziom kontrolny – bez zabiegów z EM). Drugim czynnikiem były 3 poziomy terminów pomiarów.

Nasiona w ilości 10 szt. na wazon wysiano do gotowego podłoża na bazie torfu o pH 5,5 – 6,5, zasoleniu 1,9 g NaCl dm<sup>-3</sup> i z dawką startową nawozu wieloskładnikowego NPK 14-16-18 w ilości 0,6 kg na m<sup>-3</sup> podłoża. Materiał roślinny pobrano do badań w odstępach miesięcznych tj.: na początku czerwca, lipca i sierpnia.

**Zadanie 2. (P2).** Materiał badawczy obejmował dwie odmiany winorośli Regent i Cabernet Cortis. Owoce (grona) do badań pochodziły z 5 letnich roślin uprawianych w nienawadnianej winnicy położonej w Stacji Doświadczalnej ZUT w Ostoi. W czasie wegetacji w 5 i 6 roku uprawy rośliny były traktowane preparatem EM w ilości 10 litrów na hektar, aplikowanym w formie oprysku. Opryski przeprowadzano w dwutygodniowych odstępach w okresie od pojawiania się pierwszych pąków liściowych do dojrzałości fizjologicznej owoców. Dodatkowo rośliny były prowadzone na zróżnicowaną liczbę pędów na łozie tj. 4 i 8. Materiał badawczy stanowiły owoce winorośli zebrane w okresie dojrzałości zbiorczej.

**Zadanie 3. (P3).** Doświadczenie wazonowe przeprowadzono w hali wegetacyjnej ZUT w Szczecinie, w którym materiałem doświadczalnym była poziomka pospolita (*Fragaria vesca* L.) odmiana Baron von Solemacher, uprawiana w podłożu o trzech poziomach zasolenia z zastosowaniem Tytanitu lub jego brakiem.

W każdym roku nasiona poziomki wysiewano do gotowego podłoża ogrodniczego na bazie torfu i piasku. Podłoże miało pH 6, zasolenie 1,9 g NaCl dm<sup>-3</sup> i dawkę startową

nawozu wieloskładnikowego o składzie NPK 14-16-18 w ilości 0,6 kg m<sup>-3</sup>. Po 6 tygodniach młode siewki przepikowano do wazonów o pojemności 1 dm<sup>3</sup> i umieszczono je w osiatkowanej części hali wegetacyjnej. Wilgotność podłoża utrzymywano w zakresie pF 2.2 – 1.7.

Doświadczenie wazonowe założono w układzie bloków losowych w trzech powtórzeniach każde po 8 roślin. Pierwszym czynnikiem były 3 stopnie zasolenia podłoża: S1 - zasolenie gotowego podłoża 32,5 Mm L<sup>-1</sup> NaCl; S2 - 50 Mm L<sup>-1</sup> NaCl; S3 - 100 Mm L<sup>-1</sup> NaCl. Drugim czynnikiem było zastosowanie Tytanitu (T) w jednej dawce w trzech stopniach zasolenia podłoża S1+T, S2+T, S3+T. Rośliny podlewano wodnym roztworem Tytanitu o stężeniu 0,3% w trzech fazach rozwoju roślin: po przyjęciu się sadzonek (rozwinięty 2.–3) liść, rozwinięty 5.–8. liść i na początku kwitnienia, zgodnie z zaleceniami producenta. Kontrolę stanowiły rośliny uprawiane na podłożu o najniższym zasoleniu S1 bez zastosowania Tytanitu. Pomiarów badanych parametrów zostały wykonane w dwóch fazach fenologicznych BBCH 15 (rozwinięty 5 liść) i BBCH 60 (otwarte pierwsze kwiaty). Materiał do analiz chemicznych stanowiły liście pobrane ze środka rozety roślin.

**Zadanie 4. (P4).** Doświadczenie przeprowadzono w hali wegetacyjnej ZUT w Szczecinie, gdzie materiałem doświadczalnym była fasola zwyczajna (*Phaseolus vulgaris* L.) zielonostrąkowa odmiana Jagusia. Nasiona fasoli wysiano do wazonów (3 nasiona/ wazon) o pojemności 4 dm<sup>3</sup>. Podłoże stanowiła gleba pobrana z poziomu orno próchnicznego (0÷30 cm) ziem rdzawych. Doświadczenie wazonowe zostało przeprowadzone w układzie dwuczynnikowym z trzema powtórzeniami, w kontrolowanych warunkach wodnych. Badanym czynnikiem było zastosowanie preparatów EM i Tytanit® w sposób i dawkach zalecanych przez producentów zgodnie z wymaganiami uprawianego gatunku; faza 3–5 liścia właściwego (BBCH 13–15) i rozwój pędów (BBCH 21–29).

Pomiary wybranych parametrów wykonano w trzech fazach fenologicznych: 15 BBCH – rozwinięte 5 liści, 24 BBCH – widoczny czwarty pęd i 65 BBCH – pełnia fazy kwitnienia 50% kwiatów otwartych.

### 3.2. Metodyka badań

W ramach pracy przeprowadzono oznaczenie parametrów biochemicznych, fizjologicznych oraz jakościowych wybranych roślin ogrodniczych.

#### Badania parametrów biochemicznych obejmowały:

- oznaczenie wolnej proliny wg metody Batesa i in. (1973)
- oznaczenie zawartości dialdehydu malonowego (MDA) wg metody Sudhakar i in. (2001)
- oznaczenie zawartości polifenoli w tym związków należących do antocyjanów, kwasów fenolowych, flawonoli i flawan-3-oli przy wykorzystaniu ultrawydajnej chromatografii cieczerwskiej skojarzonej z detektorem fotodiodowym oraz spektrometrem mas (UPLC-PDA/MS).

#### Badania parametrów fizjologicznych obejmowały:

- oznaczenie zawartości chlorofilu *a* i *b* oraz karotenoidów wg metody Arnona (1956) zmodyfikowanej wg Lichtenthalera i Wellburna (1983)
- zmierzenie relatywnej zawartości wody w świeżej tkance roślinnej (RWC) wg metody Yamasaki i Dillenbu (1999)
- zmierzenie wydajności aparatu fotosyntetycznego roślin w tym maksymalnej potencjalnej aktywności fotochemicznej (Fv/Fm) oraz maksymalnej efektywności rozszczepienia wody po stronie donorowej PSII (Fv/Fo), metodą fluorescencji chlorofilu *a*, za pomocą fluorymetru Handy-PEA (Hansatech Instruments Ltd. Anglia).

#### Badania parametrów jakościowych obejmowały:

- oznaczenie zawartości ekstraktu cukrowego za pomocą refraktometru elektronicznego PAL-1 (Atago, Tokyo, Japan)
- oznaczenie kwasowości miareczkowanej przy użyciu pH-metru (Elmetron 501, Zabrze, Poland), przez miareczkowanie ekstraktu wodnego z 0,1 N NaOH do punktu końcowego pH 8,1
- oznaczenie zawartości składników mineralnych (Na, Ca, K, Fe, Mn, Mg, P) techniką atomowej spektroskopii absorpcyjnej wg. metody Sapek i Sapek (1997)
- określenie średniej liczby strąków z jednej rośliny, a także oznaczenie świeżej i suchej masy strąków fasoli (metodą wagową).

### **3.3. Analiza statystyczna danych eksperymentalnych**

Dane eksperymentalne zostały poddane jedno lub wieloczynnikowej analizie wariancji ANOVA. Obliczono istotność statystyczną poszczególnych czynników jako ich istotność fizyczną przy zastosowaniu procentowego współczynnika wpływu udziału. Istotność różnic między poszczególnymi średnimi i dla interakcji określono za pomocą testu Tukey'a przy poziomie istotności  $p=0,05$ . Obliczenia przeprowadzono przy użyciu programów Microsoft Excel i/lub Statistica 12.0.

## 4. Omówienie uzyskanych wyników

Niniejsza rozprawa doktorska została oparta na czterech oryginalnych artykułach naukowych spójnych tematycznie i opublikowanych w czasopiśmie znajdujących się na liście MNiSW (P1-P4). Artykuły stanowiące dysertację poruszają problematykę wpływu preparatów EM i Tytanit® na ogólny stan fizjologiczny wybranych roślin ogrodniczych. Pierwsze dwa artykuły dotyczą wpływu preparatu EM na parametry biochemiczne, odpowiednio: ziela bazylii (P1) i owoców winorośli (P2). Dodatkowo w przypadku owoców winorośli oznaczono ich cechy jakościowe, zarówno pod wpływem EM oraz sposobu cięcia i prowadzenia pędów. Wpływ preparatu Tytanit® na parametry biochemiczne i fizjologiczne poziomki pospolitej został przedstawiony w artykule trzecim (P3). Ostatni ze wskazanych artykułów (P4) przedstawia porównanie wpływu preparatów EM i Tytanit® na wybrane parametry biochemiczne, fizjologiczne i jakościowe fasoli zwyczajnej.

