

**SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE**  
**z realizacji zadania na rzecz rolnictwa ekologicznego w 2017 roku**

**A. INFORMACJE OGÓLNE**

|                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tytuł zadania <b>Wpływ biopreparatów na plonowanie, zdrowotność i jakość surowców pozyskiwanych z roślin gryki (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) oraz na żyzność i aktywność biologiczną gleby</b>                                                                |
| Numer zadania 7104 (na podstawie § 8ust. 1, ust. 2, pkt 1 i ust. 10 rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. poz. 1170)) |
| Planowany okres realizacji zadania <b>6 miesięcy (rok 2017)</b>                                                                                                                                                                                                      |
| Planowane nakłady w zł <b>180 919</b>                                                                                                                                                                                                                                |

**B. DANE WNIOSKODAWCY**

|                                                                                                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Imię i nazwisko osoby reprezentującej jednostkę badawczą, tytuł lub stopień naukowy, stanowisko, nazwa i adres jednostki badawczej, telefon, fax) |
| <b>Florian Gambuś, prof. dr hab. inż.</b>                                                                                                         |
| <b>Prorektor ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą</b>                                                                                               |
| <b>Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie</b>                                                                                           |
| <b>Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków</b>                                                                                                          |
| <b>Tel. 12 662 42 59, fax: 12 633 62 45, e-mail: recsci@ur.krakow.pl</b>                                                                          |

**C. INFORMACJA O WYKONAWCACH**

1. Zespół badawczy

|                                 |                         |                                                     |
|---------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------|
| Kierownik zadania               |                         |                                                     |
| Imię i nazwisko                 | Stopień i tytuł naukowy | Miejsce zatrudnienia                                |
| <b>Robert Witkowicz</b>         | <b>Dr hab. inż.</b>     | <b>Uniwersytet Rolniczy w Krakowie</b>              |
| Wykonawcy zadania               |                         |                                                     |
| Imię i nazwisko                 | Stopień i tytuł naukowy | Miejsce zatrudnienia                                |
| <b>Katarzyna Gleń-Karolczyk</b> | <b>Dr inż.</b>          | <b>Uniwersytet Rolniczy w Krakowie</b>              |
| <b>Jacek Antonkiewicz</b>       | <b>Dr hab. inż.</b>     | <b>Uniwersytet Rolniczy w Krakowie</b>              |
| <b>Wioletta Biel</b>            | <b>Dr hab. inż.</b>     | <b>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny</b> |
| <b>Joanna Chlopicka</b>         | <b>Dr n. farm.</b>      | <b>Uniwersytet Jagielloński</b>                     |
| <b>Agnieszka Galanty</b>        | <b>Dr n. farm.</b>      | <b>Uniwersytet Jagielloński</b>                     |
| <b>Edyta Skrzypek</b>           | <b>Dr hab. inż.</b>     | <b>Instytut Fizjologii Roślin PAN</b>               |
| <b>Mateusz Krupa</b>            | <b>Mgr inż.</b>         | <b>Studium Doktoranckie UR w Krakowie</b>           |

2. Kierownik zadania (imię, nazwisko, tytuł lub stopień naukowy, adres do korespondencji, telefon bezpośredni i do sekretariatu jednostki organizacyjnej zatrudniającej kierownika zadania, e-mail kierownika; telefon do oraz dane osoby, z którą można się kontaktować w razie nieobecności kierownika zadania)

**Robert Witkowicz, dr hab. inż.,**  
**Instytut Produkcji Roślinnej,**  
**Zakład Szczegółowej Uprawy Roślin,**  
**Wydział Rolniczo-Ekonomiczny,**  
**Uniwersytet Rolniczy w Krakowie,**  
**Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków**  
**Tel.: (12) 662 43 85 (bezpośredni), (12) 662 43 82 (sekretariat)**  
**e-mail: [r.witkowicz@ur.krakow.pl](mailto:r.witkowicz@ur.krakow.pl)**

## D. OPIS ZADANIA

### Cele podzadań

| Lp. | Temat podzadania i cel (zgodnie ze szczegółowym opisem podzadania)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Czy cel został zrealizowany (tak/nie <sup>1</sup> /częściowo <sup>1</sup> ) |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | <p>Wykorzystanie biopreparatów do ochrony czystości mikrobiologicznej kielków gryki.</p> <p>Cel:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Uszeregowanie biopreparatów wg siły oddziaływania na dynamikę procesu kiełkowania przy hipotezie badawczej zakładającej ich zróżnicowany wpływ na ten proces.</li> <li>2. Uszeregowanie biopreparatów według siły oddziaływania na zdrowotność kielków przy hipotezie badawczej zakładającej ich odmienny, supresyjny wpływ na rozwój drobnoustrojów.</li> <li>3. Ocena wpływu biopreparatów na skład chemiczny kielków przy hipotezie zakładającej ich odmienny wpływ na rozwój siewek oraz zdrowotność surowca.</li> </ol>                                                                                                                                                                                                                            | <p>Tak</p> <p>Tak</p> <p>Tak</p>                                            |
| 2.  | <p>Zwiększenie polowej zdolności wschodów gryki oraz zdrowotności siewek.</p> <p>Cel:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Uszeregowanie biopreparatów według siły oddziaływania na polową zdolność wschodów przy hipotezie badawczej zakładającej ich zróżnicowany wpływ na ten proces.</li> <li>2. Uszeregowanie biopreparatów według skuteczności ochrony siewek przed patogenami powodującymi zgorzele i zgnilizny w warunkach polowych przy hipotezie badawczej zakładającej ich odmienny, supresyjny wpływ na rozwój drobnoustrojów.</li> <li>3. Ocena wpływu biopreparatów na budowę morfologiczną siewek przy hipotezie zakładającej ten wpływ z powodu ich odmiennego działania.</li> </ol>                                                                                                                                                                                          | <p>Tak</p> <p>Tak</p> <p>Tak</p>                                            |
| 3.  | <p>Poprawa dynamiki rozwoju roślin gryki oraz poprawa jakości surowców (liści i orzeszków).</p> <p>Cel:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Uszeregowanie biopreparatów według siły oddziaływania na dynamikę rozwoju łanu gryki przy hipotezie badawczej zakładającej ich zróżnicowany wpływ.</li> <li>2. Uszeregowanie biopreparatów według siły oddziaływania na dynamikę procesu fotosyntezy oraz fluorescencję chlorofilu przy hipotezie badawczej zakładającej ich zróżnicowany wpływ na te procesy.</li> <li>3. Uszeregowanie biopreparatów według skuteczności oddziaływania na zdrowotność łanu przy hipotezie badawczej zakładającej ich odmienny, supresyjny wpływ na rozwój drobnoustrojów.</li> <li>4. Ocena wpływu biopreparatów na skład chemiczny liści i orzeszków gryki przy hipotezie zakładającej ich odmienny wpływ na rozwój łanu oraz zdrowotność surowca.</li> </ol> | <p>Tak</p> <p>Tak</p> <p>Tak</p> <p>Tak</p>                                 |

<sup>1</sup> Jeśli dotyczy – proszę opisać pod tabelą, w jakim stopniu cel został osiągnięty i podać przyczyny

Cele podzadań cd.

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 4. | Zwiększenie żyzności i aktywności mikrobiologicznej gleby.<br>Cel:                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                |
|    | 1. Uszeregowanie biopreparatów pod względem poprawy właściwości fizyko-chemicznych gleby przy hipotezie badawczej zakładającej ich zróżnicowany wpływ na te właściwości.<br>2. Uszeregowanie biopreparatów pod względem podniesienia właściwości biologicznych gleby przy hipotezie badawczej zakładającej ich zróżnicowany wpływ na aktywność enzymatyczną gleby. | Tak<br><br>Tak |

## E. Harmonogram realizacji zadania

Harmonogram realizacji zadania należy sporządzić w tabeli, dla każdego z planowanych tematów badawczych. Proszę podać koszty realizacji poszczególnych tematów badawczych.

| Lp.   | Nazwa tematu badawczego                                                                 | Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania | Przewidywane koszty realizacji tematu badawczego |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1     | Wykorzystanie biopreparatów do ochrony czystości mikrobiologicznej kielków gryki        | 1/3                                                                                                          | 41 719                                           |
| 2     | Zwiększenie polowej zdolności wschodów gryki oraz zdrowotności siewek                   | 1/3                                                                                                          | 19 652                                           |
| 3     | Poprawa dynamiki rozwoju roślin gryki oraz poprawa jakości surowców (ziela i orzeszków) | 1/6                                                                                                          | 99 793                                           |
| 4     | Zwiększenie żyzności i aktywności mikrobiologicznej gleby                               | 1/6                                                                                                          | 19 755                                           |
| Razem |                                                                                         |                                                                                                              | 180 919                                          |

Proszę wyróżnić etapy (tematy badawcze), określić czas ich trwania w miesiącach od rozpoczęcia projektu i przewidywane koszty. Terminy realizacji tematów badawczych mogą się zalegać. Suma kosztów tematów badawczych musi być równa całkowitemu kosztowi zadania.

UWAGA: Nie są tematami badawczymi czynności techniczne służące wykonaniu zadania np. zakup materiałów, utrzymanie roślin w szklarni, opracowanie statystyczne wyników, opracowanie raportów i sprawozdań.



Opis tematów badawczych *(należy sporządzić opis dla tematów badawczych wymienionych w tabeli powyżej; kolejność zgodnie z tabelą powyżej)*

## **PODZADANIE 1. Wykorzystanie biopreparatów do ochrony czystości mikrobiologicznej kielków gryki**

**Cele szczegółowe podzadania pierwszego zrealizowane zostały w oparciu o następujące działania:**

1. Określenie zdolności kiełkowania orzeszków. Wigor oznaczono będzie na próbkach nasion w kiełkownikach (100 szt. dla każdego wariantu) metodą elektroprzewodnictwa (metoda konduktometryczna).
2. Określenie zdrowotności kielków i korzeni (BBCH 09), wskazanie procentowego udziału korzeni i kielków z wyraźnymi objawami zgnilizn i zgorzeli siewek. Izolacja bezpośrednia i pośrednia patogenów z porażonych kielków gryki, wyprowadzanie czystych kultur grzybów oraz ich molekularna identyfikacja.
3. W kielkach gryki oznaczony zostanie: podstawowy skład chemiczny (sucha masa, białko ogółem, białko właściwe, włókno surowe, ekstrakt eterowy, popiół surowy, węglowodany ogółem), frakcji nierozpuszczalnej i rozpuszczalnej włókna pokarmowego, fosfor, potas, wapń, sód, magnez, cynk, żelazo, miedź, molibden, mangan, ołów, kadm i nikiel, kwasy organiczne, flawonoidy, polifenole, antocyjany, aktywność antyoksydacyjna metodą FRAP, DPPH, polifenole (TPC) oraz aktywność antyoksydacyjna (PCL) frakcji hydrofilowej (ACW) i lipofilowej (ACL).

### **Oczekiwane rezultaty to:**

1. Wskazanie najlepszego biopreparatu do zaprawiania orzeszków gryki w kontekście regulowania zdolności i dynamiki ich kiełkowania.
2. Określenie bezpieczeństwa mikrobiologicznego i jakości kielków gryki.

### **Oczekiwane efekty to:**

1. Szybsze i bardziej wyrównane wschody gryki, skutkujące bardziej dynamicznym rozwojem łanu i w konsekwencji wzrostem plonu surowców.
2. Poszerzenie palety ekologicznych produktów spożywczych o kielki gryczane.

### **Materiał i metody**

Eksperyment laboratoryjny przeprowadzono w Instytucie Produkcji Roślinnej w dwóch powtórzeniach. Poziomami pierwszego czynnika doświadczalnego były odmiany gryki: Kora

i Panda, a poziomami czynnika drugiego były biostymulatory i biopreparaty (biologiczne środki ochrony roślin) stosowane jako zaprawy nasienne. Zastosowano następujące preparaty:

a) Biostymulatory:

1. Kelpak SL (auksyny – 11,0 mg/L i cytokininy – 0,031 mg/L pozyskane z alg *Ecklonia maxima*),
2. Asahi SL (nitrofenole naturalnie występujące w roślinach – orto-nitrofenol sodu, para-nitrofenol sodu, 5 nitroguajakol).

b) Biologiczne środki ochrony roślin:

1. Polyversum WP ( $10^6$  oospor grzyba *Pythium oligandrum* w 1 gramie środka),
2. Serenade ASO (*Bacillus subtilis* szczep QST 713 – 13,96 g/L, minimalne stężenie  $1,042 \times 10^{12}$  CFU/L).

c) Użyźniacze gleby:

1. UG Max.
2. Biogen Revital Max Pro.

W poniższej tabeli (Tabela 1) przedstawiono kombinacje preparatów wykorzystanych do zaprawiania nasion gryki odmiany Kora.

Tabela 1. Kombinacje środków biotechnicznych (biostymulatorów) i środków biologicznych (preparatów biologicznych) wykorzystane do zaprawiania nasion

| Oznaczenie kombinacji | Kombinacja biostymulatora i biopreparatu |
|-----------------------|------------------------------------------|
| I                     | Polyversum WP + Biogen Revital           |
| II                    | Kelpak SL + UG Max                       |
| III                   | Asahi SL + UG Max                        |
| IV                    | Asahi SL + Biogen Revital                |
| V                     | Kelpak SL + Biogen Revital               |
| VI                    | Serenade ASO + UG Max                    |
| VII                   | Serenade ASO + Biogen Revital            |
| VIII                  | Polyversum WP + UG Max                   |
| IX                    | Biogen Revital                           |
| X                     | UG Max                                   |
| XI                    | Kontrola                                 |

Zaprawianie polegało na moczeniu nasion przez 30 minut w roztworach biopreparatów w stężeniach zalecanych przez producenta. Następnie nasiona po namoczeniu przepłukano wodą destylowaną i umieszczono w zlewkach z 200 ml wody destylowanej o temperaturze 20 °C na 72 h. Pomiaru elektroprzewodnictwa dokonywano po 24 h, 48 h, 72 h. Elektroprzewodnictwo mierzono konduktometrem Elmetron CC-317 zgodnie z metodyką ISTA (Hampton, TeKronej, 1995).

Wyniki poddano analizie wariancji w programie Statistica 12.5. Do powołania grup jednorodnych wykorzystano test Newmana–Keulsa przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$ .

W doświadczeniu *in vitro* po 10 dniach od wysiania zaprawionych orzeszków gryki (BBCH 09) oceniono zdrowotność kielków (korzeni i liścieni). Określono procentowy udział korzeni i liścieni z wyraźnymi objawami zgnilizn i zgorzeli.

W eksperymencie polowym w fazie BBCH (10-19) oceniono udział siewek z objawami zgorzeli siewek, a w pełni kwitnienia (BBCH 60-69) na 25 roślinach losowo wybranych z poletka dokonano oceny stanu zdrowotnego gryki (liści, korzeni i podstawy łodyg). Występowanie poszczególnych chorób grzybowych wyrażono procentowym udziałem. Analizowano występowanie następujących chorób: mączniaka rzekomego (*Peronospora ducometi*), szarej pleśni (*Botrytis cinerea*), plamistości liści i podstawy łodyg (*Alternaria* spp., *Bipolaris sorokiniana*, *Phyllosticta polygonarum* i inne), zgnilizny korzeniowej (*Fusarium* spp. i inne gatunki grzybów).

W laboratorium Katedry Ochrony Środowiska Rolniczego przeprowadzono izolację i częściową identyfikację grzybów zasiedlających porażone organy gryki: kielki (korzenie i liścienie), liście, korzenie, orzeszki. Laboratoryjną ocenę mikologiczną gryki wykonano bezpośrednio po przeprowadzonej obserwacji zdrowotności. Do laboratorium przewożono pobrany porażony materiał roślinny, który oczyszczono powierzchniowo pod bieżącą wodą.

Kielki w liczbie 15 dla każdej kombinacji cięto uzyskując po 150 fragmentów (liścieni i korzonków), po odkażeniu przez 30 sekund w 50% alkoholu etylowym i trzykrotnym opłukaniu w sterylnej wodzie destylowanej wyłożono na podłoże PDA (Potato Dextrose Agar). Podobnie postępowano z porażonymi korzeniami i liśćmi. Natomiast ocenę zbiorowisk grzybów zasiedlających orzeszki gryki wykonano na 200 sztukach orzeszków zebranych w fazie dojrzałości pełnej i losowo pobranych z każdej kombinacji. Nasiona podobnie jak inne fragmenty gryki dezynfekowano powierzchniowo, opłukiwano w sterylnej wodzie destylowanej, osuszano na jałowej bibule i wykładano na zestalone podłoże PDA.

Hodowlę grzybów prowadzono w komorze klimatyzacyjnej przez 10 dni w temperaturze 23°C i przy 12 godzinnyim cyklu oświetlenia. Pojawiające się kolonie grzybów sukcesywnie odszczepiano na skosy agarowe. Następnie dokonano obserwacji makro- i mikroskopowych na podstawie których identyfikowano grzyby do gatunku posługując się kluczami mykologicznymi i opracowaniami monograficznymi Pidopliczko, 1978; Domsch et al., 1980; Cook, 1981; Nelson et al., 1983; Ellis i Ellis 1978, Kwaśna, 1991; Marcinkowska, 2003 oraz innych.