Sprawnie przebiegające procesy biochemiczno-fizjologiczne decydują o prawidłowym wzroście roślin, co w konsekwencji wpływa na jakość i wielkość plonu. Dlatego w dysertacji doktorskiej, będącej kompilacją czterech artykułów naukowych skupiono się na analizie wskaźników biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych, które wydają się najbardziej adekwatne w ocenie kondycji wybranych roślin ogrodniczych, rosnących w zróżnicowanych warunkach podłoża i poddanych oddziaływaniu biostymulatorów.

### 4.1. Effect of effective micro-organisms on the proline and MDA contents in herb plant material of *Ocimum basilicum* L. var. *Piccolino* (P1)

Występowanie stresu oksydacyjnego u roślin jest skutkiem oddziaływania jednego lub wielu niekorzystnych czynników zewnętrznych. Postępująca degradacja środowiska naturalnego, m.in. w wyniku wysokiej chemizacji upraw, a także niekorzystne zmiany klimatu multiplikują ilość tych czynników. Ich występowanie i negatywny wpływ na rośliny wiąże się z koniecznością stosowania przyjaznych dla środowiska preparatów, takich jak np. EM, które wspomagają rozwój roślin i wpływają na ograniczenie występowania stresu oksydacyjnego w czasie ich wzrostu (Higa, 2004).

Praca miała na celu określenie wpływu Efektywnych Mikroorganizmów (EM) na poziom wolnej proliny i MDA, jako wskaźników biochemicznych adekwatnych w ocenie

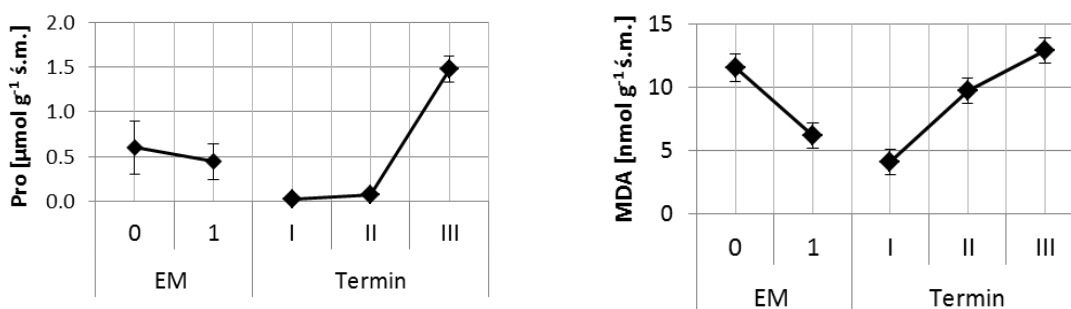


aktywności biochemicznej i ogólnego stanu fizjologicznego badanych w różnych okresach wegetacji bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum* L.).

Prolina jest enzymem, którego rolą jest m.in. osmoregulacja, stabilizacja błon komórkowych oraz ochrona tkanek rośliny przed degradacją. Jej poziom akumulacji w tkankach zależy od wieku rośliny, stadium rozwoju, a także od czynników abiotycznych, jak temperatura, usłonecznienie czy wilgotność. Szybki wzrost jej zawartości w roślinie obserwuje się w momencie zadziałania czynnika stresowego (Verbruggen i Hermans, 2008).

Analiza wyników wykazała istotny wpływ zastosowania EM i terminu pomiaru na zawartość wolnej proliny w materiale roślinnym bazylii. Należy jednak zaznaczyć, że uzyskane procentowe współczynniki wpływu obu tych czynników wykazały znacznie większy wpływ terminu przeprowadzenia pomiaru na zawartość wolnej proliny ( $P=92,8\%$ ) niż stosowanie EM ( $P=1,22\%$ ).

W pierwszym i drugim terminie pomiaru, niezależnie od zastosowania EM, rośliny charakteryzowały się bardzo niską zawartością proliny od 0 do  $0,02 \mu\text{mol g}^{-1}$  ś.m. Najwyższe stężenie proliny odnotowano w trzecim terminie, przy czym w przypadku roślin traktowanych preparatem EM było ono istotnie niższe ( $1,48 \mu\text{mol g}^{-1}$  ś.m.) niż u roślin kontrolnych ( $1,74 \mu\text{mol g}^{-1}$  ś.m.) (Ryc. 1).



Ryc. 1. Wpływ badanych czynników na średnią zawartość proliny oraz średnia zawartość MDA w ziele bazylii pospolitej.

Dialdehyd malonowy powstaje w wyniku bardzo istotnego zaburzenia w komórce jakim jest peroksydacja lipidów. Powoduje on zmiany struktury błony komórkowej, co prowadzi do jej dezintegralności i rozprężenia fosforylacji w mitochondriach, działa również mutagennie na DNA (Islam i in., 2009).

Procentowy udział wpływu EM kształtował się na poziomie ok. 23%, przy czym ponownie najistotniejszy wpływ miał termin pomiaru 42,3%.

Najniższe stężenie MDA odnotowano na początku wegetacji, zarówno w przypadku roślin traktowanych EM (3,17 nmol g<sup>-1</sup> ś.m.), jak i kontrolnych (5,01 nmol g<sup>-1</sup> ś.m.) (Fig. 1). W drugim terminie, niezależnie od wariantu doświadczenia, parametr ten kształtował się na podobnym poziomie, tj. 9,57 - 9,84 nmol g<sup>-1</sup> ś.m. Najwyższe stężenie MDA odnotowano pod koniec wegetacji u roślin kontrolnych 20,22 nmol g<sup>-1</sup> ś.m., było ono 4-krotnie wyższe w porównaniu do roślin traktowanych EM, u których odnotowano stężenie o wartości 5,65 nmol g<sup>-1</sup> ś.m.

#### **4.2. The influence of Effective Microorganisms and number of buds per cane in viticulture on chemical composition in fruits (P2)**

W wyniku ocieplenia klimatu strefa upraw winorośli przesuwa się na północ. Problemem w tych warunkach może być niska jakość owoców. Właściwy dobór agrotechniki oraz środków wspomagających rozwój roślin stanowią podstawę uzyskania polonów o wysokiej jakości.

Efektywne Mikroorganizmy to naturalny preparat ochronny, który swoim działaniem ma łagodzić stres fizjologiczny u roślin wywołany różnymi abiotycznymi czynnikami. Cięcie winorośli i prowadzenie krzewów na określoną liczę pędów sprzyja zawiązywaniu się owoców o optymalnym rozmiarze, właściwym kolorze oraz odpowiedniej zawartości ekstraktu. Polifenole są jedną z najczęściej badanych grup związków biologicznie czynnych, ze względu na swoje właściwości prozdrowotne. Skład profilu polifenolowego winogron zależy od wielu czynników, m.in.: odmiany winorośli, stopnia dojrzałości owoców, warunków klimatycznych i glebowych oraz stanu fizjologicznego rośliny (Pantelić i in., 2016).

Celem przeprowadzonego doświadczenia było zbadanie wpływu EM oraz liczby pędów na zawartość ekstraktu cukrowego, kwasowości i profil polifenoli w owocach dwóch odmian winorośli Regent i Cabernet Cortis uprawianych w północno-zachodniej Polsce. Przeprowadzono także analizę interakcji między badanymi czynnikami i ich wpływu na zawartość poszczególnych grup polifenoli.

Wykazano brak istotnego wpływu przeprowadzonych zabiegów, tj. liczby pędów i stosowania EM na zawartość w owocach ekstraktu ogólnego oraz ich kwasowość ogólną. Średnia zawartość ekstraktu ogólnego w owocach obu odmian kształtowała się w przedziale 15,85 – 17,95 °Brix, a kwasowość ogólna od 5,25 do 6,40 g dm<sup>-3</sup>.

W aspekcie przydatności technologicznej plonu, zawartość związków polifenolowych jest jednym z najważniejszych parametrów jakościowych winogron oraz win. Polifenole mają bezpośredni wpływ na cechy organoleptyczne win, takie jak smak, cierpkość, gorycz i kolor. W owocach winorośli oznaczono 36 związków polifenolowych należących do antocyjanów, kwasów fenolowych, flawonoli i flawan-3-oli. Wyniki zawartości poszczególnych grup polifenoli zebrano i przedstawiono w Tabeli 1.

W doświadczeniu wykazano istotny wpływ badanych czynników na całkowitą zawartość polifenoli w owocach. Najistotniejszym czynnikiem różnicującym zawartość polifenoli była odmiana (P=69,8%), następnie liczba pędów (P=10,8%) oraz zastosowanie EM (P=7,9%).

**Tabela 1.** Wpływ sposobu prowadzenia winorośli oraz stosowania EM na zawartość polifenoli ogółem w owocach winogron odmian Regent i Cabernet Cortis (test Tukey'a p=0,05).

Liczba pędów	'Regent'			'Cabernet Cortis'		
	K	EM	średnia	K	EM	średnia
Polifenole (mg 100 g <sup>-1</sup> ś.m.)						
4	528,73 <sup>a</sup>	469,98 <sup>ab</sup>	<b>499,35<sup>A</sup></b>	382,42 <sup>cd</sup>	357,01 <sup>cde</sup>	<b>369,71<sup>C</sup></b>
8	471,28 <sup>ab</sup>	418,03 <sup>bc</sup>	<b>444,66<sup>B</sup></b>	342,57 <sup>de</sup>	317,29 <sup>e</sup>	<b>329,93<sup>D</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>500,01A</b>	<b>444,00B</b>		<b>362,50C</b>	<b>337,15C</b>	
Antocyjany (mg 100 g <sup>-1</sup> ś.m.)						
4	374,28 <sup>a</sup>	333,06 <sup>bc</sup>	<b>353,67<sup>A</sup></b>	206,38 <sup>d</sup>	207,50 <sup>d</sup>	<b>206,94<sup>C</sup></b>
8	338,81 <sup>ab</sup>	297,14 <sup>c</sup>	<b>317,98<sup>B</sup></b>	198,01 <sup>d</sup>	184,77 <sup>d</sup>	<b>191,39<sup>C</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>356,55A</b>	<b>315,10B</b>		<b>202,20C</b>	<b>196,14C</b>	
Kwasy fenolowe (mg 100 g <sup>-1</sup> ś.m.)						
4	23,13 <sup>a</sup>	22,18 <sup>a</sup>	<b>22,66<sup>C</sup></b>	36,37 <sup>c</sup>	33,14 <sup>cd</sup>	<b>34,76<sup>A</sup></b>
8	30,83 <sup>bcd</sup>	26,34 <sup>ab</sup>	<b>28,59<sup>B</sup></b>	29,02 <sup>bc</sup>	25,64 <sup>ab</sup>	<b>27,33<sup>B</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>26,98BC</b>	<b>24,26C</b>		<b>32,69A</b>	<b>29,39AB</b>	
Flawanole (mg 100 g <sup>-1</sup> ś.m.)						
4	24,33 <sup>a</sup>	15,62 <sup>b</sup>	<b>19,98<sup>A</sup></b>	13,73 <sup>bc</sup>	11,34 <sup>c</sup>	<b>12,54<sup>B</sup></b>
8	22,06 <sup>a</sup>	14,60 <sup>bc</sup>	<b>18,33<sup>A</sup></b>	12,28 <sup>bc</sup>	10,67 <sup>c</sup>	<b>11,47<sup>B</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>23,20A</b>	<b>15,11B</b>		<b>13,00BC</b>	<b>11,01C</b>	
Flawon-3-ole (mg 100 g <sup>-1</sup> ś.m.)						
4	106,99 <sup>a</sup>	99,11 <sup>b</sup>	<b>103,05<sup>A</sup></b>	125,94 <sup>a</sup>	105,02 <sup>a</sup>	<b>115,48<sup>A</sup></b>
8	79,58 <sup>c</sup>	79,94 <sup>c</sup>	<b>79,76<sup>C</sup></b>	103,27 <sup>ab</sup>	96,21 <sup>b</sup>	<b>99,74<sup>B</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>93,28BC</b>	<b>89,53C</b>		<b>114,60A</b>	<b>100,62B</b>	

K – kontrola; EM – Efektywne Mikroorganizmy

Efektywne Mikroorganizmy miały znaczący wpływ na obniżenie zawartości polifenoli ogółem w owocach badanych odmian winogron. Najniższy poziom związków polifenolowych stwierdzono w owocach z roślin prowadzonych na 8 pędów i uprawianych z wykorzystaniem EM – ‘Cabernet Cortis’ 317,29 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m., ‘Regent’ 418,03 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.. Natomiast, najwyższą zawartością polifenoli charakteryzowały się owoce odmiany Regent, z roślin prowadzonych na 4 pędy uprawianych w warunkach kontrolnych (bez EM) 528,73 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.

Antocyjany są w głównej mierze odpowiedzialne za barwę owoców i pozyskiwanego z nich moszczu. W owocach obu odmian stanowiły one największą grupę związków polifenolowych – ‘Regent’ 71,2%, ‘Cabernet Cortis’ 56,9 %. Przeprowadzone zabiegi miały istotny wpływ na badany parametr głównie w przypadku odmiany Regent. Najwyższy procentowy udział wpływu czynnika na zawartość antocyjanów wykazano dla odmiany (P=87,9%). Natomiast udział pozostałych czynników, tj. EM i liczby pędów, wyniósł odpowiednio: P=1,5% i P=3,1%. Owoce odmiany Regent poddane działaniu EM charakteryzowały się istotnie mniejszą zawartością antocyjanów (315,10 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) w porównaniu z kontrolą (356,55 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) bez względu na sposób prowadzenia roślin. Natomiast owoce z roślin o 4 pędach miały istotnie większą zawartość antocyjanów (499,35 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) niż z krzewów o 8-mu pędach (444,66 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.). U odmiany Cabernet Cortis nie stwierdzono istotnego wpływu przeprowadzonych zabiegów na wartości tego parametru. Natomiast, wykazano istotnie wyższą całkowitą średnią zawartość antocyjanów w owocach odmiany Regent (335,83 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) niż w owocach odmiany Cabernet Cortis (199,17 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.).

Krzewy z różną liczbą pędów charakteryzują się odmiennym mikroklimatem korony. Stosowanie cięcia powoduje zmianę natężenia promieniowania słonecznego, temperatury czy wilgotności w koronie, co najczęściej ma istotny wpływ na skład i jakość winogron (Haselgrove i in., 2000).

Kwasy fenolowe stanowiły 5,4% ‘Regent’ i 8,9% ‘Cabernet Cortis’ całkowitej zawartości polifenoli. Średnia zawartość kwasów fenolowych u obu odmian była głównie determinowana liczbą pędów. Największy wpływ miała interakcja między odmianą a liczbą pędów (P=43,2%), następnie odmiana (P=28,5%) i stosowanie EM (P=8,8%). U odmiany Regent znacznie więcej kwasów fenolowych stwierdzono w owocach roślin z 8-ma pędami (28,59 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) niż z 4-ma pędami (22,66 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.). Natomiast u odmiany Cabernet Cortis większą zawartość kwasów odnotowano w owocach z roślin z 4-ma pędami (34,76 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) niż w tych z roślin z 8-ma pędami (27,33

mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.). Odmiana Cabernet Cortis charakteryzowała się istotnie wyższą zawartością kwasów fenolowych (31,04 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) w porównaniu do owoców odmiany Regent (25,62 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.).

Flawonole to pigmenty żółte, które w winach czerwonych są maskowane przez antocyjany, jednak wpływają na ich barwę przez koopigmentację, której efektem jest wzmocnienie ekstrakcji antocyjanów podczas produkcji wina. W badaniach grupa ta stanowiła 4,1% całkowitej zawartości polifenoli w przypadku odmiany Regent i 3,4% dla 'Cabernet Cortis'. Najbardziej istotnym czynnikiem, który kształtował zawartość flawonoli w owocach była ponownie odmiana winorośli (P=52,8%), następnie stosowanie EM (P=26,2%) oraz ich interakcja (P=9,6%). Stosowanie EM miało istotny wpływ na zawartość flawonoli w owocach odmiany Regent, niezależnie od ilości pędów. Owoce tej odmiany pochodzące z roślin traktowanych EM miały istotnie niższą zawartość flawonoli (15,11 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) w porównaniu do roślin uprawianych bez EM (23,20 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.). W przypadku odmiany Cabernet Cortis nie wykazano istotnego wpływu przeprowadzonych zabiegów na badany parametr. Odmiana Regent charakteryzowała się większą zawartością flawonoli (19,15 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.) niż odmiana Cabernet Cortis (12,01 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.).

Flawan-3-ole to grupa związków taninowych, które licznie występują głównie w winogronach odmian czerwonych. Odpowiadają one za 'strukturę' wina, cierpkość, gorycz. Odgrywają również bardzo ważną rolę w stabilizacji barwy czerwonej w winie (Guerrero i in. 2009). Całkowita zawartość flawan-3-oli u odmiany Regent wyniosła 91,4 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m., a u odmiany Cabernet Cortis 107,61 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m. Tym samym związki należące do tej grupy stanowiły odpowiednio 19,4% i 30,8% całkowitej zawartości oznaczonych polifenoli w owocach badanych odmian winorośli. Znaczący wpływ na całkowitą zawartość flawan-3-oli miała odmiana (P=28,6%), liczba pędów (P=41,4%), EM (P= 8,6).

W owocach obu odmian winorośli prowadzonych na większą liczbę pędów odnotowano znacząco niższą średnią zawartość flawan-3-oli w porównaniu do owoców z krzewów prowadzonych na mniejszą liczbę pędów. Zastosowanie EM spowodowało istotny obniżenie zawartości flawan-3-oli u odmiany Cabernet Cortis (114,60 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.; kontrola 100,62 mg 100 g<sup>-1</sup> ś.m.).