Izolaty grzybów identyfikowano również metodą spektroskopii masowej (MALDI TOF MS) z użyciem desorpcji/ionizacji laserowej wspomaganej matrycą z analizatorem czasu przelotu w Laboratorium Diagnostyki Mikrobiologicznej Jagiellońskiego Centrum Innowacji.

W zbiorowiskach grzybów wyizolowanych z poszczególnych części gryki oceniono częstotliwość występowania poszczególnych gatunków grzybów i ich przynależność do grup frekwencji:

D5 – eudominanci (udział powyżej 10% ogółu wyosobnień),

D4 – dominanci (5,1-10%),

D3 – subdominanci (2,1-5,0%),

D2 – recedenci (1,1-2,0%),

D1 – subrecedenci (do 1,0%).

Wysuszone kielki gryki zmielono w młynku laboratoryjnym Knifetec 1095 (Foss Tecator, Szwecja). Podstawowy skład chemiczny oznaczono metodami standardowymi wg AOAC (2012). W celu oznaczenia suchej masy próby suszono w temperaturze 105 °C, do uzyskania stałej masy. Tłuszcz surowy oznaczono za pomocą eteru dietylowego metodą Soxhleta, popiół surowy – poprzez spalanie w piecu muflowym w temperaturze 580 °C przez 8 h, białko ogółem ( $N \times 6,25$ ) określono metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Büchi B-324, włókno surowe oznaczono na aparacie Ankom220 Fiber Analyzer (ANKOM Technology, Macedon New York, USA). Zawartość węglowodanów ogółem (TC, total carbohydrates) oszacowano z tzw. „różnicy” wg schematu: węglowodany ogółem = 100 – (woda + białko + tłuszcz + popiół surowy).

Zawartość frakcji włókna oznaczono zgodnie z metodą Van Soest’a i in. (1991). Metoda ta różnicuje skład włókna na frakcje: neutralnodetergentowe (NDF, neutral detergent fibre), kwaśnodetergentowe (ADF, acid detergent fibre), celulozy (CEL, cellulose), hemicelulozy (HCEL, hemicellulose) i ligniny (ADL, acid detergent lignin). Pomiary wykonywano w aparacie Ankom220. Włókno neutralnodetergentowe (NDF), odpowiadające sumie hemiceluloz, celulozy i ligniny, oznaczono przy użyciu siarczanu sodowo-laurylowego, zaś kwaśnodetergentowe (ADF), w którego skład wchodzi celuloza i lignina, używając bromek cetylo-trójmetylo-amoniowy. Zawartość ligniny (ADL) określono po hydrolizie próbki ADF w 72% kwasie siarkowym, natomiast hemicelulozy (HCEL) wyliczano z różnicy zawartości NDF i ADF, a celulozę (CEL) z różnicy między ADF i ADL.

Materiał do analiz makroelementów poddano mineralizacji w stężonych kwasach: siarkowym ( $H_2SO_4$ ) i nadchlorowym ( $HClO_4$ ). Materiał do oznaczenia koncentracji mikrośladników - mineralizacji w mieszaninie: kwasu azotowego ( $HNO_3$ ) i kwasu

nadchlorowego (HClO<sub>4</sub>). Zawartość fosforu oznaczono metodą kolorymetryczną za pomocą spektrofotometru Specol 11 (Carl Zeiss). Z wykorzystaniem atomizera AtomiciCE 3000 (Thermo Fisher Scientific) oznaczono zawartości: potasu, wapnia i sodu – metodą fotometryczną oraz magnezu, cynku, żelaza, miedzi, molibdenu, manganu, ołowiu, kadmu i niklu – metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej.

Metody ekstrakcji badanych próbek.

Do analizy FRAP, DPPH, TP, ACW, HPLC (profilu polifenoli, flawonoidów i antocyjanów) Odważki 1 g materiału zadano 30 ml destylowanego etanolu 95%, wstrząsano 2 godz. i pozostawiono do następnego dnia, po czym zamrożono w temp. -20 °C, a bezpośrednio przed analizą odwirowano.

Do analizy ACL.

Odważki 0.1 g materiału zadano 3 ml destylowanego heksanu (cz.d.a, POCh), mieszano 2 godz. i pozostawiono do następnego dnia, a przed analizą odwirowano.

Metodyka i aparatura zastosowana do oznaczania aktywności antyoksydacyjnej, całkowitej zawartości polifenoli, profilu związków o charakterze polifenoli (flawonoidy, antocyjany) i kwasów organicznych.

Analiza metodą FRAP, DPPH, TP.

Aparat: Mikropłytkowy czytnik spektrofotometryczny Synergy 2 (Biotek, USA). Płytki 96-pozycyjne.

Metoda FRAP: Adaptowana metoda kinetyczna wg. Benzie 1996, temp. 37 °C.

Metoda DPPH: Adaptowana metoda kinetyczna wg. Barton 2010, temp. 25°C).

Metoda TP: Adaptowana metoda z odczynnikiem Folin-Ciocalteu'a.

Analizy metodą PCL (ACW, ACL).

Aparat: analizator PhotoChem (Analytic-Jena AG, Germany).

ACW kits for PCL assay were obtained from Analytik Jena.

Metoda ACW.

Próbki: ekstrakty etanolowe, medium: woda dejonizowana (Millipore, USA).

Kalibracja: wzorzec kwasu askorbinowego, sygnał analityczny: inhibition.

Metoda ACL.

Próbki: ekstrakty heksanowe, medium: metanol destylowany (cz.d.a., POCh).

Kalibracja: wzorzec troloxu, sygnał analityczny: inhibition.

Metoda HPLC: oznaczanie profilu związków o charakterze polifenoli (flawonoidy i antocyjany) oraz oznaczanie wybranych kwasów organicznych (KO).

Analiza flawonoidów i antocyjanów metodą HPLC.

Analizę jakościową i ilościową flawonoidów i antocyjanów przeprowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC, z wykorzystaniem chromatografu cieczowego Dionex, z detektorem PDA 100 UV-VIS, pompą P 680, termostatem TCC 100, autosamplerem ASI 100 (program sterujący: CHROMELEON® 6.60). Analizę prowadzono w warunkach według Juestesena i wsp., na kolumnie Hypersil Gold C-18 (5µm, 250 x 4,6 mm: Thermo EC) i prekolumnie Hypersil Gold C-18 (5µm, 10 x 4 mm: Thermo EC), w temperaturze 20°C. Faza ruchoma składała się z 1% kwasu mrówkowego w wodzie (A) oraz acetonitrylu (B), w przepływie programowanym od 0 min A 95%, 52 min A 40%, przy prędkości 1 ml/min. Objętość pojedynczego nastrzyku wynosiła 20µl, czas całkowitej analizy jednej próbki wynosił 55 minut. Badane związki analizowano przy dwóch długościach fali: 254 nm, 285 nm.

Badane wyciągi pobrano strzykawką i przesączono przez sączi membranowe Titan 2 HPLC filtr – Nylon Membrane o średnicy porów 0,45 µm, bezpośrednio do fiolek. Uzyskane próbki analizowano w warunkach opisanych powyżej, z równoczesną analizą związków wzorcowych. Podczas analizy pod uwagę brano zarówno czasy retencji, jak i widma UV poszczególnych związków, w odniesieniu do substancji wzorcowych.

Użyte wzorce badanych związków:

fenolokwasy (kw. galusowy, kw. chlorogenowy, kw. kawowy, kw. izochlorogenowy, kw. hydrokawowy, kw. protokatechowy, kw. syringowy),

flawonoidy (robinina, rutozyd, hyperozyd, izokwercytryna, kwercytryna, mirycetyna, moryna, kwercetyna, apigenina, kemferol, fizetyna),

antocyjany (chlorek pelargonidyny, chlorek malwidyny).

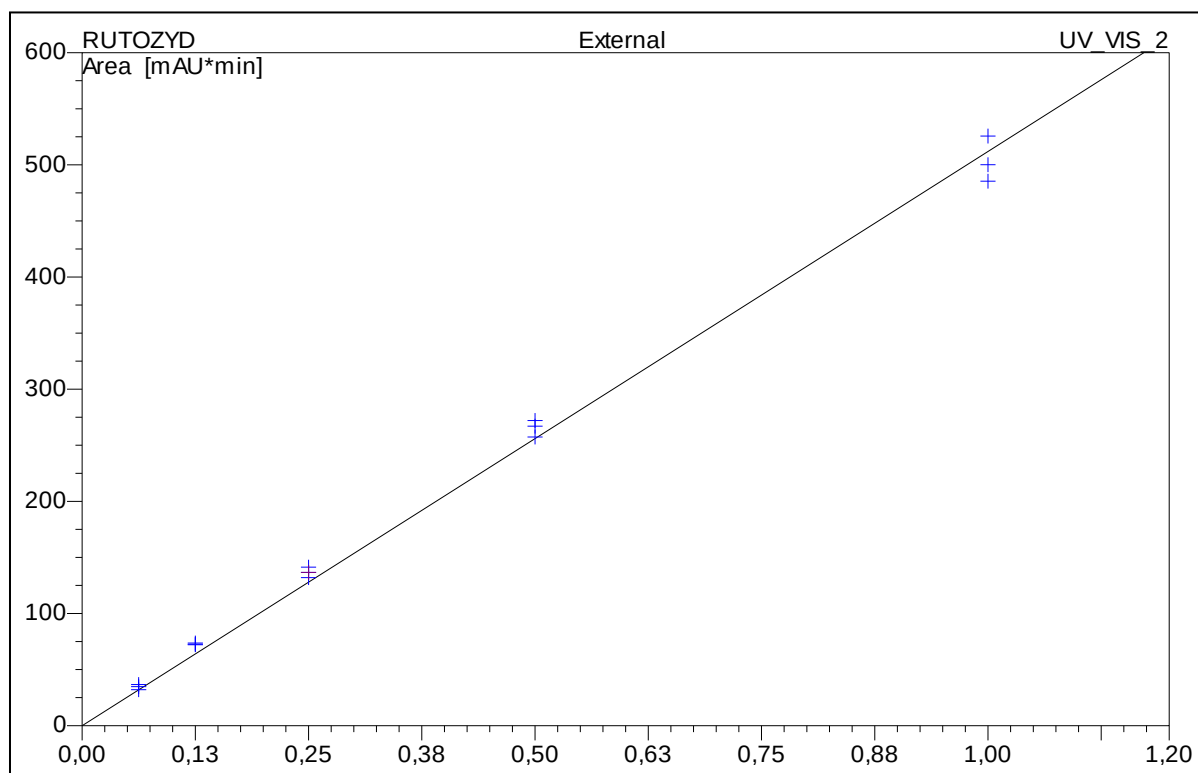
Krzywa wzorcowa – wykonanie.

Odważono 5 mg substancji wzorcowej, przeniesiono do kolbki miarowej i rozpuszczono w 5 ml metanolu czystości HPLC. Następnie sporządzono szereg rozcieńczeń z roztworu wyjściowego (o stężeniu 1 mg/ml), uzyskując następujące stężenia: 0.5, 0.25, 0.125 i 0.0625 mg/ml. Z przygotowanych rozcieńczeń pobrano strzykawką 1 ml otrzymanych roztworów i przesączono przez sączi membranowe Titan 2 HPLC filtr – Nylon Membrane o średnicy porów 0,45 µm, bezpośrednio do wialsów. Uzyskane próbki analizowano w warunkach opisanych powyżej. Każda próbka analizowana była trzykrotnie (Rysunek 1).

Analiza wyciągów:

Badane wyciągi pobrano strzykawką i przesączono przez sączi membranowe Titan 2 HPLC filtr – Nylon Membrane o średnicy porów 0,45 µm, bezpośrednio do fiolek. Uzyskane

próbki analizowano w warunkach opisanych powyżej, z równoczesną analizą związków wzorcowych. Każda próbka analizowana była dwukrotnie (6).



Rysunek 1. Krzywa wzorcowa dla rutozydu (współczynnik korelacji krzywej: 99, 8478%)

Analiza kwasów organicznych metodą HPLC.

Oznaczenie stężenia wybranych kwasów organicznych w badanych ekstraktach wykonano metodą HPLC przy użyciu aparatu SHIMADZU LC20 AD z detektorem DAD i kolumną P/No 00G4375-EO Desc: Synergi™ 4um Hydro-RP 80A, Size: LC Column 250x4,6 mm S/No H16-117880, B/No 5375-0084.

Do analizy wykorzystano ekstrakty etanolowe (1g badanej próbki, 30 ml rozpuszczalnika), które były wytrząsane przez dwie godziny w temperaturze pokojowej, następnie przelane do falkonów stożkowych 50ml i odwirowane w temperaturze 20 °C, czas 15 min., 5000 obrotów (wirnik horyzontalny). Następnie pobrano natant i zamrożono w temp. 20 °C, po ustabilizowaniu próbki w temperaturze pokojowej pobrano do eppendorfów 500 ml ekstraktu etanolowego i w ciągu 3 dni odparowano do sucha. Po całkowitym odparowaniu etanolu dodano do eppendorfa 1,5 ml wody MilliQ, nowo powstały ekstrakt był wytrząsany przez 2h i przefiltrowany przez filtry (FilterBio Ny Syrgine Filter, Material Nylon, Diameter: 13mm., Pore size: 0,22um, Lot: 20151107002).

Użyte wzorce wyjściowe:

1. Kwas winowy 10mg/ml, 0,1007g-10ml wody MilliQ, L-(+)Tartaric acide SIGMA – ALDRICH 251380-100G LOT#BCBP1276V.
2. Kwas glukonowy 10mg/ml, 0,1009g-10ml wody MilliQ, D-Gluconic acid sodium, SIGMA ALDRICHG9005-500 G, Lot#110M0214V.
3. Kwas cytrynowy 10mg/ml, 0,1007g-10ml wody MilliQ, Citric acid monohydrate pure p.a., CHEMPUR, Nr. Serii 09/01/21.
4. Kwas szczawiowy 10mg/ml, 0,100g-10ml wody MilliQ, Oxalic acid, SIGMA – ALDRICH , 75688-50G, LOT#BCBH8766V.
5. Kwas mlekowy 10mg/ml, 0,1009g-10ml wody MilliQ, Lactic acid, Polskie odczynniki chemiczne SA, Gliwice Nr Serii0213/03/04, Nr WE:209-954-4.
6. Kwas octowy 10mg/ml, 0,1009g-10ml wody MilliQ, Acetic acid, SIGMA-ALDRICH, A6283-500 ML, Lot# SZBE06-40V.

Wykorzystane stężenia wzorców kwasów organicznych do identyfikacji (100ul wzorca o stężeniu 10mg/ml - 9900ul wody) (Tabela 2).

Tabela 2. Stężenia wzorców kwasów organicznych

| Lp. | Wzorzec wyjściowy       | Stężenie  |
|-----|-------------------------|-----------|
| 1   | Kwas winowy 10mg/ml     | 100 ug/ml |
| 2   | Kwas mlekowy 10mg/ml    | 100 ug/ml |
| 3   | Kwas cytrynowy 10mg/ml  | 100 ug/ml |
| 4   | Kwas szczawiowy 10mg/ml | 100 ug/ml |
| 5   | Kwas octowy 10mg/ml     | 100 ug/ml |
| 6   | Kwas glukonowy 10mg/ml  | 100 ug/ml |

Faza ruchoma: Bufor 1,4ml kwas ortofosforowy 85%, Orto-Phosphoric acide 85%, ACS, ISO Phosphoric acide, Merc, 1.00573.10001ml dietyloamina, Diethylamine for synthesis, Merc, 8.03010.0100, 1l H<sub>2</sub>O MilliQ, 20ml acetonitryl, Acetonitrile, SIGMA-ALDRICH, 34851-2-5L. 1,4 ml kwas ortofosforowy, 1ml dietyloamina 1l H<sub>2</sub>O MilliQ, 1cz buforu bez acetonu + 3cz buforu z acetonem, 500ml+1500ml. Odgazowanie – 15min, temp. 20 °C.

## Wyniki i ich omówienie

Międzynarodowe Stowarzyszenie Badań Nasiennych (ISTA) zajmuje się opracowywaniem i standaryzacją metodologii oceny jakości materiału siewnego. Badania oparte na ocenie wigoru nasion dostarczają istotnych informacji na temat najlepszych warunków kiełkowania w celu pełnego wykorzystania potencjału nasion. Standardy



dotyczące oceny wigoru nasion roślin rolniczych, warzywnych, drzewostanowych, krzewiastych i kwiatowych ujmują zasady ISTA w zakresie badań na nasionach.

Wigor nasion jest przez ISTA definiowany jako ogół właściwości, który określa potencjalny poziom aktywności i wydajności materiału siewnego w okresie od kiełkowania do pojawienia się siewki. Wigor nasion w swoim zakresie opisuje procesy biochemiczne, reakcje zachodzące podczas kiełkowania, w tym przemiany enzymów i aktywność oddechową, szybkość i jednorodność kiełkowania nasion, wzrostu siewek, wschodzenia siewek i ich wzrostu w warunkach polowych oraz zdolność sadzonek do wzrostu w niekorzystnych warunkach środowiskowych. Czynniki mające wpływ na wigor nasion obejmują cechy genetyczne materiału siewnego, oddziaływanie środowiska i stan odżywienia rośliny macierzystej, stadium dojrzałości przy zbiorze, wielkość i ciężar nasion, integralność mechaniczną nasion, procesy starzenia się oraz wpływ patogenów na zdrowotność materiału siewnego.