#### 4.3. Effect of Tytanit® on the physiological activity of wild strawberry (*Fragaria vesca* L.) grown in salinity conditions (P3)

Niedobór zasobów słodkiej wody, zanieczyszczenie środowiska oraz zwiększenie zasolenia gleby i wody stanowią realny problem w skali globalnej. Szacuje się, że na całym świecie 20% całkowitej uprawy i 33% nawadnianych gruntów rolnych jest dotkniętych wysokim zasoleniem (Shrivastava i Kumar, 2015). Wpływa to na zmniejszenie powierzchni uprawnej oraz pogorszenie wydajności i jakości plonów. Stosowanie preparatów wspomagających wzrost roślin w takich warunkach staje się nieodzowne. Poziomka pospolita (*Fragaria vesca* L.) jest gatunkiem niszowym. Ze względu na intensywny smak i aromat oraz wysoką zawartość antyoksydantów jej owoce są cenione i poszukiwane zarówno przez rynek świeżych owoców, przemysł przetwórczy, cukierniczy, jak i również kosmetyczny (Yurdugul, 2008).

Celem przeprowadzonego doświadczenia było zbadanie wpływu oraz skuteczności działania preparatu Tytanit® na aktywność fizjologiczną poziomki pospolitej odmiana Baron von Solemacher uprawianej w warunkach zasolenia.

W doświadczeniu wykazano, iż największy współczynnik wpływu na zawartość barwników asymilacyjnych, tj.: chlorofilu *a* i *b* oraz karotenoidów miało zasolenie, od 27,40% do 32,07%. Dla chl. *a* i karotenoidów drugi co do istotności wpływ miała interakcja między zasoleniem a terminem, odpowiednio  $P=24,17\%$  i  $P=29,27\%$ , a dla chl. *b* interakcja między zastosowaniem Tytanitu, a terminem  $P=20,94\%$ , natomiast wpływ zastosowania Tytanitu wyniósł  $P=12,27\%$ .

W pierwszym terminie pomiaru, niezależnie od poziomu zasolenia podłoża, nie odnotowano znaczącego wpływu Tytanitu na zawartość poszczególnych barwników asymilacyjnych. Natomiast w drugim terminie, rośliny poddane działaniu preparatu charakteryzowały się istotnie niższą zawartością chlorofilu *a*, *b* oraz karotenoidów, (odpowiednio  $1,359 \text{ mg g}^{-1} \text{ ś.m.}$ ;  $0,573 \text{ mg g}^{-1} \text{ ś.m.}$ ; i  $3,068 \text{ mg g}^{-1} \text{ ś.m.}$ ), w porównaniu do roślin uprawianych bez Tytanit® (chl *a*  $1,797 \text{ mg g}^{-1} \text{ ś.m.}$ ; chl *b*  $0,788 \text{ mg g}^{-1} \text{ ś.m.}$ ; karotenoidy  $3,965 \text{ mg g}^{-1} \text{ ś.m.}$ ) (Tabela 2).

W przeprowadzonych badaniach wykazano wpływ wszystkich badanych czynników na zawartość proliny w liściach poziomki. Przy czym najistotniejszy wpływ miało zasolenie  $P=56,84\%$ , termin  $P=28,93\%$ , a najmniejszy zastosowanie Tytanitu  $P=0,53\%$ .

**Tabela 2.** Wpływ Tytanitu na zawartość barwników asymilacyjnych oraz stężenie wolnej proliny w liściach poziomki pospolitej uprawianej na podłożach o różnym poziomie zasolenia (test Tukey'a  $p=0,05$ ).

Zasolenie	BBCH15			BBCH60		
	0	T	średnia	0	T	średnia
Chlorofil <i>a</i> (mg g <sup>-1</sup> ś.m.)						
S1	1,651 <sup>bcd</sup>	1,921 <sup>ab</sup>	<b>1,786<sup>B</sup></b>	2,007 <sup>ab</sup>	2,185 <sup>a</sup>	<b>2,096<sup>A</sup></b>
S2	1,777 <sup>bc</sup>	1,736 <sup>bcd</sup>	<b>1,756<sup>B</sup></b>	1,852 <sup>abc</sup>	1,396 <sup>d</sup>	<b>1,624<sup>B</sup></b>
S3	1,758 <sup>bcd</sup>	1,663 <sup>bcd</sup>	<b>1,710<sup>B</sup></b>	1,535 <sup>cd</sup>	0,497 <sup>e</sup>	<b>1,016<sup>C</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>1,729A</b>	<b>1,773A</b>		<b>1,797A</b>	<b>1,359B</b>	
Chlorofil <i>b</i> (mg g <sup>-1</sup> ś.m.)						
S1	0,605 <sup>c</sup>	0,700 <sup>abc</sup>	<b>0,653<sup>B</sup></b>	0,836 <sup>a</sup>	0,783 <sup>ab</sup>	<b>0,810<sup>A</sup></b>
S2	0,666 <sup>bc</sup>	0,695 <sup>abc</sup>	<b>0,681<sup>B</sup></b>	0,780 <sup>ab</sup>	0,611 <sup>c</sup>	<b>0,695<sup>B</sup></b>
S3	0,699 <sup>abc</sup>	0,661 <sup>bc</sup>	<b>0,680<sup>B</sup></b>	0,748 <sup>abc</sup>	0,326 <sup>d</sup>	<b>0,537<sup>C</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>0,657B</b>	<b>0,685B</b>		<b>0,788A</b>	<b>0,573C</b>	
Karotenoidy (mg g <sup>-1</sup> ś.m.)						
S1	3,445 <sup>cde</sup>	4,008 <sup>bcd</sup>	<b>3,727<sup>B</sup></b>	4,387 <sup>ab</sup>	5,014 <sup>a</sup>	<b>4,700<sup>A</sup></b>
S2	3,720 <sup>bcde</sup>	3,777 <sup>bcde</sup>	<b>3,740<sup>B</sup></b>	4,219 <sup>abc</sup>	3,078 <sup>e</sup>	<b>3,650<sup>B</sup></b>
S3	3,836 <sup>bcde</sup>	3,564 <sup>bcde</sup>	<b>3,700<sup>B</sup></b>	3,289 <sup>de</sup>	1,111 <sup>f</sup>	<b>2,200<sup>C</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>3,667A</b>	<b>3,783A</b>		<b>3,965A</b>	<b>3,068B</b>	
Prolina (μmol g <sup>-1</sup> ś.m.)						
S1	0,585 <sup>f</sup>	0,283 <sup>f</sup>	<b>0,434<sup>D</sup></b>	1,048 <sup>e</sup>	1,108 <sup>e</sup>	<b>1,078<sup>C</sup></b>
S2	0,445 <sup>f</sup>	0,527 <sup>f</sup>	<b>0,486<sup>D</sup></b>	1,415 <sup>de</sup>	1,752 <sup>cd</sup>	<b>1,583<sup>B</sup></b>
S3	2,100 <sup>c</sup>	1,365 <sup>de</sup>	<b>1,733<sup>B</sup></b>	4,905 <sup>a</sup>	4,229 <sup>b</sup>	<b>4,567<sup>A</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>1,044B</b>	<b>0,725C</b>		<b>2,456A</b>	<b>2,363A</b>	

S1 – podłoże o zasoleniu 32.5 mM L<sup>-1</sup>; S2 - 50 mM L<sup>-1</sup>; S3 – 100 mM L<sup>-1</sup>; 0 – brak Tytanitu; T – Tytanit®

Wykazano, że wyższe zasolenie podłoża (50 i 100 mM l<sup>-1</sup>), niezależnie od terminu pomiaru, istotnie zwiększyło ilości proliny w liściach poziomki. Natomiast stosowanie preparatu istotnie obniżyło stężenie proliny tylko w przypadku młodych roślin (Tytanit® 0,725 nmol g<sup>-1</sup> ś.m.; bez Tytanitu 1,044 nmol g<sup>-1</sup> ś.m.).

W badaniach wykazano znaczący wpływ zasolenia i terminu pomiaru na obniżenie względnej zawartości wody w liściach poziomki. Zasolenie miało wyraźnie większy wpływ niż termin. Natomiast Tytanit® różnicował wielkość wskaźników RWC i WSD w badanych terminach, ale w sposób nieistotny.

Pomiar fluorescencji chlorofilu znajduje zastosowanie w badaniach ekofizjologicznych, monitorowaniu upraw i ekosystemów zagrożonych czynnikami

fitotoksycznymi oraz w badaniach tolerancji roślin na różnorodne czynniki stresowe. Jest wysoce czołą próbą reakcji fotosyntetycznych roślin, która pozwala na wczesne wykrywanie zmian w ogólnym statusie rośliny (Kalaji i Łaboda, 2010).

W przeprowadzonym doświadczeniu z poziomką pospolitą maksymalna potencjalna fotochemiczna wydajność fotosystemu PSII ( $F_v/F_M$ ) była uzależniona w największym stopniu od terminu dokonania pomiaru  $P=37,28\%$ , następnie od interakcji między zasoleniem a terminem  $P=32,04\%$ , i od samego zasolenia  $P=25,09\%$ .