Główną przyczyną niskiego wigoru nasion jest destabilizacja błon komórkowych. Wynika ona przede wszystkim z pogorszenia stanu nasion w okresie przechowywania oraz uszkodzeń mechanicznych. Ważną rolę w procesie destabilizacji błon komórkowych nasion odgrywają procesy peroksydacyjne, oksydacyjne oraz obecność wolnych rodników. W wyniku tych przemian następuje obniżenie żywotności nasion i wzrost przepuszczalności błon komórkowych, w efekcie czego obserwujemy wyciek elektrolitu i zwiększenie syntezy hormonów. Bezpośrednią przyczyną zmiany struktury błon komórkowych jest tworzenie się bardzo reaktywnych wolnych rodników. W rezultacie destrukcyjnego działania wolnych rodników w nasionach zachodzą procesy prowadzące do zmniejszenia lipidów nienasyconych (zwłaszcza fosfolipidów i diacylogliceroli). Zmniejszeniu ulega ilość lipidów, a w konsekwencji ich przemian i powstanie produktów wtórnych takich, jak dialdehyd malonowy. Związek ten destabilizuje struktury zarówno białek, jak i kwasów nukleinowych. Natomiast ogół tych zmian świadczy o zachodzeniu procesu starzenia się nasion.

Wartość elektroprzewodnictwa wód nastoinowych w miarę upływu czasu istotnie zwiększała się. Największe elektroprzewodnictwo stwierdzono po upływie 72 h od umieszczenia nasion w wodzie, a najmniejsze po upływie 24 h ( $11,74 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ). Najmniejszą wartością elektroprzewodnictwa wód nastoinowych charakteryzowało się siedem kombinacji tworzących grupę jednorodną. Warto podkreślić, że preparaty wchodzące w skład tej grupy to kombinacje preparatów Asahi SL i Serenade ASO z użyźniaczami glebowymi wraz z kontrolą. Natomiast najmniejszą wartość elektroprzewodnictwa wód nastoinowych zaobserwowano po zaprawieniu orzeszków gryki kombinacją preparatów Serenade ASO i

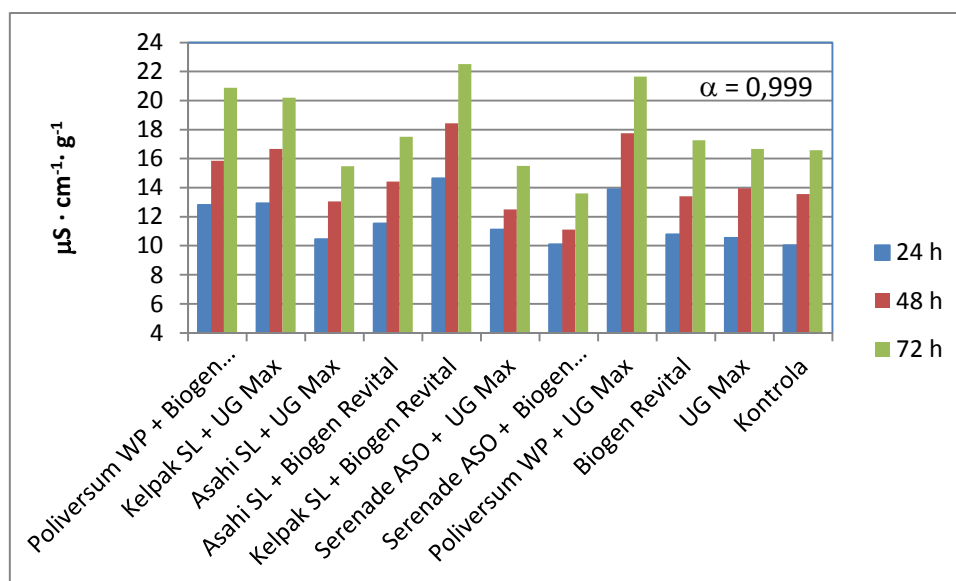
Biogen Revital Max Pro ( $11,60 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Pozostałe kombinacje współtworzyły kolejną grupę jednorodną o statystycznie wyższym wpływie eksudatów niż na obiekcie kontrolnym (Tabela 3).

Tabela 3. Kształtowanie się wartości elektroprzewodnictwa wód nastoinowych pod wpływem badanych czynników (czas odczytu, kombinacje biostymulatorów oraz preparatów biologicznych)

| Czynnik                                     | Elektroprzewodnictwo [ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ] |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Czas odczytu po upływie*                    |                                                                             |
| 24 h                                        | 11,74 a                                                                     |
| 48 h                                        | 14,63 b                                                                     |
| 72 h                                        | 18,01 c                                                                     |
| Kombinacje biostymulatorów i biopreparatów* |                                                                             |
| Polyversum WP + Biogen Revital              | 16,51 bcd                                                                   |
| Kelpak SL + UG Max                          | 16,59 bcd                                                                   |
| Asahi SL + UG Max                           | 13,00 ab                                                                    |
| Asahi SL + Biogen Revital                   | 14,49 abc                                                                   |
| Kelpak SL + Biogen Revital                  | 18,53 d                                                                     |
| Serenade ASO + UG Max                       | 13,03 ab                                                                    |
| Serenade ASO + Biogen Revital               | 11,60 a                                                                     |
| Polyversum WP + UG Max                      | 17,77 cd                                                                    |
| Biogen Revital                              | 13,82 ab                                                                    |
| UG Max                                      | 13,71 ab                                                                    |
| Kontrola                                    | 13,40 ab                                                                    |

\* – średnie obiektowe w obrębie czynnika badawczego oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

Interesującym spostrzeżeniem jest brak wyraźnego współoddziaływania kombinacji biostymulatorów i preparatów biologicznych z czasem odczytu na wartość elektroprzewodnictwa wód nastoinowych (Rysunek 2).



Rysunek 2. Kształtowanie się wartości elektroprzewodnictwa wód nastoinowych pod wpływem interakcji badanych czynników (czas odczytu x kombinacja biostymulatorów i preparatów biologicznych)

Zastosowane w doświadczeniu laboratoryjnym warianty zaprawiania orzeszków gryki odmiany Kora istotnie modyfikowały świeżą masę kiełków oraz nasilenie występowania zgnilizn i zgorzeli korzeniowych, a także ilość widocznych ognisk strzępek grzybów pleśniowych (oznak etiologicznych) (Tabela 4). Zaprawianie orzeszków biostymulatorem Asahi SL wraz z użyźniaczem glebowym UG Max sprzyjało wzrostowi świeżej masy kiełków, jednak w porównaniu z kontrolą nie były to różnice istotne. Z kolei w kombinacjach z użyciem: biopreparatu Serenade ASO łącznie z użyźniaczami glebowymi UG Max (IV) i Biogen Revital Max Pro (III), samego użyźniacza glebowego Biogen Revital Max Pro (IX) oraz jego łącznego zastosowania z biopreparatem Polyversum WP (I) stwierdzono istotny spadek świeżej masy kiełków (Tabela 4). W pozostałych kombinacjach parametr ten utrzymywał się na poziomie 15,26g - 20,21g nie różniącym się istotnie od kontroli (19,86g).

Tabela 4. Zdolność kiełkowania nasion oraz zdrowotność kiełków gryki w zależności od biopreparatów i biostymulatorów zastosowanych do zaprawiania nasion

| Biopreparatów i Biostymulatorów zastosowanych do zaprawiania nasion |                |                             |                          |                                            |                                  |                          |
|---------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| Czynnik                                                             |                | Świeża masa 100 kiełków [g] | Zdolność kiełkowania [%] | Porażenie kiełków                          |                                  |                          |
|                                                                     |                |                             |                          | Oznaki etiologiczne (strzępki grzybów) [%] | Zgnilizny i zgorzele korzeni [%] | Plamistości liścieni [%] |
| Kombinacje biostymulatorów i biopreparatów*                         |                |                             |                          |                                            |                                  |                          |
| Polyversum                                                          | Biogen Revital | 13,57ab                     | 65,6a                    | 23,81c                                     | 27,92a                           | 10,73a                   |
| Kelpak                                                              | UG Max         | 17,73abcd                   | 71,8a                    | 17,99bc                                    | 17,38ab                          | 9,17a                    |
| Asahi                                                               | UG Max         | 21,93d                      | 74,6a                    | 10,85ab                                    | 24,00ab                          | 13,16a                   |
| Asahi                                                               | Biogen Revital | 17,74abcd                   | 72,6a                    | 23,53c                                     | 15,01a                           | 9,17a                    |
| Kelpak                                                              | Biogen Revital | 20,21cd                     | 69,6a                    | 5,03a                                      | 14,03a                           | 5,01a                    |
| Serenade                                                            | UG Max         | 12,36a                      | 68,4a                    | 24,07c                                     | 18,29ab                          | 8,41a                    |
| Serenade                                                            | Biogen Revital | 13,45ab                     | 55,0a                    | 17,20bc                                    | 18,86ab                          | 12,72a                   |
| Polyversum                                                          | UG Max         | 19,23bcd                    | 71,0a                    | 17,99bc                                    | 22,60ab                          | 6,90a                    |
| Brak                                                                | Biogen Revital | 13,45ab                     | 66,4a                    | 21,43bc                                    | 18,42ab                          | 7,99a                    |
| Brak                                                                | UG Max         | 15,26abc                    | 74,0a                    | 21,69bc                                    | 16,41ab                          | 9,09a                    |
| Brak                                                                | Brak           | 19,86cd                     | 64,6a                    | 28,54c                                     | 21,51ab                          | 12,70a                   |

\* – średnie obiektowe w obrębie czynnika badawczego oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

Rodzaj zastosowanych do zaprawiania orzeszków gryki biopreparatów, biostymulatorów i użyźniaczy glebowych nie miał istotnego wpływu zarówno na zdolność kiełkowania jak i udział siewek z porażonymi liścieniami (Tabela 4). Jednakże zaprawianie orzeszków biopreparatem Serenade ASO na bazie bakterii *Bacillus subtilis* wraz z Biogenem Revital Max Pro (III) powodowało o 9,6% zmniejszenie zdolności kiełkowania. Z kolei w pozostałych obiektach stwierdzano stymulację w zakresie od 1% do 10%.

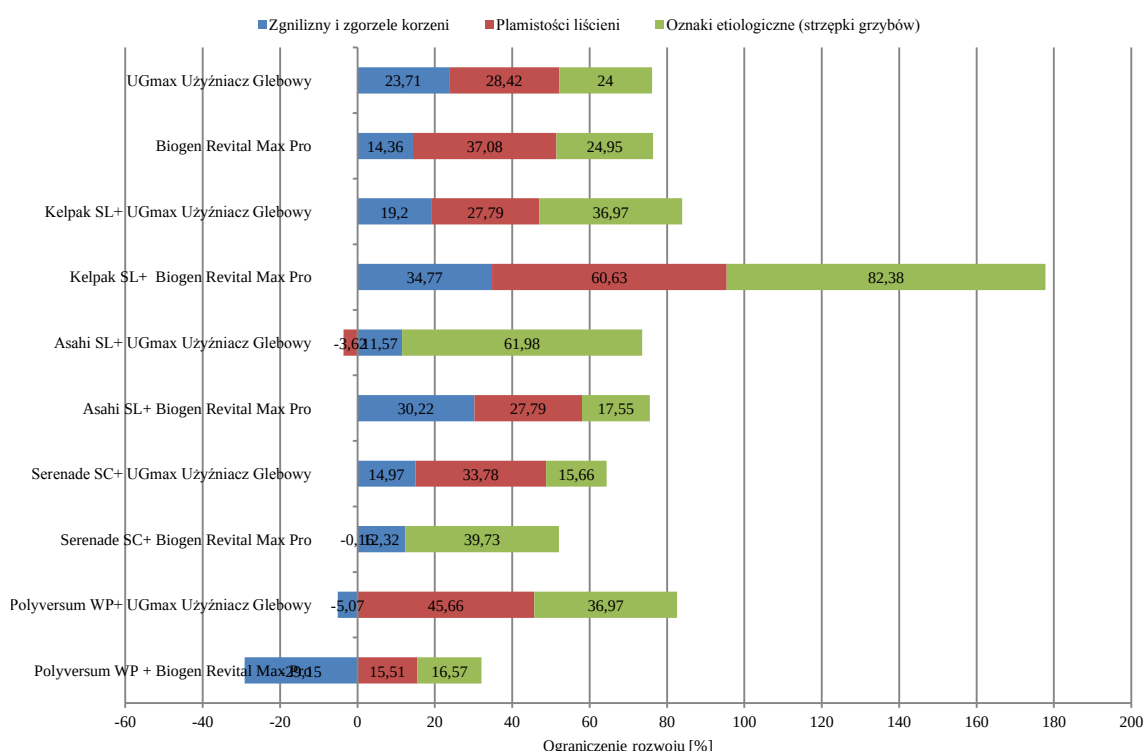
Liścienie siewek gryki w porównaniu z korzeniami były średnio z dwukrotnie mniejszą częstotliwością porażane przez grzyby (Tabela 4). Niezależnie od rodzaju użytych zapraw nasiennych nasilenie plamistości utrzymywało się średnio na poziomie 9,5%, a zgnilizn korzeniowych stwierdzano średnio 19,49%.

Analiza statystyczna wykazała istotny wpływ rodzaju użytych preparatów do zaprawiania nasion na ilość odnotowanych zmian zgorzelowych i zgnilizn na korzeniach (Tabela 4). Spośród analizowanych wariantów zaprawiania jedynie łączne stosowanie Polyversum WP z Biogen Rewital Max Pro istotnie stymulowało rozwój zgnilizn korzeni kiełków. Natomiast pozostałe kombinacje przyczyniły się do zmniejszenia odsetka korzeni porażonych, bądź zachowały go na podobnym poziomie jak w obiekcie kontrolnym.

W ocenie makroskopowej kiełków gryki w obiekcie z biostymulatorem Kelpak SL + Biogen Revital Max Pro odnotowano istotnie najmniejszy udział oznak etiologicznych w postaci mycelium grzybów niż w pozostałych kombinacjach (Tabela 4). Mimo iż analiza statystyczna

nie wykazała istotnego zróżnicowania pomiędzy pozostałymi obiektami to uzyskane wartości dla tej cechy wskazują, że wszystkie warianty zaprawiania ograniczały rozwój plechy grzybów na siewkach gryki.

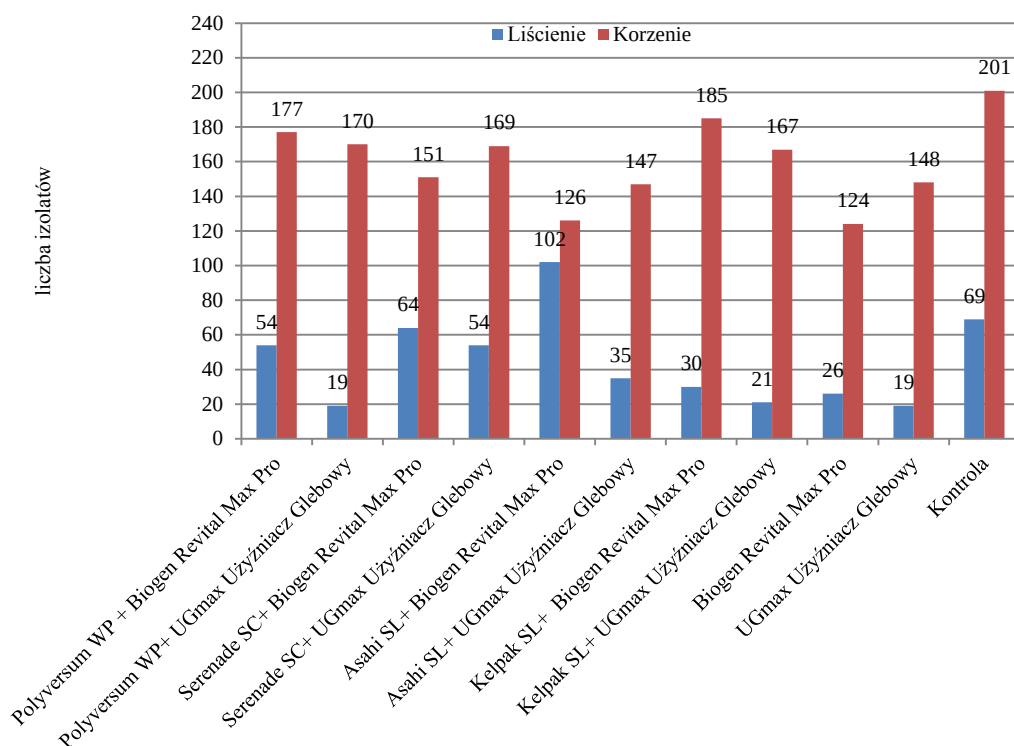
Na podstawie wyliczonych dla chorób kielków współczynników zahamowania ich rozwoju określono skuteczność zabiegów zaprawiania. Kielki pochodzące z obiektu, w którym do zaprawiania zastosowano biostymulator Kelpak SL na bazie auksyn i cytokinin z brunatnic oraz użyźniacz glebowy Biogen Revital Max Pro odznaczały się największą zdrowotnością. W porównaniu z kontrolą notowano ograniczenie występowania oznak etiologicznych o 82,38%, plamistości liści o 60,63% oraz zgorzeli i zgnilizny korzeniowych na poziomie 34,77% (Rysunek 3). Z kolei najslabsze właściwości ochronne wykazał preparat Polyversum WP stosowany łącznie z użyźniaczem glebowym Biogen Revital Max Pro. W kombinacji tej następował intensywniejszy o 29,15% rozwój zgnilizny korzeni siewek. Poza tym lekką 3,61% stymulację zgnilizny korzeni stwierdzono na obiekcie z Asahi SL + UG Max. W pozostałych kombinacjach zaprawiania nasion efekty ochronne były na porównywalnym poziomie.