Maksymalna fotochemiczna wydajność PSII ( $F_v/F_M$ ) to wiarygodny wskaźnik aktywności fotochemicznej aparatu fotosyntetycznego. Dla większości roślin w fazie pełnego rozwoju i w warunkach optymalnych wartość tego parametru wynosi ok. 0,83 (Kalaji i Łaboda 2010). W doświadczeniu własnym z poziomką średnia wartość  $F_v/F_M$  dla roślin w stadium rozwoju BBCH15, wynosiła ok. 0,74 (Tabela 3). Starsze rośliny (BBCH60) charakteryzowały się istotnie niższą wartością  $F_v/F_M$  w porównaniu do młodszych, jednak, należy tu wskazać, że starsze rośliny traktowane Tytanitem miały istotnie wyższy wskaźnik  $F_v/F_M$  (ok. 0,51) niż rośliny uprawiane bez Tytanitu (ok. 0,44). Obniżenie wartości tej cechy świadczy o działaniu czynnika stresowego, który uszkodził funkcje PSII, zmniejszając efektywność transportu elektronów.

**Tabela 3.** Wpływ Tytanitu na wydajność aparatu fotosyntetycznego poziomki pospolitej uprawianej na podłożach o różnym poziomie zasolenia (test Tukey'a  $p=0,05$ ).

Zasolenie	BBCH15		średnia	BBCH60		średnia
	0	T		0	T	
<b>Fv/Fm</b>						
S1	0,750 <sup>a</sup>	0,721 <sup>a</sup>	<b>0,735<sup>A</sup></b>	0,691 <sup>a</sup>	0,667 <sup>a</sup>	<b>0,679<sup>A</sup></b>
S2	0,740 <sup>a</sup>	0,723 <sup>a</sup>	<b>0,731<sup>A</sup></b>	0,643 <sup>a</sup>	0,723 <sup>a</sup>	<b>0,683<sup>A</sup></b>
S3	0,716 <sup>a</sup>	0,699 <sup>a</sup>	<b>0,708<sup>A</sup></b>	0,006 <sup>b</sup>	0,025 <sup>b</sup>	<b>0,014<sup>B</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>0,735A</b>	<b>0,714A</b>		<b>0,436C</b>	<b>0,505B</b>	
<b>Fv/Fo</b>						
S1	3,012 <sup>a</sup>	2,785 <sup>a</sup>	<b>2,898<sup>A</sup></b>	2,500 <sup>a</sup>	2,157 <sup>a</sup>	<b>2,328<sup>A</sup></b>
S2	2,944 <sup>a</sup>	2,645 <sup>a</sup>	<b>2,794<sup>A</sup></b>	1,985 <sup>a</sup>	2,669 <sup>a</sup>	<b>2,327<sup>A</sup></b>
S3	2,650 <sup>a</sup>	2,562 <sup>a</sup>	<b>2,606<sup>A</sup></b>	0,006 <sup>b</sup>	0,027 <sup>b</sup>	<b>0,015<sup>B</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>2,868A</b>	<b>2,664A</b>		<b>1,453B</b>	<b>1,743B</b>	

S1 –podłoże o zasoleniu 32.5 mM L<sup>-1</sup>; S2 - 50 mM L<sup>-1</sup>; S3 – 100 mM L<sup>-1</sup>; 0 – brak Tytanitu; T – Tytanit®



Na maksymalną efektywność rozszczepienia wody po donorowej stronie PSII ( $F_v/F_o$ ) najistotniejszy wpływ miało zasolenie  $P=26,54\%$ , mniej istotny termin pomiaru  $P=25,88\%$ , a najmniejszy interakcja między tymi czynnikami  $P=17,11\%$ . Wartość błędu ( $P=28,21\%$ ) podobnie jak w przypadku asymilacji dwutlenku węgla przewyższała udział badanych czynników; stosowania Tytanitu, terminu i zasolenia. Wskazuje to na większy wpływ niebadanych w doświadczeniu czynników na wartość  $F_v/F_o$  u poziomki. Średnia wartość tego parametru była istotnie niższa w drugim terminie pomiaru niezależnie od stosowania Tytanitu. Najwyższe zasolenie podłoża spowodowało istotne obniżenie parametru w drugim terminie, średnia wartość  $F_v/F_o$  była niemal dwustu krotnie niższa od średniej wartości tego parametru mierzonego w pierwszym terminie.

W roślinach rosnących w warunkach zasolenia następuje zmniejszenie wartości stosunku  $F_v/F_o$ , co wskazuje na obniżenie wydajności reakcji rozszczepienia wody i osłabienie fotosyntetycznego transportu elektronów. Niższa wartość  $F_v/F_o$  odnotowana u roślin traktowanych Tytanitem w pierwszym terminie w porównaniu do kontroli może świadczyć o negatywnym działaniu preparatu na fazę jasną fotosyntezy. Obniżenie współczynnika  $F_v/F_o$  jest wskaźnikiem uszkodzeń strukturalnych, które występują w tylakoidach i wpływa na fotosyntetyczny transport elektronów.

#### **4.4. Influence of Tytanit® and EM on biochemical, physiological, and qualitative parameters of common bean (P4)**

Zwiększone występowanie stresów abiotycznych powodowane zmianami klimatycznymi wpływa na jakość i wielkość plonów roślin uprawnych. Rolą biostymulatorów w głównej mierze jest niwelowanie szkodliwego działania różnych czynników stresowych na rośliny i zapewnienie wysokich plonów o dobrej jakości (Higa, 2004). Fasola zwyczajna (*Phaseolus vulgaris* L.) jest jedną z najważniejszych gospodarczo roślin uprawnych na świecie.

Podjęte badania miały na celu ocenę wpływu Efektywnych Mikroorganizmów oraz Tytanitu na aktywność fizjologiczną i biochemiczną oraz cechy jakościowe fasoli zwyczajnej w okresie jej wegetacji.

Wykazano istotny wpływ badanych czynników na zawartość barwników asymilacyjnych w liściach fasoli. Największy wpływ na zawartość chl *a* i chl *b* oraz karotenoidów miał termin wykonania pomiaru, odpowiednio  $P=37,20\%$ ,  $P=42,32\%$ ,  $P=42,95\%$ . Interakcja między zastosowanymi preparatami a terminem miała istotny wpływ na zawartość chl *a* oraz karotenoidów ( $P=31,50\%$  i  $P=22,78\%$ ). Mniejszy, ale

również istotny wpływ miało zastosowanie preparatów (P=7,62% i P=11,75%). Rośliny traktowane preparatami charakteryzowały się istotnie wyższą średnią zawartością badanych barwników niż kontrola, przy czym najwyższą zawartość miały rośliny uprawiane z wykorzystaniem Tytanitu: chl *a* 1,757 mg g<sup>-1</sup> ś.m., chl *b* 0,707 mg g<sup>-1</sup> ś.m. i karotenoidy 0,956 mg g<sup>-1</sup> ś.m. (Tabela 4).

**Tabela 4.** Wpływ Tytanitu oraz EM na zawartość barwników asymilacyjnych, stężenie wolnej prolina i MDA w liściach fasoli zwyczajnej (test Tukey'a p=0,05).

Preparat	Faza fenologiczna			średnia
	15 BBCH	24 BBCH	65 BBCH	
Chlorofil a (mg g <sup>-1</sup> ś.m.)				
K	1,609 <sup>bc</sup>	1,600 <sup>bcd</sup>	1,568 <sup>bcd</sup>	<b>1,592<sup>B</sup></b>
EM	1,672 <sup>abc</sup>	1,275 <sup>d</sup>	2,001 <sup>a</sup>	<b>1,649<sup>AB</sup></b>
T	1,945 <sup>a</sup>	1,493 <sup>cd</sup>	1,832 <sup>ab</sup>	<b>1,757<sup>A</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>1,742A</b>	<b>1,456B</b>	<b>1,800A</b>	
Chlorofil b (mg g <sup>-1</sup> ś.m.)				
K	0,681 <sup>abcd</sup>	0,583 <sup>cd</sup>	0,600 <sup>cd</sup>	<b>0,621<sup>B</sup></b>
EM	0,741 <sup>ab</sup>	0,555 <sup>d</sup>	0,776 <sup>a</sup>	<b>0,693<sup>A</sup></b>
T	0,782 <sup>a</sup>	0,633 <sup>bcd</sup>	0,713 <sup>abc</sup>	<b>0,707<sup>A</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>0,733A</b>	<b>0,590B</b>	<b>0,698A</b>	
Karotenoidy (mg g <sup>-1</sup> ś.m.)				
K	0,811 <sup>bcd</sup>	0,801 <sup>cd</sup>	0,846 <sup>bcd</sup>	<b>0,819<sup>B</sup></b>
EM	0,946 <sup>abc</sup>	0,664 <sup>d</sup>	1,125 <sup>a</sup>	<b>0,912<sup>A</sup></b>
T	1,077 <sup>a</sup>	0,770 <sup>cd</sup>	1,021 <sup>ab</sup>	<b>0,956<sup>A</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>0,945A</b>	<b>0,745B</b>	<b>0,997A</b>	
MDA (nmol g <sup>-1</sup> ś.m.)				
K	38,22 <sup>b</sup>	21,89 <sup>cd</sup>	20,60 <sup>cd</sup>	<b>26,91<sup>B</sup></b>
EM	43,22 <sup>a</sup>	20,97 <sup>cd</sup>	18,10 <sup>c</sup>	<b>27,43<sup>AB</sup></b>
T	41,33 <sup>a</sup>	22,62 <sup>c</sup>	19,96 <sup>de</sup>	<b>27,97<sup>A</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>40,93A</b>	<b>21,83B</b>	<b>19,56C</b>	
Prolina (μmol g <sup>-1</sup> ś.m.)				
K	0,232 <sup>c</sup>	0,239 <sup>c</sup>	0,663 <sup>b</sup>	<b>0,378<sup>A</sup></b>
EM	0,139 <sup>d</sup>	0,122 <sup>d</sup>	0,701 <sup>ab</sup>	<b>0,321<sup>B</sup></b>
T	0,230 <sup>c</sup>	0,161 <sup>cd</sup>	0,756 <sup>a</sup>	<b>0,382<sup>A</sup></b>
<b>średnia</b>	<b>0,201B</b>	<b>0,174B</b>	<b>0,707A</b>	