Rysunek 3. Efektywność ochronna zastosowanych wariantów zaprawiania nasion

W wyniku analizy mikologicznej kiełków gryki (łącznie z korzeni i liścieni) uzyskano 2258 kolonii grzybów (Tabela 6). W ocenie laboratoryjnej na ogół stwierdzano większą ilość porażonych korzeni niż liścieni, co znalazło potwierdzenie w średnio ponad 3,5 krotnie większej ilości grzybów wyizolowanych z korzeni (Tabela 7, Tabela 8). Jednakże dysproporcje te jeszcze bardziej zaznaczały się w poszczególnych kombinacjach. Prawie dziewięciokrotnie większą liczebność izolatów z korzeni siewek niż z liścieni uzyskiwano z obiektu na którym odnotowano największy odsetek zgnilizn korzeni (Polyversum WP + Biogen Revital Max Pro) (Rysunek 4). Poza tym wyraźne, ponad sześciokrotne i siedmiokrotne zróżnicowanie stwierdzono w kombinacjach z preparatem Kelpak SL stosowanym łącznie z użyźniaczami glebowymi oraz w obecności samego UG Max.

Zaprawianie nasion preparatami biologicznymi, biostymulatorami oraz użyźniaczami modyfikowało liczebność uzyskanych izolatów grzybów zarówno wyosobnionych z liścieni jak i z korzeni gryki (Tabela 6 – Tabela 8, Rysunek 4). Najwięcej grzybów wyizolowano z kiełków obiektu kontrolnego (270) (Tabela 6). W pozostałych kombinacjach zaprawiania nasion notowano mniejszą liczebność grzybów, przy czym prawie dwukrotnie mniej izolatów (150) uzyskano z obiektu w którym do zaprawiania zastosowano Biogen Revital Max Pro (IX).



Rysunek 4. Liczebność izolatów grzybów wyosobnionych z kiełków gryki w zależności od zastosowanego wariantu zaprawiania nasion

Grzyby zasiedlające kielki gryki należały do 16 gatunków, które zaszeregowano do 6 rodzajów takich jak: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Phoma*, *Rhizopus* (Tabela 5). Niezależnie od wariantu zaprawiania, w ogólnej puli wyosobnionych z kielków gryki grzybów, z największą częstotliwością stwierdzano: *Alternaria alternata* 38,75% i *Fusarium chlamydosporum* 20,02%, które zaliczono do eudominantów. W randze dominantów wystąpiły gatunki *Phoma glomerata* (6,73%) i *Fusarium solani* (6,42%). Na ogół społeczność grzybów wyizolowanych z kielków gryki w 45,16% rekrutowała się z 8 gatunków patogenicznych należących do rodzaju *Fusarium*. Poza wcześniej wymienionymi przedstawicielami tego rodzaju, gatunki takie jak: *F. proliferatum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. culmorum* pod względem frekwencji zaliczono do subdominantów o łącznym udziale 17,08%, a *F. incarnatum* i *F. sporotrichoides* do subrecedentów (1,68%). Z kolei środowisko saprobiontów o łącznym udziale 9,23% najliczniej reprezentował *Aspergillus oryzae* (3,98%).

Tabela 5. Grzyby wyizolowane z kiełków gryki

| Gatunek grzyba                                  | Liczba<br>izolatów | Częstotliwość<br>wysobnień [%] | Przynależność do grup<br>frekwencyjnych |
|-------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|
| Grzyby patogeniczne i potencjalnie patogeniczne |                    |                                |                                         |
| <i>Alternaria alternata</i>                     | 875                | 38,75                          | Eudominanci<br>(58,77%)                 |
| <i>Fusarium chlamydosporium</i>                 | 452                | 20,02                          |                                         |
| <i>Phoma glomerata</i>                          | 152                | 6,73                           | Dominanci<br>(13,15%)                   |
| <i>Fusarium solani</i>                          | 145                | 6,42                           |                                         |
| <i>Fusarium proliferatum</i>                    | 113                | 5,00                           | Subdominanci (17,08%)                   |
| <i>Fusarium equiseti</i>                        | 69                 | 3,05                           |                                         |
| <i>Fusarium oxysporum</i>                       | 100                | 4,43                           |                                         |
| <i>Fusarium moniliforme</i>                     | 55                 | 2,43                           |                                         |
| <i>Fusarium culmorum</i>                        | 49                 | 2,17                           | Subrecedenci<br>(1,68%)                 |
| <i>Fusarium incarnatum</i>                      | 21                 | 0,93                           |                                         |
| <i>Fusarium sporotrichoides</i>                 | 16                 | 0,71                           |                                         |
| Grzyby saprobiontyczne                          |                    |                                |                                         |
| <i>Aspergillus oryzae</i>                       | 90                 | 3,98                           | Recedenci<br>(6,22%)                    |
| <i>Rhizopus oryzae</i>                          | 53                 | 2,24                           |                                         |
| <i>Aspergillus terreus</i>                      | 42                 | 1,86                           | Recedenci (1,86%)                       |
| <i>Mucor circinelloides</i>                     | 19                 | 0,84                           | Subrecedenci<br>(1,15%)                 |
| <i>Aspergillus clavatus</i>                     | 7                  | 0,31                           |                                         |

Zastosowane warianty zaprawiania nasion wpływały na kształtowanie się nie tylko ilości, ale i składu gatunkowego grzybów (Tabela 6). Największą różnorodnością gatunków odznaczało się zbiorowisko grzybów wyizolowanych z kiełków obiektu kontrolnego. Oznacza to, że zastosowane do zaprawiania preparaty eliminują ze środowiska określone gatunki grzybów. Największą skuteczność pod tym względem wykazał biostymulator Kelpak SL stosowany z użyźniaczem glebowym UG Max (VIII) – wyizolowane grzyby reprezentowało tylko 8 gatunków, czyli o 7 mniej niż w kontroli.



Tabela 6. Grzyby wyosobnione z porażonych kielków (liścienie i korzenie) gryki w zależności od zastosowanych wariantów zaprawiania nasion

| Gatunek grzyba                  | Liczba izolatów |      |      |      |      |      |      |      |      |      |       | Suma | C** [%] |
|---------------------------------|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|---------|
|                                 | I*              | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   | X    | XI    |      |         |
| <i>Alternaria alternata</i>     | 89              | 89   | 75   | 61   | 150  | 58   | 67   | 89   | 75   | 27   | 95    | 875  | 38,75   |
| <i>Aspergillus clavatus</i>     |                 |      | 2    | 2    | 1    |      | 1    |      |      |      | 1     | 7    | 0,31    |
| <i>Aspergillus oryzae</i>       | 11              |      | 10   | 49   | 4    |      |      |      |      |      | 16    | 90   | 3,98    |
| <i>Aspergillus terreus</i>      |                 | 5    |      |      | 24   | 13   |      |      |      |      |       | 42   | 1,86    |
| <i>Fusarium chlamydosporium</i> | 71              | 62   |      | 45   |      | 44   | 59   | 67   | 17   | 65   | 22    | 452  | 20,02   |
| <i>Fusarium culmorum</i>        |                 | 5    | 20   |      |      | 6    | 9    | 2    |      | 4    | 3     | 49   | 2,17    |
| <i>Fusarium equiseti</i>        |                 |      |      |      |      | 15   | 7    | 9    | 12   | 11   | 15    | 69   | 3,05    |
| <i>Fusarium incarnatum</i>      |                 |      |      |      |      | 4    | 1    | 5    |      | 3    | 8     | 21   | 0,93    |
| <i>Fusarium moniliforme</i>     |                 | 3    | 3    | 5    | 16   |      | 12   |      | 6    | 2    | 8     | 55   | 2,43    |
| <i>Fusarium oxysporum</i>       | 11              |      | 37   | 15   |      | 2    | 5    |      | 10   | 8    | 12    | 100  | 4,43    |
| <i>Fusarium proliferatum</i>    | 4               | 10   | 45   | 12   |      |      | 21   | 1    |      | 13   | 7     | 113  | 5,00    |
| <i>Fusarium sporotrichoides</i> |                 |      |      |      |      | 7    | 1    | 2    | 4    |      | 2     | 16   | 0,71    |
| <i>Fusarium solani</i>          | 25              |      | 14   | 29   | 6    | 22   | 4    |      | 18   | 18   | 9     | 145  | 6,42    |
| <i>Mucor circinelloides</i>     |                 |      |      |      | 5    |      |      |      |      |      | 14    | 19   | 0,84    |
| <i>Phoma glomerata</i>          | 15              | 6    | 1    | 5    | 20   | 21   | 24   | 13   | 4    | 7    | 36    | 152  | 6,73    |
| <i>Rhizopus oryzae</i>          | 5               | 9    | 8    |      | 6    | 3    |      |      | 4    | 9    | 9     | 53   | 2,24    |
| Łącznie                         | 231             | 189  | 215  | 223  | 228  | 182  | 215  | 188  | 150  | 167  | 270   | 2258 |         |
| Udział w [%]                    | 10,2            | 8,37 | 9,52 | 9,88 | 10,1 | 8,06 | 9,52 | 8,33 | 6,64 | 7,40 | 11,96 | 100  |         |

\* – patrz Tabela 1; \*\*C- częstotliwość wyosobnień

Mikologiczna analiza liścieni kielków wykazała duże zróżnicowanie zarówno w liczebności jak i jakości grzybów wyizolowanych z poszczególnych kombinacji zaprawiania nasion. Należy zaznaczyć, że przy stosunkowo niewielkim nasileniu plamistości liści, ilość izolowanych z nich grzybów, w porównaniu z korzeniami, była mniejsza i uboższa także pod

względem gatunkowym. Spośród siedmiu gatunków grzybów stałością występowania odznaczał się jedynie *Alternaria alternata* oraz *Phoma glomerata*, którego nie stwierdzono tylko w kombinacji III – Serenade ASO + Biogen Revital Max Pro (Tabela 7). Z kolei Serenade ASO + UG Max sprzyjał kolonizowaniu siewek przez *Aspergillus oryzae* (aż 35 izolatów spośród 54).

Tabela 7. Grzyby wyosobnione z porażonych liścieni gryki w zależności od zastosowanych wariantów zaprawiania nasion

| Gatunek grzyba              | Liczba izolatów |           |           |           |            |           |           |           |           |           |           | Suma       | C** [%]      |
|-----------------------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|--------------|
|                             | I*              | II        | III       | IV        | V          | VI        | VII       | VIII      | IX        | X         | XI        |            |              |
| <i>Alternaria alternata</i> | 34              | 10        | 40        | 13        | 49         | 25        | 12        | 15        | 15        | 7         | 27        | 247        | 50,10        |
| <i>Aspergillus oryzae</i>   | 11              | -         | 10        | 35        | -          | -         | -         | -         | -         | -         | 8         | 64         | 12,99        |
| <i>Aspergillus terreus</i>  | -               | 5         | -         | -         | 24         | -         | -         | -         | -         | -         | 13        | 42         | 8,52         |
| <i>Fusarium moniliforme</i> | -               | 3         | -         | 5         | 16         | -         | -         | -         | 4         | 2         | 4         | 34         | 6,89         |
| <i>Fusarium solani</i>      | -               | -         | 14        | -         | 6          | -         | 4         | -         | 3         | -         | -         | 27         | 5,48         |
| <i>Phoma glomerata</i>      | 7               | 1         | -         | 1         | 7          | 10        | 14        | 6         | 1         | 2         | 17        | 66         | 13,38        |
| <i>Rhizopus oryzae</i>      | 2               | -         | -         | -         | -          | -         | -         | -         | 3         | 8         | -         | 13         | 2,64         |
| <b>Łącznie</b>              | <b>54</b>       | <b>19</b> | <b>64</b> | <b>54</b> | <b>102</b> | <b>35</b> | <b>30</b> | <b>21</b> | <b>26</b> | <b>19</b> | <b>69</b> | <b>493</b> | <b>100,0</b> |
| Udział w [%]                | 10,96           | 3,86      | 12,99     | 10,96     | 20,69      | 7,09      | 6,08      | 4,26      | 5,27      | 3,85      | 13,99     | 100,0      |              |

\* – patrz Tabela 1; \*\*C- częstotliwość wyosobnień

W zbiorowiskach grzybów zasiedlających korzenie kiełków gryki udział miało 15 gatunków grzybów, z których ze 100% stałością występowały *Alternaria alternata* i *Phoma glomerata* (Tabela 8). Ponadto dużą stabilność występowania stwierdzano dla *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium proliferatum*. Z kolei pozostałe gatunki, zwłaszcza saprobiontyczne występowały z dużą zmiennością w obrębie analizowanych wariantów zaprawiania nasion. Największą różnorodnością gatunkową odznaczała się społeczność grzybów izolowanych z korzeni kiełków obiektu kontrolnego oraz VI – Asahi SL + UG Max. Natomiast znaczne zubożenie składu gatunkowego stwierdzono, podobnie jak dla liścieni, w obiekcie V z udziałem Asahi SL + Biogen Revital Max Pro.

Tabela 8. Grzyby wyisobnione z porażonych korzeni gryki w zależności od zastosowanych wariantów zaprawiania nasion

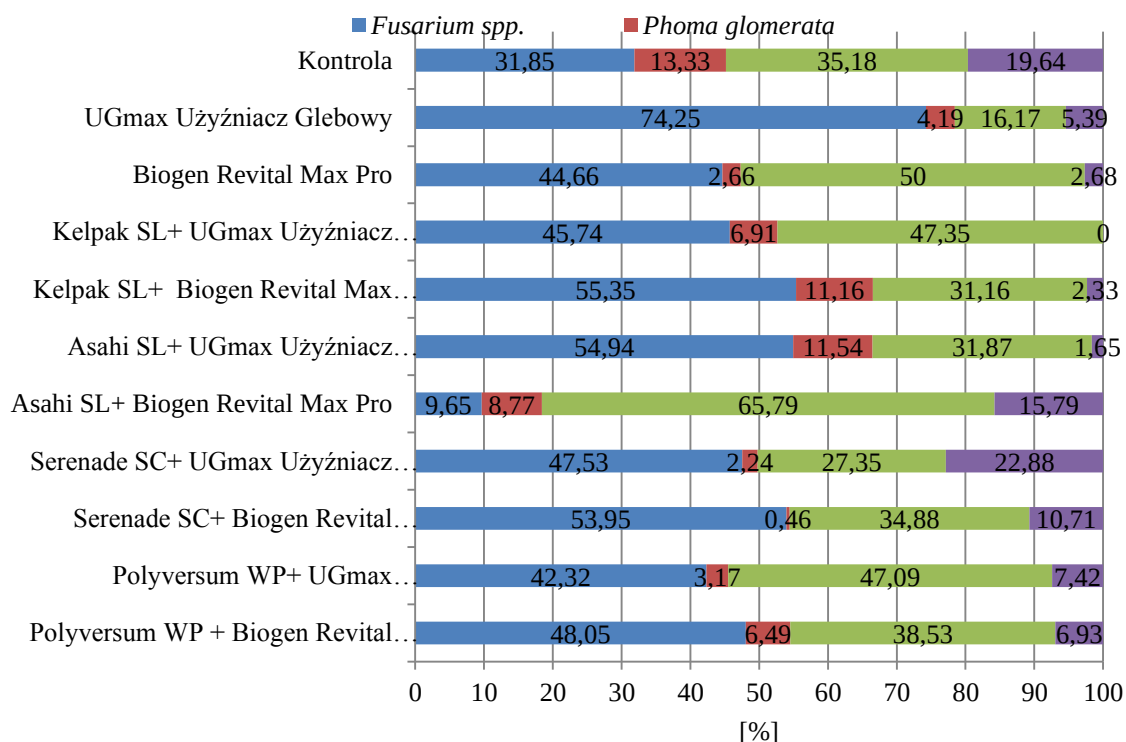
| Gatunek grzyba                  | Liczba izolatów |      |      |      |      |      |      |      |      |      |       | Suma | C**<br>[%] |
|---------------------------------|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|------------|
|                                 | I*              | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   | X    | XI    |      |            |
| <i>Alternaria alternata</i>     | 55              | 79   | 35   | 48   | 101  | 33   | 55   | 74   | 60   | 20   | 68    | 628  | 35,58      |
| <i>Aspergillus clavatus</i>     |                 | -    | 2    | 2    | 1    |      | 1    |      |      |      | 1     | 7    | 0,40       |
| <i>Aspergillus oryzae</i>       |                 | -    | -    | 14   |      |      | 4    |      |      |      | 8     | 21   | 1,19       |
| <i>Fusarium culmorum</i>        |                 | 5    | 20   |      |      | 6    | 9    | 2    |      | 4    | 3     | 54   | 3,06       |
| <i>Fusarium chlamydosporium</i> | 71              | 62   | -    | 45   |      | 44   | 59   | 67   | 17   | 65   | 22    | 452  | 25,61      |
| <i>Fusarium equiseti</i>        |                 | -    | -    |      |      | 15   | 7    | 9    | 12   | 11   | 15    | 69   | 3,91       |
| <i>Fusarium incarnatum</i>      |                 | -    | -    |      |      | 4    | 1    | 5    |      | 3    | 8     | 21   | 1,19       |
| <i>Fusarium moniliforme</i>     |                 | -    | 3    |      |      |      | 12   |      | 2    |      | 4     | 21   | 1,19       |
| <i>Fusarium oxysporum</i>       | 11              | -    | 37   | 15   |      | 2    | 5    |      | 10   | 8    | 12    | 100  | 5,67       |
| <i>Fusarium proliferatum</i>    | 4               | 10   | 45   | 12   |      |      | 21   | 1    |      | 13   | 7     | 113  | 6,40       |
| <i>Fusarium sporotrichoides</i> |                 | -    |      |      |      | 7    | 1    | 2    | 4    |      | 2     | 16   | 0,91       |
| <i>Fusarium solani</i>          | 25              | -    |      | 29   |      | 22   |      |      | 15   | 18   | 9     | 118  | 6,69       |
| <i>Mucor circinelloides</i>     |                 | -    |      |      | 5    |      |      |      |      |      | 14    | 19   | 1,08       |
| <i>Phoma glomerata</i>          | 8               | 5    | 1    | 4    | 13   | 11   | 10   | 7    | 3    | 5    | 19    | 86   | 4,87       |
| <i>Rhizopus oryzae</i>          | 3               | 9    | 8    |      | 6    | 3    |      |      | 1    | 1    | 9     | 40   | 2,27       |
| Łącznie                         | 177             | 170  | 151  | 169  | 126  | 147  | 185  | 167  | 124  | 148  | 201   | 1765 |            |
| Udział w [%]                    | 10,0            | 9,63 | 8,56 | 9,58 | 7,14 | 8,33 | 10,4 | 9,46 | 7,03 | 8,39 | 11,39 |      |            |

\* – patrz Tabela 1; \*\*C- częstotliwość wyisobnień

Zastosowane rodzaje zapraw wpływały na kształtowanie się wzajemnych stosunków między udziałem patogenów i saprobiontów w populacji grzybów zasiedlających porażone korzenie kielków gryki. Ponieważ w społecznościach grzybów wyizolowanych ze wszystkich kombinacji dominowały patogeniczne grzyby z rodzaju *Fusarium*, gatunek patogeniczny

*Phoma glomerata* oraz potencjalny patogen *Alternaria alternata*, uwzględniono je. A także dodatkowo pozostałe gatunki saprobiontyczne (Rysunek 5).

Użyźniacze glebowe oraz ich łączne stosowanie z biostymulatorami (zwłaszcza UG Max) ograniczają ilość grzybów saprobiontycznych kolonizujących korzenie gryki i jednocześnie zwiększają udział *Fusarium spp.*



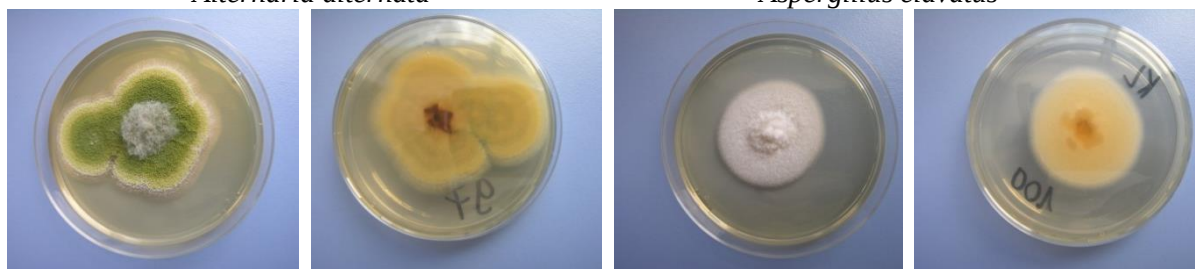
Rysunek 5. Struktura zbiorowisk grzybów porażających kielki gryki

Pięciodniowe kultury grzybów na podłożu PDA ( Fot. Katarzyna Gleń-Karolczyk)



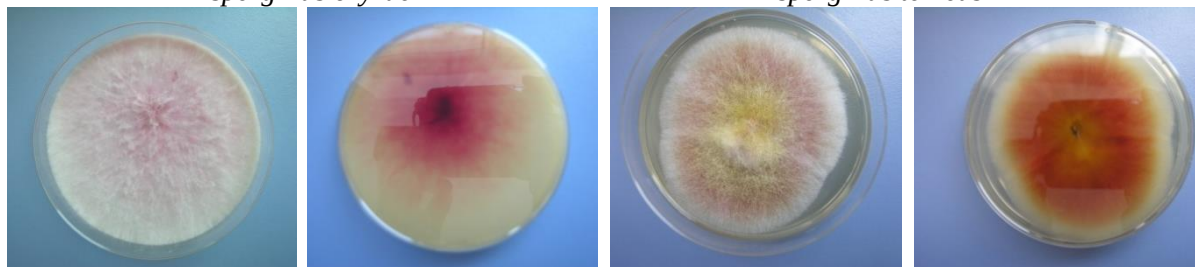
*Alternaria alternata*

*Aspergillus clavatus*



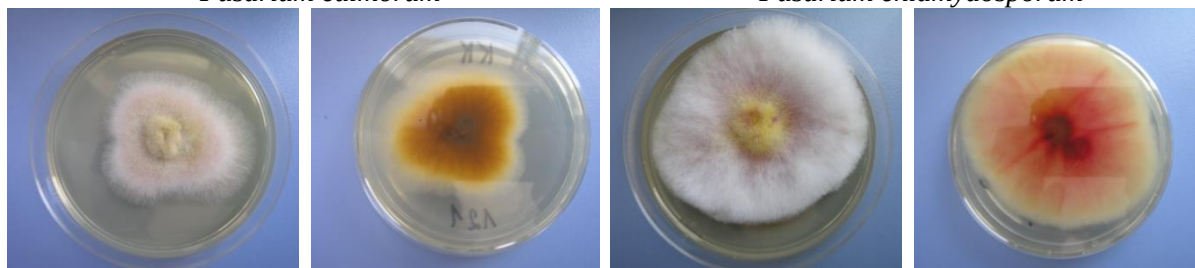
*Aspergillus oryzae*

*Aspergillus terreus*



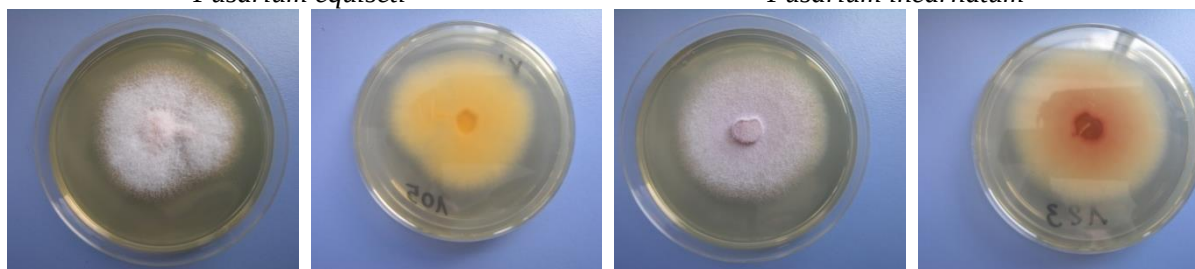
*Fusarium culmorum*

*Fusarium chlamydosporum*



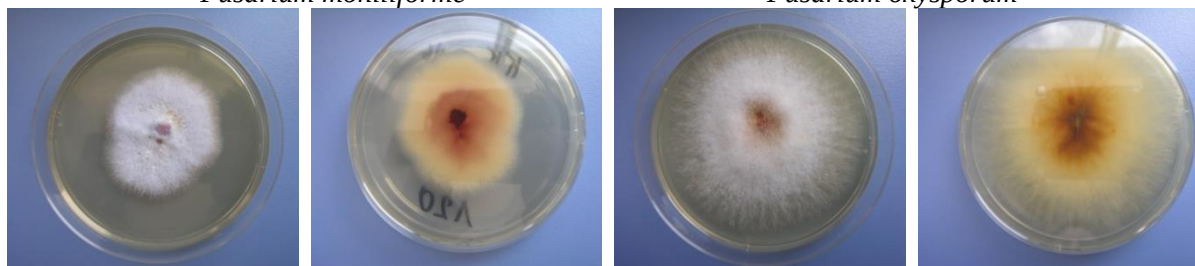
*Fusarium equiseti*

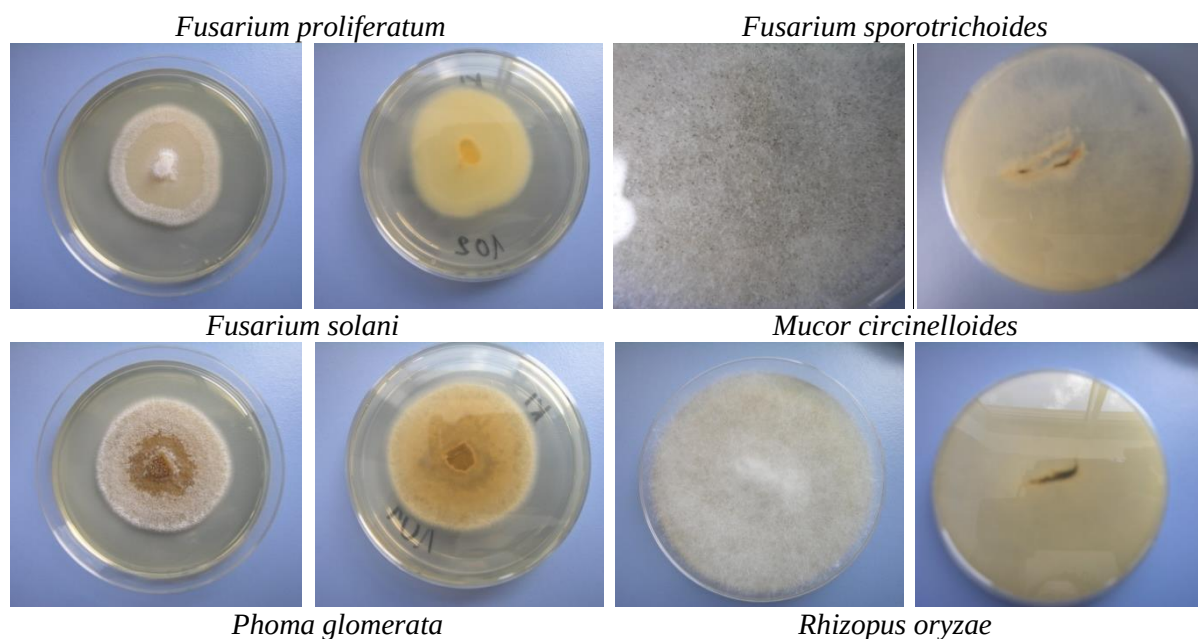
*Fusarium incarnatum*



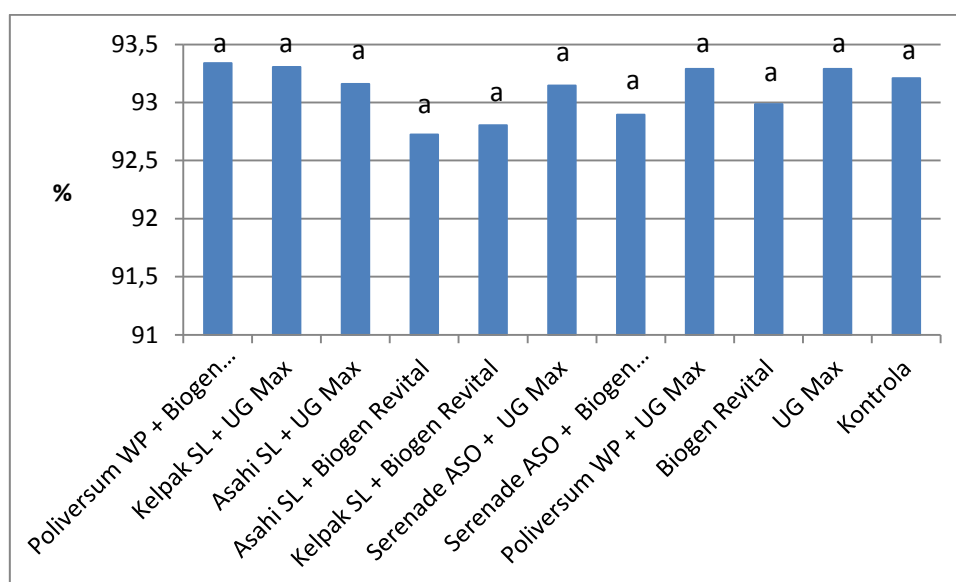
*Fusarium moniliforme*

*Fusarium oxysporum*





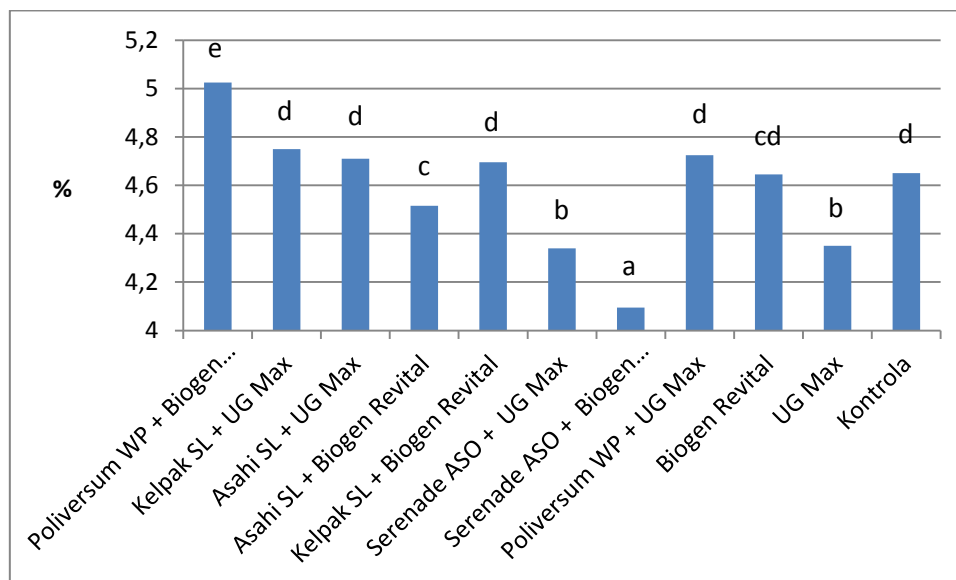
Jakość surowca roślinnego zależy od składu chemicznego suchej masy, w tym zwłaszcza zawartości białka ogólnego oraz frakcji włókna pokarmowego i minerałów. Jak przedstawiono na poniższym rysunku żaden z badanych czynników nie miał istotnego wpływu na zawartość suchej masy w kielkach gryki. Zawartość suchej masy mieściła się w zakresie od 92,73 do 93,34% (Rysunek 6).



Rysunek 6. Kształtowanie się zawartości suchej masy w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

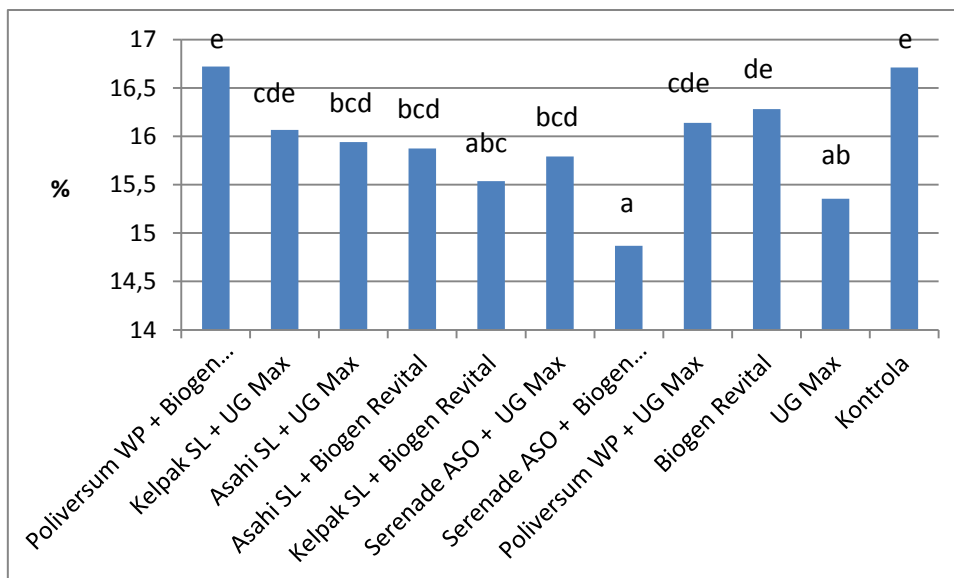
Badane czynniki miały istotny wpływ na zawartość popiołu surowego (Rysunek 7). Najmniejszą zawartość związków mineralnych, oznaczonych jako popiół, stwierdzono w

kiełkach wyrosłych z nasion zaprawionych kombinacją biologiczny środek ochrony roślin Serenade ASO i preparat Biogen Revital, a istotnie najwięcej w kiełkach po łącznym zastosowaniu preparatów Polyversum i Biogen Revital.