K – kontrola; T - Tytanit®; EM –Efektywne Mikroorganizmy

W przypadku roślin kontrolnych zawartość badanych barwników była na podobnym poziomie we wszystkich trzech terminach pomiaru. Natomiast u roślin

poddanych działaniu preparatów odnotowano istotnie wyższą zawartość barwników w pierwszym i trzecim terminie pomiaru w porównaniu do kontroli, a w drugim terminie zaobserwowano ich istotne obniżenie. Wiele cech roślin podlega dużej zmienności fenotypowej w zależności od działania różnych czynników środowiska i genotypu. Wysoka zawartość chlorofilu w fazie 3-go pędu może świadczyć o intensywnie zachodzącej morfogenezie, natomiast niższy poziom barwnika w fazie kwitnienia może wskazywać na spowolnienie tego procesu. Wzrost zawartości badanych barwników w przypadku roślin traktowanych Tytanitem i EM w okresie formowania strąków najprawdopodobniej jest wynikiem większego zapotrzebowania roślin na asymilaty alokowane w tworzących się strąkach i nasionach, a z tym związany wzrost intensywności procesu asymilacji i bezpośrednio wpływających na ten proces barwników fotosyntetycznych. Tytanit® i EM okazały się aktywujące syntezę barwników.

Wykazano istotny wpływ zastosowanych preparatów oraz terminu pomiaru na zawartość proliny w tkance roślinnej. Przy czym najistotniejszy wpływ miał termin pomiaru  $P=95,58\%$ , a najmniejszy zastosowanie preparatów  $P=1,25\%$ .

Największą średnią zawartość proliny miały rośliny traktowane Tytanitem i kontrola odpowiednio  $0,378$  i  $0,382 \mu\text{mol g}^{-1}$  ś.m., istotnie mniejszą zawartość miały rośliny traktowane preparatem EM  $0,321 \mu\text{mol g}^{-1}$  ś.m. Najistotniejszy wzrost średniej zawartości proliny w świeżej tkance roślinnej odnotowano w trzecim terminie pomiaru dla wszystkich badanych wariantów. Przy czym rośliny traktowane Tytanitem charakteryzowały się najwyższym poziomem proliny ze wszystkich badanych wariantów badanych w tym terminie ( $0,756 \mu\text{mol g}^{-1}$  ś.m.). Mniejsza zawartość proliny u roślin traktowanych EM może świadczyć o łagodzącym wpływie tego preparatu na reakcje stresowe, które są wynikiem działania różnych czynników stresowych pojawiających się podczas ontogenezy czy też samym procesem starzenia się. Natomiast najwyższa średnia zawartość proliny w wariacie z Tytanitem sugeruje działanie preparatu podobne do abiotycznego czynnika stresowego, pobudzającego syntezę proliny.

Podobnie jak w przypadku proliny, wykazano, że na zawartość dialdehydu malonowego (MDA) w świeżej tkance roślinnej miały wpływ wszystkie badane czynniki. Przy czym, najistotniejszy wpływ miał termin wykonania pomiaru  $P=97,24\%$ , a najmniejszy zastosowanie preparatów  $P=0,20\%$ . Rośliny uprawiane z zastosowaniem preparatów charakteryzowały się wyższą średnią zawartością MDA niż kontrola, przy czym istotnie wyższą zawartość miały rośliny traktowane Tytanitem  $27,97 \text{ nmol g}^{-1}$  ś.m.. W pierwszym terminie pomiaru, traktowane rośliny cechowała istotnie wyższa zawartość

MDA (EM 43,22 nmol g<sup>-1</sup> ś.m., Tytanit® 41,33 nmol g<sup>-1</sup> ś.m.) niż w kontroli (38,22 nmol g<sup>-1</sup> ś.m.). Natomiast w trzecim terminie oba preparaty istotnie obniżyły poziom MDA w porównaniu do kontroli. Wysokie stężenie MDA w fazie 15 BBCH wskazuje na wystąpienie czynnika stresowego. Natomiast zaobserwowana wysoka średnia zawartość MDA w fasoli traktowanej tymi preparatami w porównaniu do kontroli może świadczyć o niekorzystnym ich działaniu na ten gatunek i wywołaniu stresu oksydacyjnego.

W strąkach fasoli oznaczono zawartość siedmiu pierwiastków: Na, Ca, K, Fe, Mn, Mg, P. Preparaty istotnie obniżyły zawartość Ca, Mn, Mg i P. Nie wykazano wpływu obu preparatów na zawartość potasu w strąkach fasoli. W przypadku Tytanitu odnotowano również znaczące obniżenie zawartości Na, a w przypadku EM wysoce istotne obniżenie zawartości Fe w porównaniu z kontrolą i Tytanitem (Tabela 5).

**Tabela 5.** Wpływ biostymulatorów na zawartość wybranych mikro i makroelementów w suchej masie strąków fasoli zwyczajnej (test Tukey'a p=0,05).

	<b>Pierwiastki (g kg<sup>-1</sup> s.m.)</b>						
	Na	Ca	K	Fe	Mn	Mg	P
K	0,693 <sup>a</sup>	3,630 <sup>a</sup>	11,921 <sup>a</sup>	0,045 <sup>a</sup>	0,017 <sup>a</sup>	1,602 <sup>a</sup>	5,770 <sup>a</sup>
EM	0,645 <sup>a</sup>	3,396 <sup>ab</sup>	12,060 <sup>a</sup>	0,029 <sup>b</sup>	0,015 <sup>b</sup>	1,392 <sup>b</sup>	5,126 <sup>b</sup>
T	0,241 <sup>b</sup>	3,129 <sup>b</sup>	10,941 <sup>a</sup>	0,044 <sup>a</sup>	0,013 <sup>b</sup>	1,295 <sup>b</sup>	5,598 <sup>ab</sup>

K – kontrola; EM – Efektywne Mikroorganizmy; T - Tytanit®

Analiza statystyczna nie wykazała istotnego wpływu przeprowadzonych zabiegów na liczbę strąków oraz ich świeżą i suchą masę (Tabela 6). Przy czym, warto zaznaczyć, że wartości badanych parametrów były najwyższe w przypadku plonu z roślin kontrolnych (średnia liczba strąków zebranych z jednej rośliny 12,75; średnia świeża masa zebranych strąków z jednej rośliny 110,72 g; średnia sucha masa zebranych strąków z jednej rośliny 11,25 g).

**Tabela 6.** Uśrednione wyniki wybranych cech plonu fasoli zwyczajnej (test Tukey'a p=0,05).

	<b>Liczba strąków z jednej rośliny</b>		<b>Świeża masa strąków (g) z jednej rośliny</b>		<b>Sucha masa strąków (g) z jednej rośliny</b>	
	średnia	SD	średnia	SD	średnia	SD
K	12,75 <sup>a</sup>	2,19	110,72 <sup>a</sup>	14,86	11,25 <sup>a</sup>	1,77
EM	11,33 <sup>a</sup>	1,87	102,16 <sup>a</sup>	10,24	10,34 <sup>a</sup>	1,38
T	11,67 <sup>a</sup>	2,65	100,50 <sup>a</sup>	13,67	10,25 <sup>a</sup>	1,64

K – kontrola; EM – Efektywne Mikroorganizmy; T - Tytanit®; SD – odchylenie standardowe

## 5. Podsumowanie i wnioski

Wyniki przedstawione w publikacjach P1 – P4 konfrontując z wynikami innych autorów wskazują na niejednoznaczne działanie preparatów EM oraz Tytanit® w wybranych uprawach roślin ogrodnich. Ich skuteczność wydaje się być zależna od wielu czynników m.in.: warunków uprawy, doboru gatunku, a nawet odmiany. Precyzyjne określenie czynników determinujących skuteczność działania danego preparatu w danej uprawie jest konieczne w celu optymalizacji i racjonalizacji stosowania środków ochrony roślin oraz nawozów. Wyniki przedstawionych prac są uzupełnieniem wiedzy w zakresie wykorzystania preparatów EM oraz Tytanit® w uprawach roślin ogrodnich, a na ich podstawie sformułowano następujące wnioski:

1. Efektywne Mikroorganizmy łagodziły skutki stresu oksydacyjnego poprzez obniżenie stężenia wolnej proliny oraz istotne zredukowanie procesu peroksydacji lipidów (obniżenie poziomu MDA) w ziele bazylii i u fasoli zwyczajnej. Wskazuje to na przydatność preparatu w aklimatyzacji tych roślin do warunków stresowych.
2. Tytanit® spowodował znaczne obniżenie poziomu proliny w młodszych roślinach poziomki pospolitej uprawianej w warunkach zasolenia, co może wskazywać na łagodzenie przebiegu reakcji stresowej na tym etapie rozwoju, wywołanej zasoleniem. Natomiast nie stwierdzono takiego wpływu preparatu w późniejszej fazie rozwoju tych roślin.
3. Tytanit® zastosowany w uprawiane poziomki pospolitej w warunkach wysokiego zasolenia podłoża znacząco zredukował zawartości barwników asymilacyjnych oraz istotnie obniżył parametry wydajności aparatu fotosyntetycznego  $F_v/F_m$  i  $F_v/F_o$  w późniejszej fazie fenologicznej roślin, co może świadczyć o fitotoksyczności preparatu.
4. Zastosowanie Tytanitu, niezależnie od stopnia zasolenia podłoża, nie miało wpływu na poprawę bilansu wodnego (RWC) poziomki pospolitej, decydującego o kondycji fizjologicznej i produktywności roślin.
5. Zastosowanie Tytanitu, jak i Efektywnych Mikroorganizmów w uprawie fasoli zwyczajnej nie wpłynęło na wysokość plonu, natomiast znacząco obniżyło jego wartość biologiczną poprzez istotne zmniejszenie zawartości cennych żywieniowo pierwiastków

mineralnych w strąkach fasoli, takich jak: mangan, magnez, fosfor i wapń, oraz sodu (EM) i żelaza (Tytanit®).

6. Efektywne Mikroorganizmy obniżyły w owocach badanych odmian winorośli całkowitą zawartość polifenoli, związków o cennych właściwościach antyoksydacyjnych oraz nie miały wpływu na zawartość w owocach ekstraktu ogólnego i ich kwasowość ogólną, powodując tym samym obniżenie ich wartości biologicznej.

Na podstawie wykazanej w doświadczeniach bardzo zróżnicowanej reakcji fizjologicznej i biochemicznej badanych gatunków roślin ogrodniczych na stosowanie w ich uprawie preparatów EM oraz Tytanit® nie można potwierdzić założonej hipotezy badawczej, że preparaty te znacząco poprawiają kondycję fizjologiczną roślin ogrodniczych i wpływają na zwiększenie plonu oraz jego wartości biologicznej. Stosowanie EM oraz Tytanit® w uprawie przetestowanych roślin ogrodniczych celem polepszenia ich cech użytkowych wydaje się być nieuzasadnione.

Należy mieć na uwadze, że dobór odpowiednich do danej uprawy preparatów wspomagających rozwój i plonowanie roślin jest uzależniony od wielu czynników m.in.: gatunku, odmiany, fazy rozwojowej roślin, stopnia zasolenia podłoża, sposobu prowadzenia roślin. Dlatego wskazane jest wykonanie dalszych badań z zakresu biologii molekularnej oraz genetyki roślin. Pozwala to na lepsze zrozumienie i wyjaśnienie mechanizmów działania tych preparatów na poszczególne gatunki roślin ogrodniczych.

## Spis literatury

1. Arnon D. I., Allen M. B., Whatley F. R. 1956. Photosynthesis by isolated chloroplasts IV. General concept and comparison of three photochemical reactions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 20(3), pp. 449–461. doi: 10.1016/0006-3002(56)90339-0.
2. Bates L., Waldren R., Teare J. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
3. Boligłowa E., Gleń K. 2008. Assessment of Effective Microorganism activity (EM) in winter wheat protection against fungal diseases. *Ecol. Chem. Eng., A*, 15 (1–2): 23–27.
4. Borowski E., Blamowski Z. 2009. The Effects of triacontanol ‘TRIA’ and Asahi SL on the development and metabolic activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants treated with chilling. *Folia Horticulturae*. 21(1), 39–48.
5. Borkowski J., Kowalczyk W., Felczyńska A. 2017. Effect of spraying with Tytanit and Wapnovit on the yield and healthiness of chinese cabbage. *Zeszyty Naukowe Instytutu Ogrodnictwa 2017*, 25: pp. 187 – 195.
6. Buettner K. M., Valentine A. M. 2012. Bioinorganic chemistry of titanium. *Chem. Rev.* 112, 1863–1881. doi: 10.1021/cr1002886
7. Carvajal M., Alcaraz C. F. 1998. Why titanium is a beneficial element for plants. *J. Plant Nutr.* 21, 655–664. doi: 10.1080/01904169809365433
8. Carvajal M., Martinez-Sanchez F., and Alcaraz C. F. 1994. Effect of titanium (IV) application on some enzymatic activities in several developing stages of red pepper plants. *J. Plant Nutr.* 17, 243–253. doi: 10.1080/01904169409364724
9. Chaudhry A.N., Latif M.I., Khan A.A., Ghulam J., Tanveer I. 2005. Comparison of chemical fertilizer with organic manures by using effective microorganisms under maize cropping in rained areas. *Int. J. Boil. Biotechnol.* 2/4, 1001-1006.
10. Cigler P., Olejnickova J., Hruby M., Csefalvay L., Peterka J., and Kuzel S. 2010. Interactions between iron and titanium metabolism in spinach: a chlorophyll fluorescence study in hydropony. *J. Plant Physiol.* 167, 1592–1597. doi: 10.1016/j.jplph.2010.06.021.
11. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej, 2019. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1009 z dnia 5 czerwca 2019 r. ustanawiające przepisy dotyczące udostępniania na rynku produktów nawozowych UE,

- zmieniające rozporządzenia (WE) nr 1069/2009 i (WE) nr 1107/2009 oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 2003/2003.
12. Fawzy Z.F., El-magd M. M., Li Y., Ouyang Z., Hoda, A.M. 2012. Influence of Foliar Application by EM “Effective Microorganisms”, Amino Acids and Yeast on Growth, Yield and Quality of Two Cultivars of Onion Plants under Newly Reclaimed Soil. *J. Agric. Sci.* 4, 26–39. <https://doi.org/10.5539/jas.v4n11p26>
  13. Ghosh M., Bandyopadhyay M., Mukherjee A. 2010. Genotoxicity of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles at two trophic levels: Plant and human lymphocytes. *Chemosphere*, 81: 1253–1262.
  14. Główny Urząd Statystyczny, 2020. Analizy statystyczne: Rolnictwo w 2019 r. Warszawa
  15. Gołębiewska B., Pajewski T. 2017. Negatywne skutki produkcji rolniczej i możliwości ich ograniczania. *Rocz.* 2016, 76–81. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.257449>
  16. Guerrero R.F., Liazd A., Palma M., Puertas B., Gonzalez-Barrio R., Gil-Izquierdo A., Cantos-Villar E. 2009. Phenolic characterisation of red grapes autochthonous to Andalusia. *Food Chem.* 112, 949-955. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.07.014
  17. Haselgrove L., Botting D., Heeswijck R., Høj P.B., Dry P.R., Ford C., Land P.G.I. 2000. Canopy microclimate and berry composition: The effect of bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L cv. Shiraz grape berries. *Aust. J. Grape Wine Res.* 6, 141-149. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2000.tb00173.x
  18. Hu C., Qi Y. 2013. Long-term effective microorganisms application promote growth and increase yields and nutrition of wheat in China. *Eur. J. Agron.* 46, 63–67. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.12.003>
  19. Grajkowski J., Ochmian I. 2007. Influence of three biostimulants on yielding and fruit quality of three primocane raspberry cultivars. *Acta. Sci. Pol. Hortorum Cult.* 6, 29–36.
  20. Higa T., Parr J.F. 1994. Beneficial and Effective Microorganisms for a Sustainable Agriculture and Environment. International Nature Farming Research Center, Atami, Japan. 16 pp.
  21. Higa T. 2004. Effective microorganisms – a new dimension for nature farming. In: Parr J.F., Hornick S.B., Simpson M.E. (Ed.), Proceedings of the 2nd International Nature Farming Conference. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC, USA: 20–22.