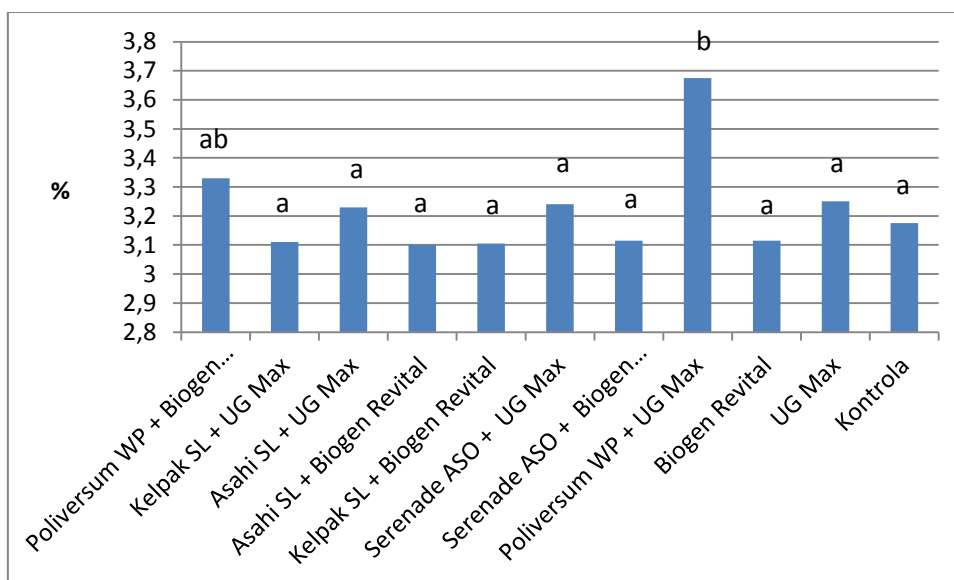
Rysunek 7. Kształtowanie się zawartości popiołu w kiełkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

Białko stanowi jeden z podstawowych składników odżywczych. Zawartość białka w kiełkach stwierdzono z rozstępem 14,87-16,72% (Rysunek 8). Podobnie jak w przypadku poziomu popiołu najmniej białka stwierdzono w kiełkach wyrosłych z nasion zaprawionych kombinacją biologiczny środek ochrony roślin Serenade ASO wraz z preparatem Biogen Revital. Istotnie największą ilością białka cechowały się kiełki z grupy jednorodnej, do której zaliczono m.in. kombinacje zapraw Polyversum plus Biogen Revital oraz obiekt kontrolny.



Rysunek 8. Kształtowanie się zawartości białka w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

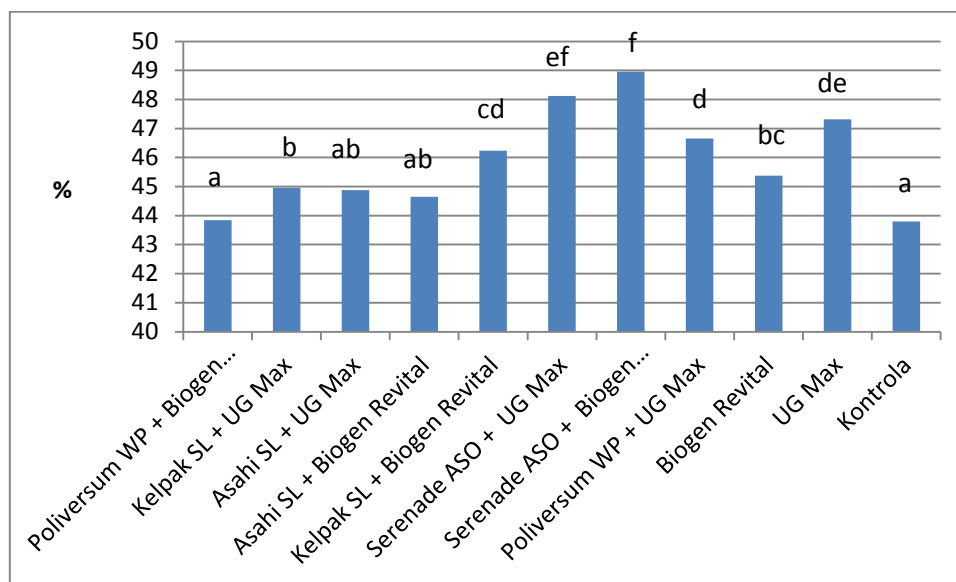
Badane czynniki eksperymentalne nie miały tak silnego wpływu na zawartość lipidów w badanych kielkach gryki jak na zawartość białka. Istotnie najwięcej tłuszczu stwierdzono w kielkach wyrosłych z nasion zaprawionych równocześnie preparatami Polyversum WP i UG Max (3,68%). Zawartość tłuszczu w pozostałych próbach nie różniła się w sposób statystycznie istotny.



Rysunek 9. Kształtowanie się zawartości tłuszczu w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

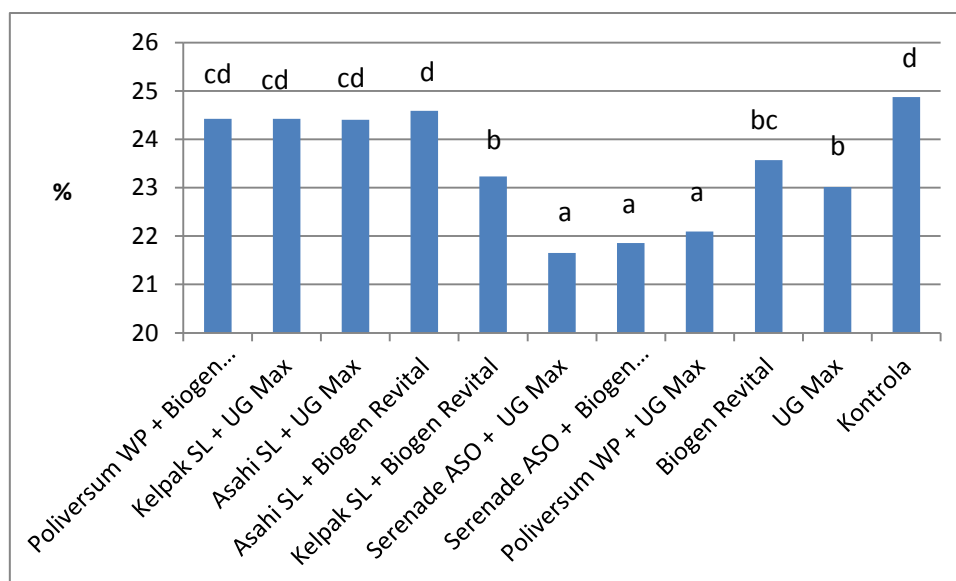


Głównym składnikiem suchej masy były węglowodany ogółem (Rysunek 10). Istotnie najmniejszą ilością tego składnika cechowały się kielki z grupy kontrolnej oraz po równoczesnym zaprawieniu nasion preparatami Polyversum WP i Biogen Revital (43,8%). Istotnie najbogatsze w węglowodany ogółem były kielki wyrosłe z nasion zaprawianych preparatem Serenade ASO plus Biogen Revital.

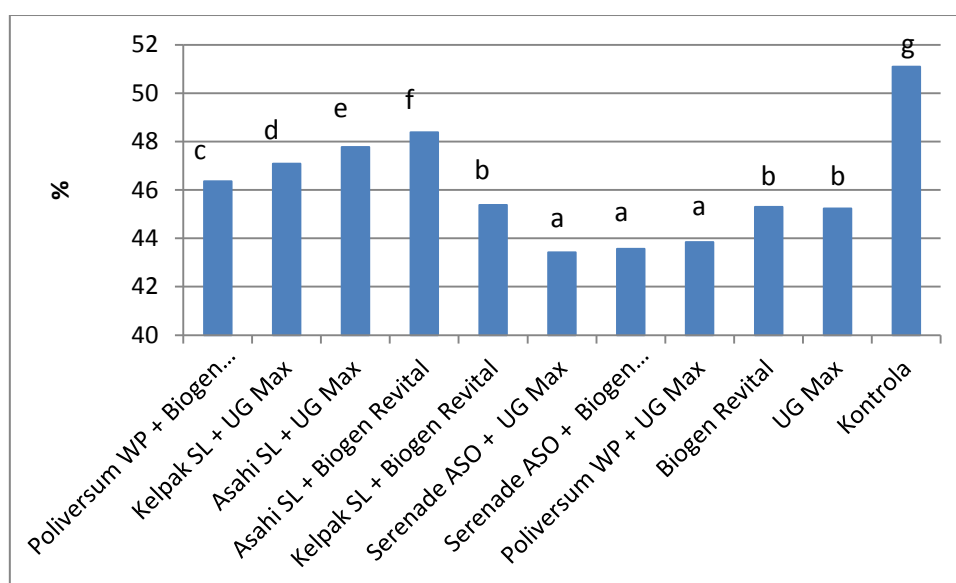


Rysunek 10. Kształtowanie się zawartości węglowodanów ogółem w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

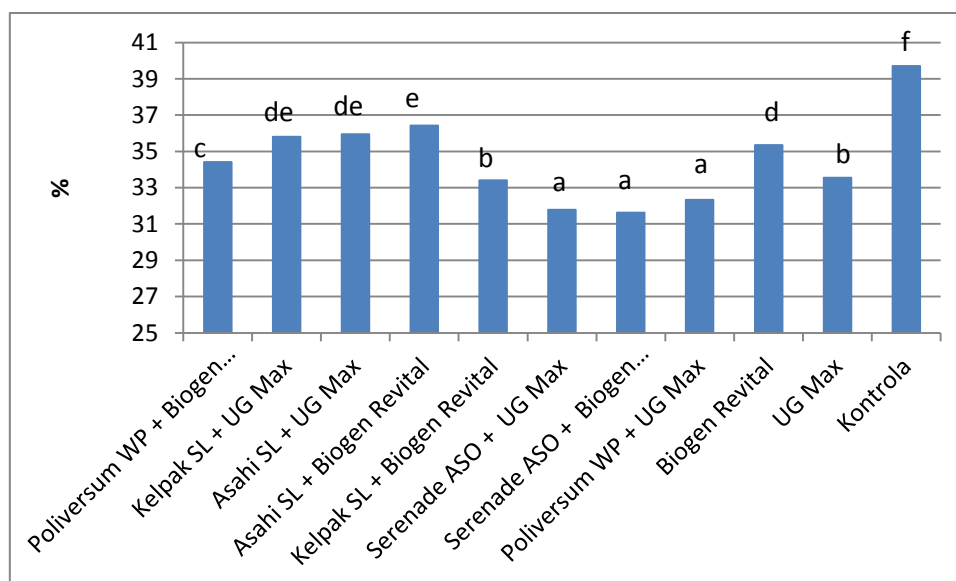
Włókno jest bardzo zróżnicowane strukturalnie, a ze względu na istotne znaczenie dla fizjologii człowieka oraz w technologii żywności obecnie skupia znaczną uwagę świata nauki. W surowcach roślinnych znajdują się różne ilości włókna o różnych proporcjach jego frakcji. Można zauważyć, że najmniejszą ilością włókna surowego (Rysunek 11), frakcji włókna neutralnodetergentowego (Rysunek 12), włókna kwaśno detergentowego (Rysunek 13) oraz frakcji ADL (Rysunek 14) i celulozy (Rysunek 16) cechowały się kielki po zastosowaniu kombinacji zapraw Serenade ASO + UG Max, Serenade ASO + Biogen Revital oraz Polyversum WP + UG Max. Istotnie najwięcej wymienionych składników stwierdzono w kielkach z grupy kontrolnej.



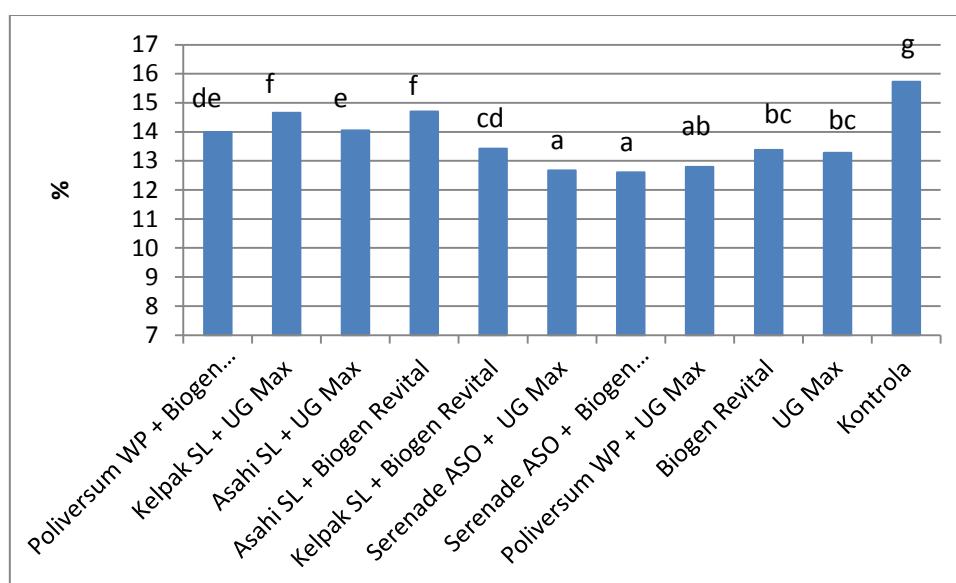
Rysunek 11. Kształtowanie się zawartości włókna surowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



Rysunek 12. Kształtowanie się zawartości frakcji NDF włókna pokarmowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



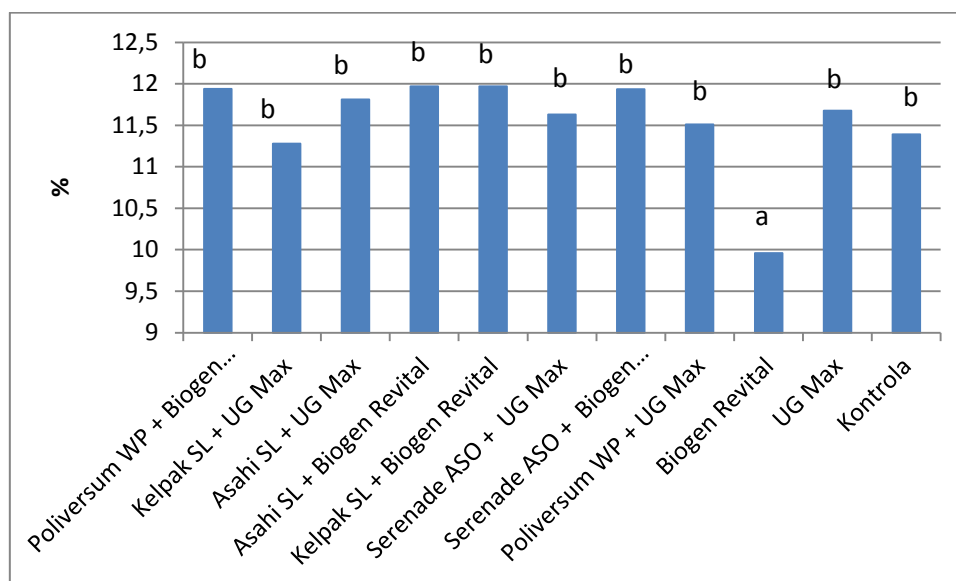
Rysunek 13. Kształtowanie się zawartości frakcji ADF włókna pokarmowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



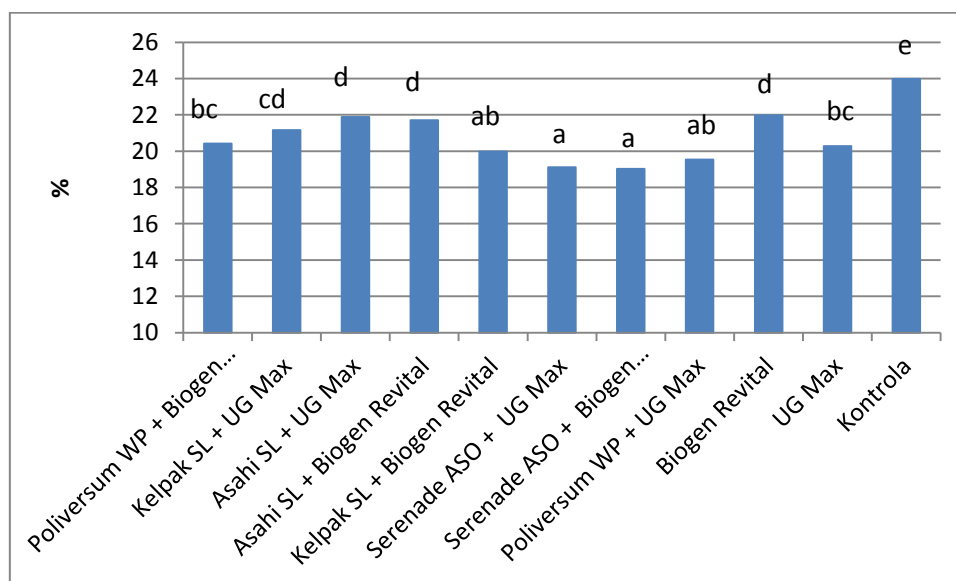
Rysunek 14. Kształtowanie się zawartości frakcji ADL włókna pokarmowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

Hemicelulozy (HCEL) są ważnym składnikiem włókna pokarmowego, posiadającym oprócz pektyn silne właściwości sorbujące metale ciężkie, więc poprawiające jakość zdrowotną żywności. Duża koncentracja hemiceluloz jest zjawiskiem bardzo korzystnym, gdyż mają one pozytywne znaczenie fizjologiczne, związane ze zdolnością tych składników do pęcznienia i wiązania wody w świetle przewodu pokarmowego człowieka. Jedynie w kielkach, po zastosowaniu Biogenu Revital, stwierdzono istotnie mniej HCEL (9,96%). W

pozostałych próbkach badane kombinacje zapraw nie miały istotnego wpływu na zawartość tej frakcji włókna (Rysunek 15).



Rysunek 15. Kształtowanie się zawartości frakcji HCEL włókna pokarmowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

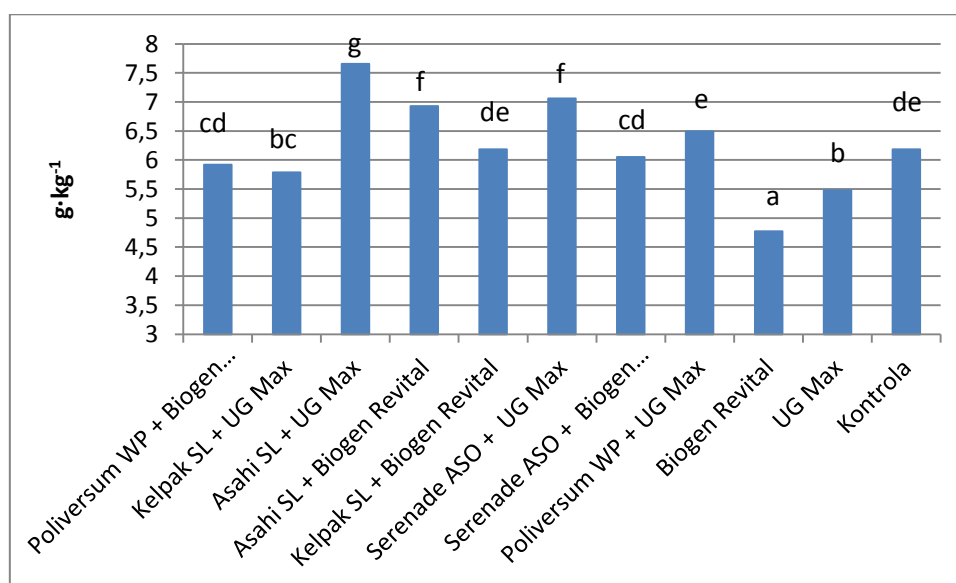


Rysunek 16. Kształtowanie się zawartości frakcji CEL włókna pokarmowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

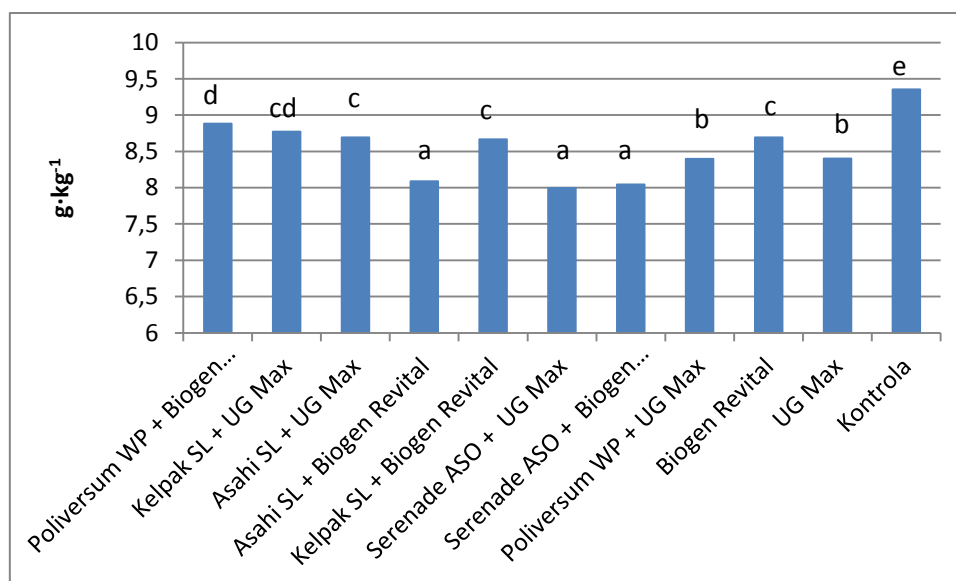
Wartość odżywczą surowców roślinnych zwiększa także obecność w nich makro i mikroelementów, w tym jonów wielu metali, występujących w kielkach w formach łatwo przyswajalnych dla człowieka. Na poniżej zamieszczonych rysunkach przedstawiono średnie

poziomy stężenie makroskładników (K, P, Mg, Ca i Na) oznaczonych w kielkach gryki (Rysunek 17 – Rysunek 21) oraz pierwiastków pozostałych (Fe, Zn, Mn, Mo, Cu) (Rysunek 22 – Rysunek 26). W przeprowadzonych badaniach stwierdzono różne zawartości składników mineralnych w kielkach gryki, wynikające z zastosowanych kombinacji preparatów biologicznych jako zapraw.

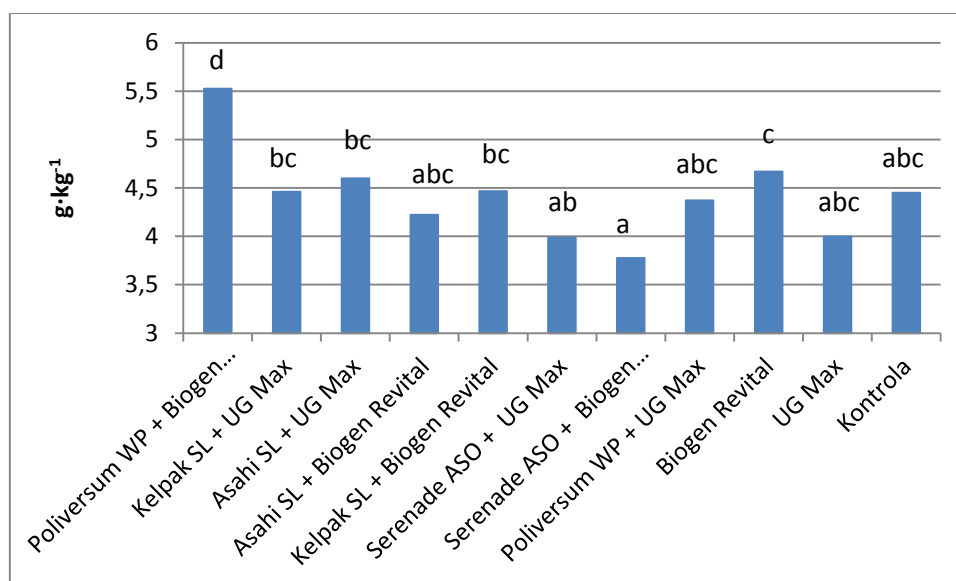
Analizując wpływ preparatów biologicznych na koncentrację makroskładników w kielkach gryki stwierdzono iż najlepszy efekt otrzymano po zastosowaniu kombinacji preparatów: Asahi SL (największa koncentracja fosforu) oraz Polyversum WP (największa zawartość potasu, wapnia). Ponadto w kielkach zaprawianych Asahi SL odnotowano większą koncentrację fosforu, a w kielkach zaprawianych Polyversum WP większą ilość wapnia, w porównaniu do kielków pochodzących z obiektów kontrolnych, odpowiednio o 20 i 19,5%. Najmniejszą koncentracją analizowanych makroskładników charakteryzowały się kielki gryki po zastosowaniu Biogenu Revital (najmniej fosforu) oraz Serenade ASO plus Biogen Revital (najmniej wapnia, sodu i magnezu). Zawartość makroskładników w kielkach gryki malała w następującej kolejności: K > P > Mg > Ca > Na.



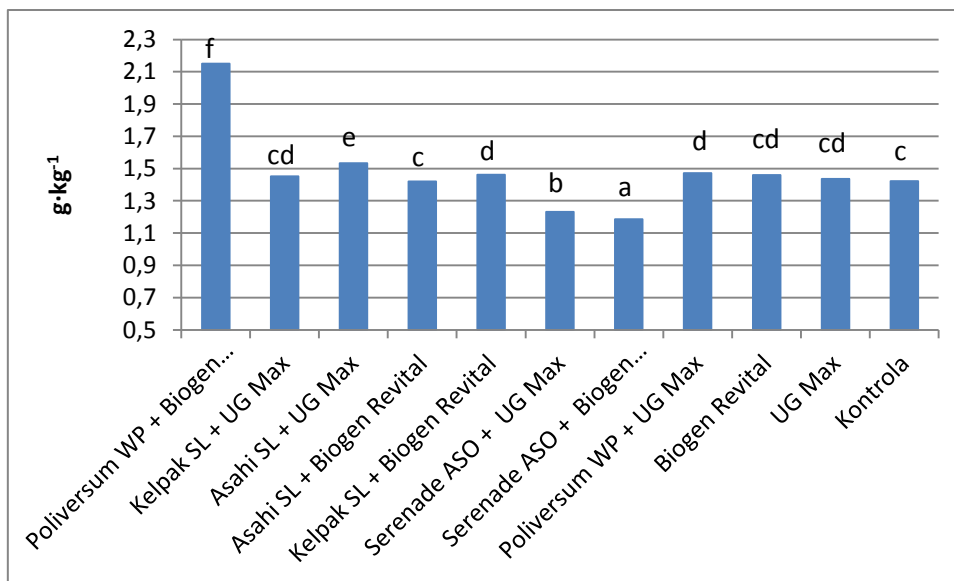
Rysunek 17. Kształtowanie się zawartości fosforu w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



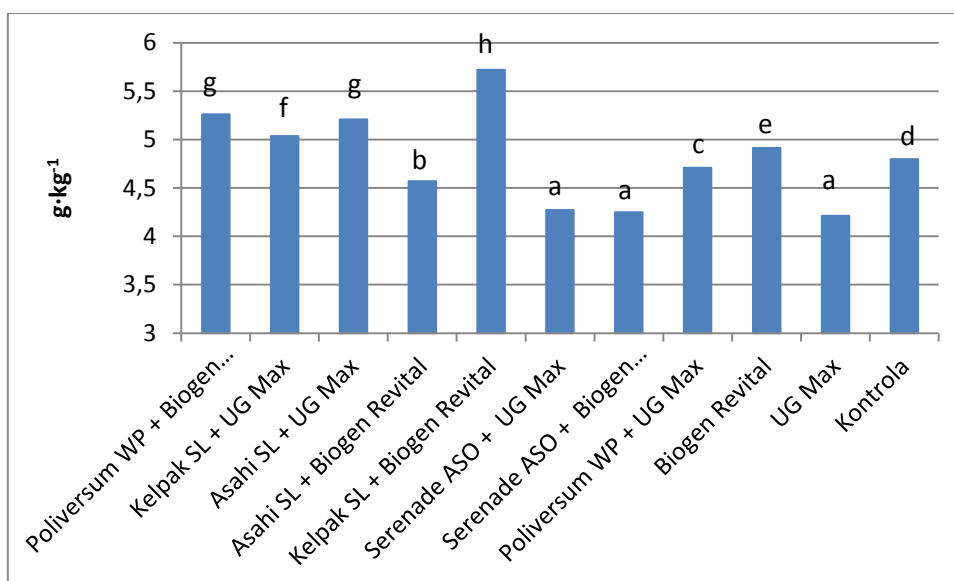
Rysunek 18. Kształtowanie się zawartości potasu w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



Rysunek 19. Kształtowanie się zawartości wapnia w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



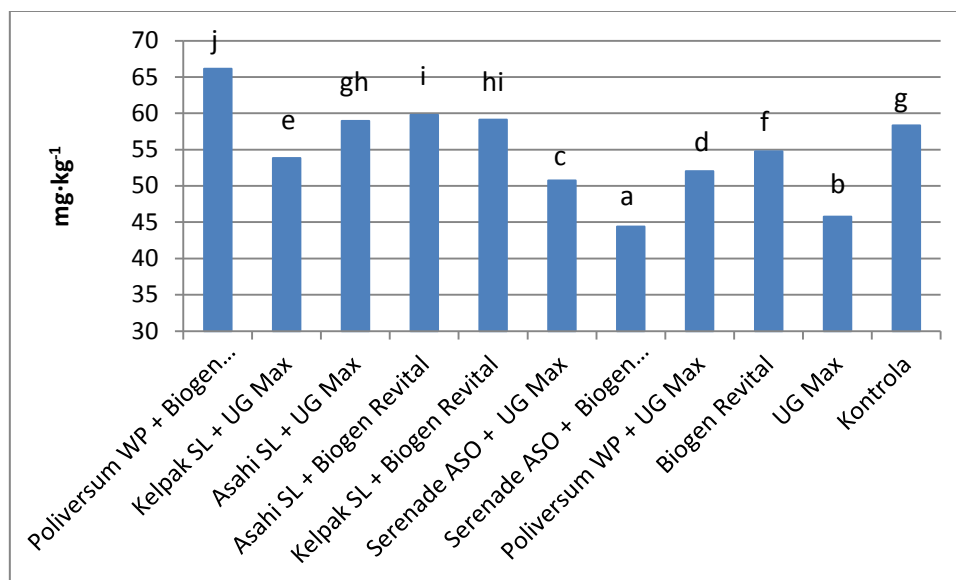
Rysunek 20. Kształtowanie się zawartości sodu w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



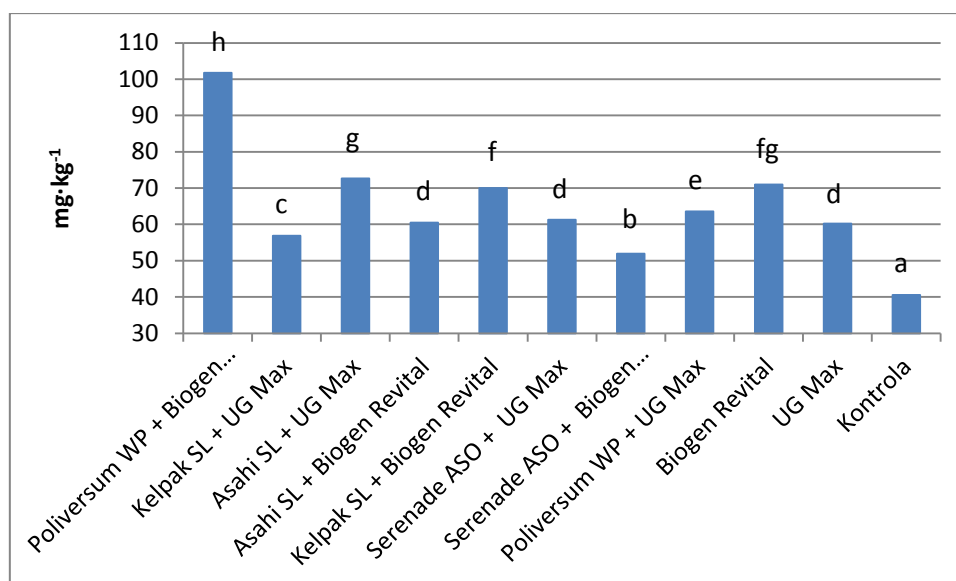
Rysunek 21. Kształtowanie się zawartości magnezu w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

Największą ilość badanych mikrośladników zanotowano w kielkach gryki wyrosłych z nasion zaprawianych następującymi preparatami biologicznymi: Polyversum WP + Biogen Revital (najwięcej cynku, żelaza), Kelpak SL + Biogen Revital (najwięcej miedzi i molibdenu) oraz Asahi SL (najwięcej manganu). Porównując koncentrację mikrośladników w kielkach gryki po zastosowaniu wymienionych biopreparatów do kielków pochodzących z obiektów kontrolnych, stwierdzono większą ich ilość, odpowiednio o: 11,3%, 151%, 21,8%,

30% oraz 22%. Najmniej korzystny wpływ na ilość mikrośladników w kielkach gryki, spośród stosowanych w eksperymencie kombinacji zapraw miały: Serenade ASO + Biogen Revital (najmniej cynku), Asahi SL + Biogen Revital (najmniej miedzi i molibdenu), Kelpak SL + UG Max. Preparaty biologiczne zmniejszyły zawartość omawianych mikrośladników w kielkach gryki odpowiednio o: 23,8%, 14,6%, 60% i 23% w porównaniu do kontroli (Rysunek 22 – Rysunek 26).

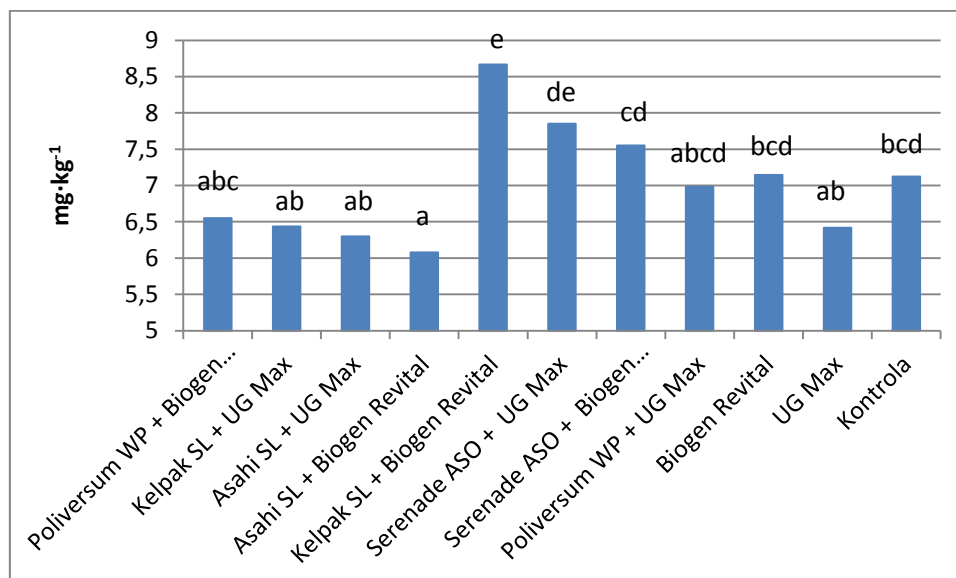


Rysunek 22. Kształtowanie się zawartości cynku w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

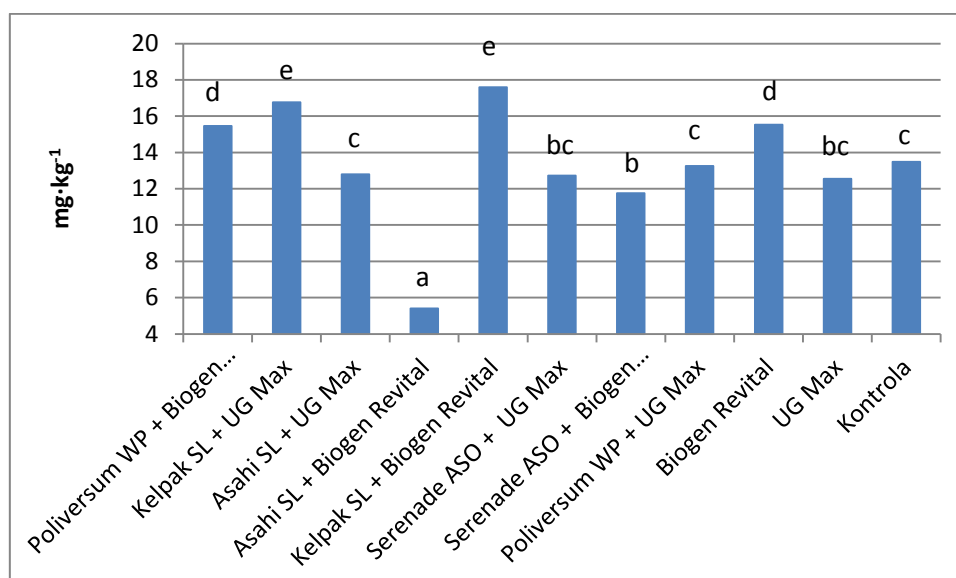


Rysunek 23. Kształtowanie się zawartości żelaza w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

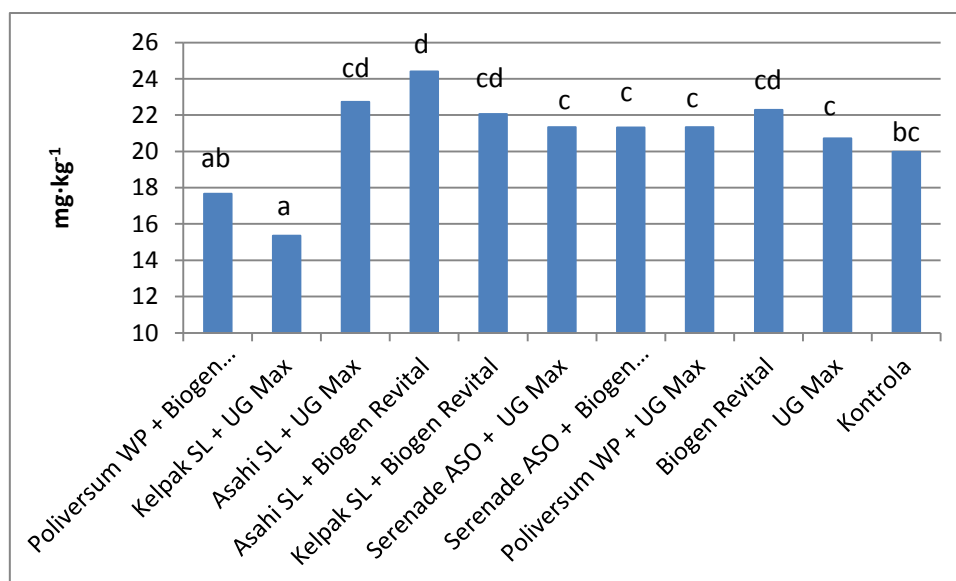




Rysunek 24. Kształtowanie się zawartości miedzi w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



Rysunek 25. Kształtowanie się zawartości molibdenu w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

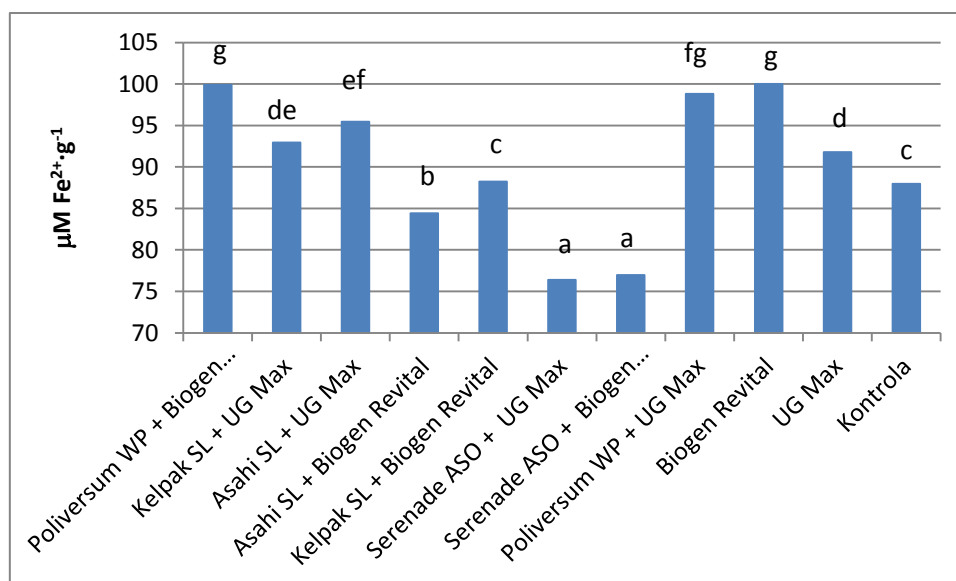


Rysunek 26. Kształtowanie się zawartości manganu w kiełkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

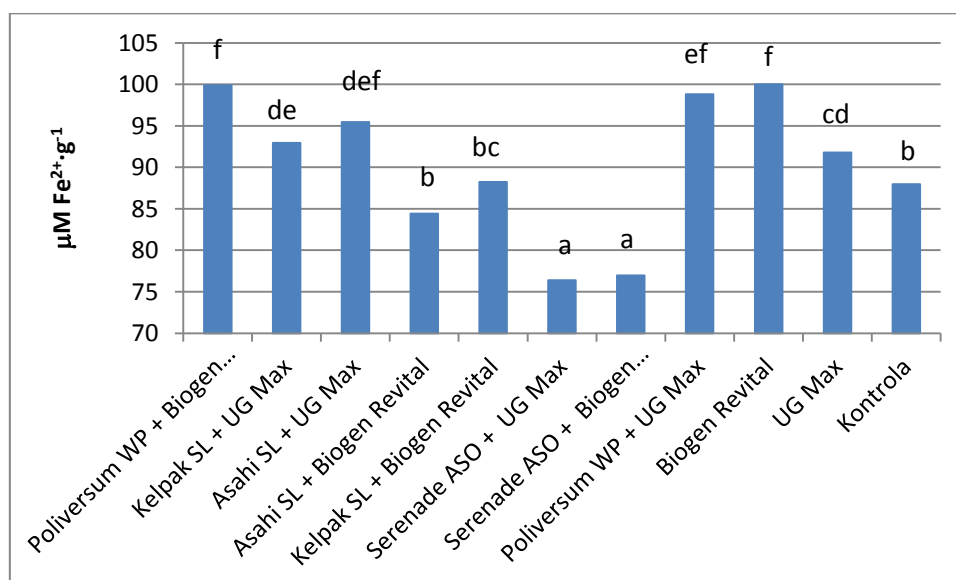
Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów z kiełków gryki, badana metodą FRAP po 4 i po 60 minutach od zapoczątkowania reakcji wykazywała podobną zależność związaną z zastosowaniem różnych kombinacji preparatów. Biogen Revital, oraz jego kombinacja z Polyversum WP, a także łączne działanie Biogenu Revital z UG Max wydają się być najlepsze dla uzyskania najwyższej aktywności antyoksydacyjnej kiełków gryki.

Przeciwny efekt, wpływający na znaczne zmniejszenie tego parametru w stosunku do kontroli wykazała kombinacja Serenade ASO z UG Max i z preparatem Biogen Revital. Zastosowanie tych ostatnich kombinacji spowodowało zmniejszenie aktywności antyoksydacyjnej kiełków gryki prawie o połowę. W związku z tym nie zaleca się stosowania łącznie tych preparatów.

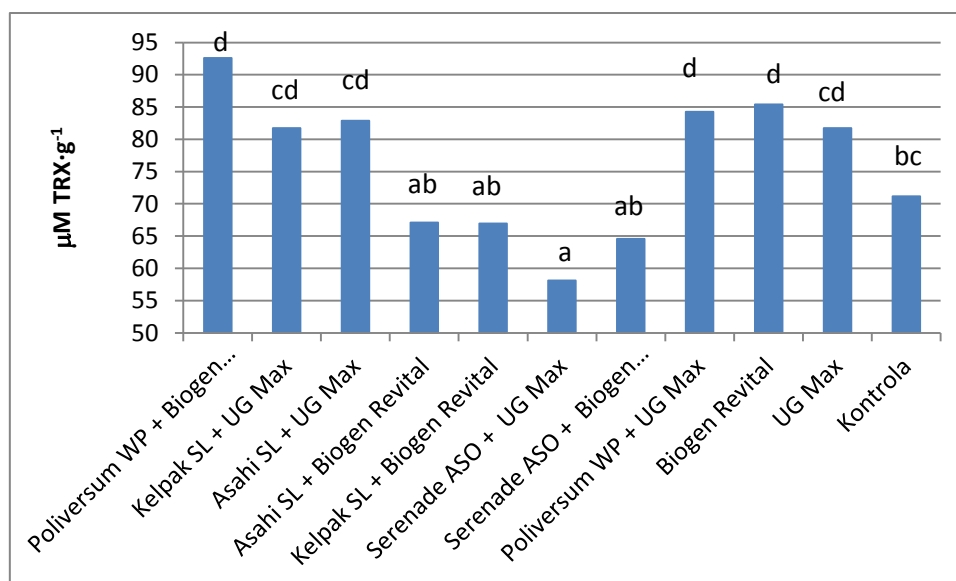
Zastosowanie metody DPPH do oznaczenia aktywności antyoksydacyjnej kiełków gryki w pełni potwierdziło uzyskane wcześniej zależności. Ponadto otrzymane wyniki są zgodne z zaobserwowaną całkowitą zawartością związków polifenolowych w kiełkach gryki (Rysunek 27 - Rysunek 30). Natomiast siła antyoksydacyjna związków rozpuszczalnych w wodzie i tłuszczach wyekstrahowanych z kiełków gryki układała się nieco inaczej na tle badanych kombinacji zapraw (Rysunek 31, Rysunek 31, Rysunek 32).



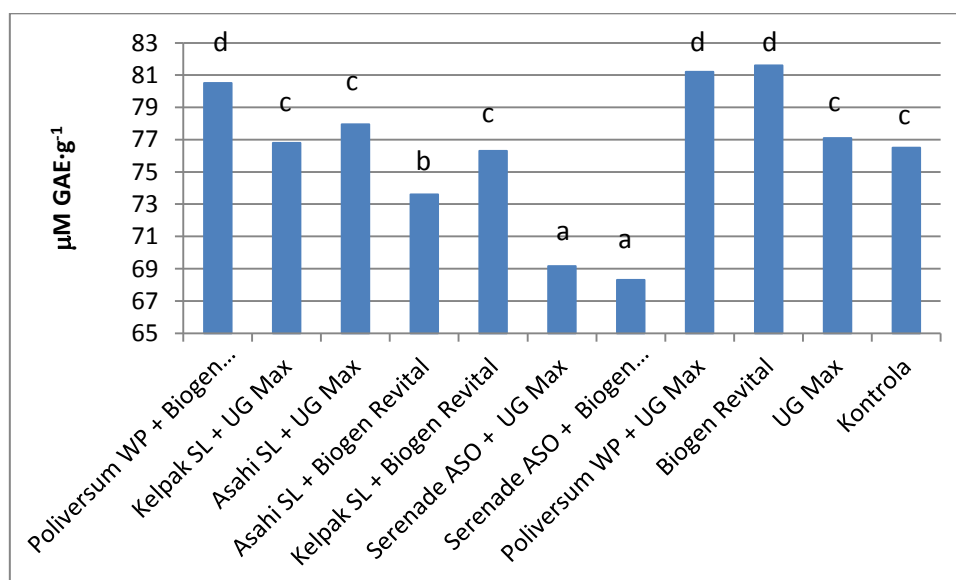
Rysunek 27. Kształtowanie się aktywności antyoksydacyjnej wyznaczonej metodą FRAP 4 (po czterech minutach) w kiełkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



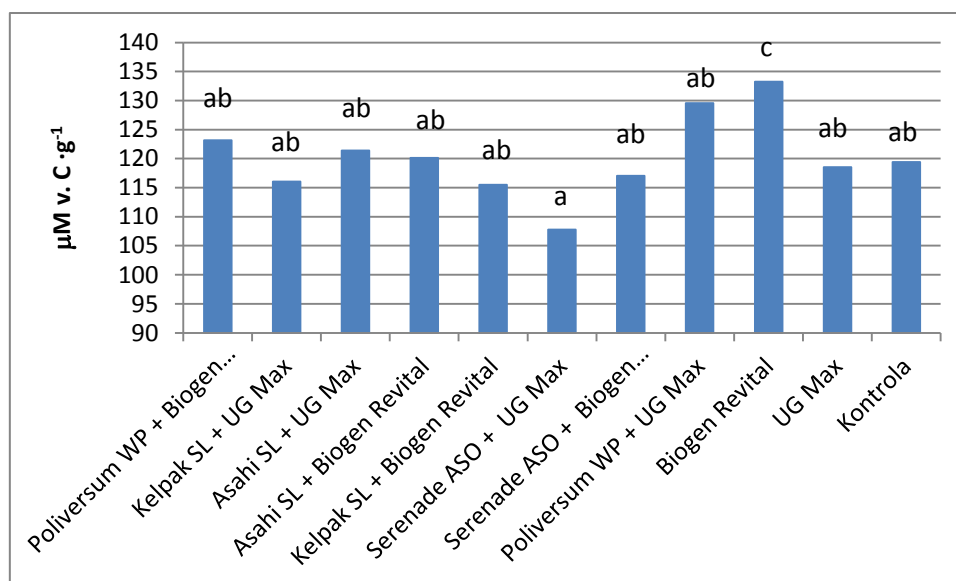
Rysunek 28. Kształtowanie się aktywności antyoksydacyjnej wyznaczonej metodą FRAP 60 (po sześćdziesięciu minutach) w kiełkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



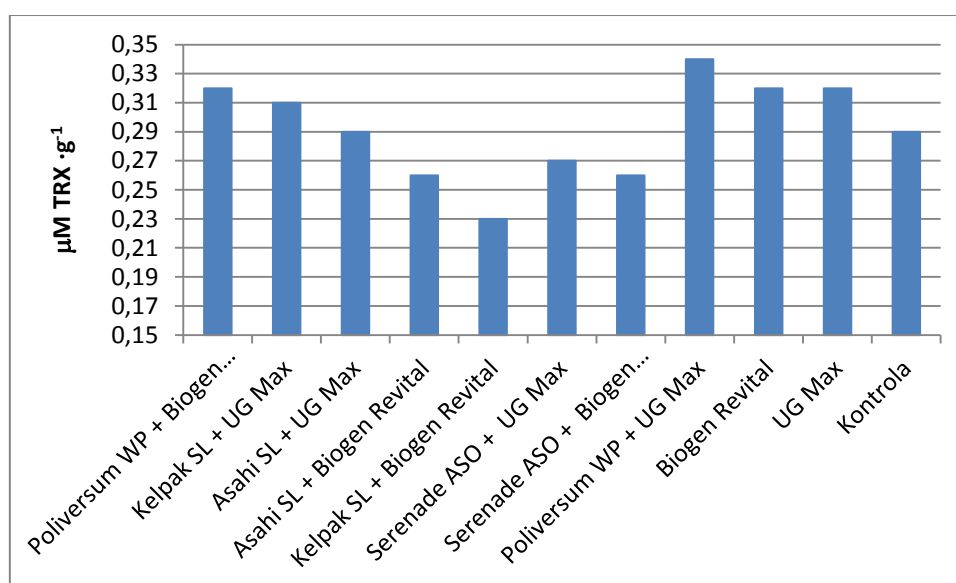
Rysunek 29. Kształtowanie się aktywności antyoksydacyjnej wyznaczonej metodą DPPH (po sześćdziesięciu minutach) w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



Rysunek 30. Kształtowanie się całkowitej zawartości związków polifenolowych w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