22. Hrubý M., Cígler P., and Kuzel S. 2002. Contribution to understanding the mechanism of Titanium action in plant. *J. Plant Nutr.* 25, 577–598. doi: 10.1081/PLN-120003383
23. Hui-lian X. 2000. Effects of a microbial inoculant and organic fertilizers on the growth, photosynthesis and yield of sweet corn. *J. of Crop Prod.* 3/1, s. 183-214.
24. In-Ho H., Ji-Hwan K. 2012. Study on Plant Growth Hormones. <http://www.futuretechtoday.com/em/study.htm>
25. Iriti M., Scarafoni A., Pierce S., Castorina G., Vitalini S. 2019. Soil application of effective microorganisms (EM) maintains leaf photosynthetic efficiency, increases seed yield and quality traits of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown on different substrates. *Int. J. Mol. Sci.* 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20092327>
26. Islam M. M., Hoque M. A., Okuma E., Banu M. N. A., Shimoishi Y., Nakamura Y., Murata Y. 2009. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells. *Journal of Plant Physiology*, 166, 1587-1597.
27. Janas, R. 2009. Możliwości wykorzystania efektywnych mikroorganizmów w ekologicznych systemach produkcji roślin uprawnych. *Problemy Inżynierii Rolniczej*, nr 3, s. 111–119.
28. Janas R., Grzesik M. 2005. Zastosowanie środków biologicznych do poprawy jakości nasion roślin ogrodniczych. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin*, 45(2): 739-741.
29. Janas R., Grzesik M. 2006. Efektywność biologicznych metod ochrony w uprawach nasiennych roślin leczniczych i ozdobnych. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin*, 46(2): 727-731.
30. Kalaji M.H., Łoboda T. 2010. Fluorescencja chlorofilu w badaniach stanu fizjologicznego roślin. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
31. Kuzel S., Hruby M., Cigler P., Tlustos P., Nguyen Van P. 2003. Mechanism of physiological effects of Titanium leaf sprays on plants grown on soil. *Biological Trace Element Research*. Vol. 91, pp. 179 – 189
32. Langner K., Andruszewska A., Byczyńska M. 2003. Wpływ efektywnych mikroorganizmów na zahamowanie występowania fuzariozy na lnieniu włóknistym. XXXVIII Międzynarodowe Sympozjum Mikrobiologiczne pt. Efektywne Mikroorganizmy (EM) w rolnictwie zrównoważonym i ochronie środowiska. SGGW Rogów k/Łodzi. Streszczenia: 64-65.

33. Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*. Portland Press, 11(5), pp. 591–592. doi: 10.1042/bst0110591.
34. Lisiecka J., Knaflowski M., Spizewski T., Frąszczak B., Kałużewicz A., Krzesiński W. 2011. Wpływ hydrolizatu białka zwierzęcego na liczbę i jakość sadzonek truskawki odmiany ‘Elsanta’. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* 10(1): 31–40.
35. Małuszyńska E., Szydłowska A., Martyniak D., Dziamba S., Dziamba J. 2012. Wpływ preparatów zawierających efektywne mikroorganizmy na zdolność kiełkowania nasion z upraw ekologicznych. *Biul. IHAR*, 263:33-42.
36. Mayer J., Scheid S., Widmer F., Fließbach A., Oberholzer H.R. 2010. How effective are ‘Effective microorganisms® (EM)’? Results from a field study in temperate climate. *Applied Soil Ecology* Vol. 46, 2: 230-239
37. Michalski P. 2008. The effect of Tytanit® on the yield structure and the fruit size of strawberry ‘Senga Sengana’ and ‘Elsanta’ cv. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Lublin – Polonia*, LXIII: 109 –118.
38. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi 2019. Rolnictwo i gospodarka żywnościowa w Polsce. Praca zbiorowa pod red. Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej. Warszawa.
39. Moaveni P., Aliabadi Farahani H., Maroufi K. 2011. Effect of nanoparticles TiO<sub>2</sub> spraying on different parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Advances in Environmental Biology*. 2011;5(8), pp. 2217-2219.
40. Mrugalska L., Owczarzak W., Kaczmarek Z. 2009. Wpływ Efektywnych mikroorganizmów na kształtowanie struktury gleb w doświadczeniu inkubacyjnym. *J. Res. Appl. Agric. Engng.*, 54(4): 26-32.
41. Ncube L., Minkeni P.N.S., Brutsch, O. 2011. Agronomic suitability of effective microorganisms for tomato production. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 650–654.
42. Okorski A., Majchrzak B. 2008. Grzyby zasiedlające nasiona grochu siewnego po zastosowaniu preparatu mikrobiologicznego EM 1. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin*, 48(4): 1314–1318.
43. Pellet H., Fribourg C. 1905. Titanium. *Ann. Sci. Agron. Ser.* 10, 20–84.
44. Pantelić M.M., Dabić-Zagorac D., Davidović S.M., Todić S.R., Bešlić Z.S., Gašić U.M., Natić M.M. 2016. Identification and quantification of phenolic compounds in

- berry skin, pulp, and seeds in 13 grapevine varieties grown in Serbia. *Food Chem.* 211, 243-252. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.05.051
45. Prisa, D. 2019a. Improvement Quality and Content of Pepper and Chilli Nitrates Influenced by the Effective Microorganisms. *Am. Sci. Res. J. Eng.* 176–181.
  46. Prisa, D. 2019b. Effective microorganisms for the cultivation and qualitative improvement of onion (*Allium cepa* L.). *World J. Adv. Res. Rev.* 2581–9615. <https://doi.org/https://doi.org/10.30574/wjarr.2019.2.3.0038>
  47. Priyadi K., Hadi A., Siagian T.H., Nisa C., Azizah A., Raihani., Inubushi K. 2005. Effect of soil type, applications of chicken manure and Effective Microorganisms on corn yield and microbial properties of acidic wetland soils in Indonesia. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 51(5): 689-691.
  48. Samadi N. 2014. Effect of TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> nanoparticle on germination, root and shoot length and photosynthetic pigments of *Mentha piperita*. *International Journal of Plant & Soil Science*, 3(4), pp. 408–418. doi: 10.9734/ijpss/2014/7641.
  49. Samadi N., Yahyaabadi S., Rezayatmand Z. 2015. Stress effects of TiO<sub>2</sub> and NP-TiO<sub>2</sub> on catalase enzyme and some physiological characteristics of *Melissa officinalis* L. *European Journal of Medicinal Plants*, 9(1), pp. 1–11. doi:10.9734/ejmp/2015/18055.
  50. Sapek A., Sapek B. 1997. *Methods of chemical analysis of organic soils*. Raszyn, The Institute for Land Reclamation and Grassland Farming Press.
  51. Sas Paszt L., Malusá E., Grzyb Z., Rozpara E., Wawrzyńczak P., Rutkowski K.P. i in. 2010. Środowiskowe i zdrowotne znaczenie ekologicznej produkcji owoców. *Postępy Nauk Rolniczych* 62(1): 109–121.
  52. Sas Paszt L., Malusá E., Sumorok B., Canfora L., Derkowska E., Głuszek S. 2015. The influence of bioproducts on mycorrhizal occurrence and diversity in the rhizosphere of strawberry plants under controlled conditions. *Advances in Microbiology* 5: 40–53. doi:10.4236/aim.2015.51005.
  53. Schneider Z. 2005. Wnioski wynikające z odkrycia, że Efektywne Mikroorganizmy (bądź część szczepów spośród kilkudziesięciu) tworzą dwuwarstwowe kapsuły żelowe. Referat, (mscr).
  54. Simon L., Balogh A., Hajdu F., Pais I. 1988. “Effect of titanium on growth and photosynthetic pigment composition of *Chlorella pyrenoidosa* (Green Alga). II. Effect of titanium ascorbate on pigment content and chlorophyll metabolism of *Chlorella*,” in *New Results in the Research of Hardly Known Trace Elements and*

- Their Role in the Food Chain, ed I. Pais (Budapest: University of Horticultural and Food Science), 87–101.
55. Shrivastava P., Kumar R.. 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), pp. 123–131. doi:10.1016/j.sjbs.2014.12.001.
  56. Sudhakar C., Lakshmi A., Giridarakumar S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 161, 613–619
  57. Skupień K., Oszmiański J. 2007. Influence of titanium treatment on antioxidants content and antioxidant activity of strawberries. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 6, 83–93.
  58. Starck Z., Chołuj D., Niemyska B. 1993. Fizjologiczne reakcje roślin na niekorzystne czynniki środowiska. Wyd. SGGW, Warszawa.
  59. Szewczuk C., Juszcak M. 2003. Impact of fertilizers and stimulants on bean seed yield. *Acta Agrophysica*, 85: 203–208.
  60. Talaat, N.B. 2015. Effective microorganisms modify protein and polyamine pools in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown under saline conditions. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 190, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.04.005>
  61. Verbruggen N., Hermans C. 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35 (4), 753 -759.
  62. Wielgusz K., Weber Z., Andruszewska A. 2009. Wpływ biologicznej ochrony lnu oleistego na ograniczenie występowania fuzariozy i jakość plonu. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin*, 49(4): 1999-2002.
  63. Yamasaki S., Dillenburg L.R. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Rev. Bras. Fisiol. Vegetal.* 11(2), pp: 69–75.
  64. Zarzyńska K., Goliszewski W. 2011. Rola wybranych zabiegów agrotechnicznych w kształtowaniu wielkości i struktury plonów ziemniaków uprawianych w systemie ekologicznym. *Ziem. Pol.*, 3:1-5.

**KOPIE ARTYKUŁÓW STANOWIĄCYCH JEDNOTEMATYCZNY  
CYKL PUBLIKACJI I OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW**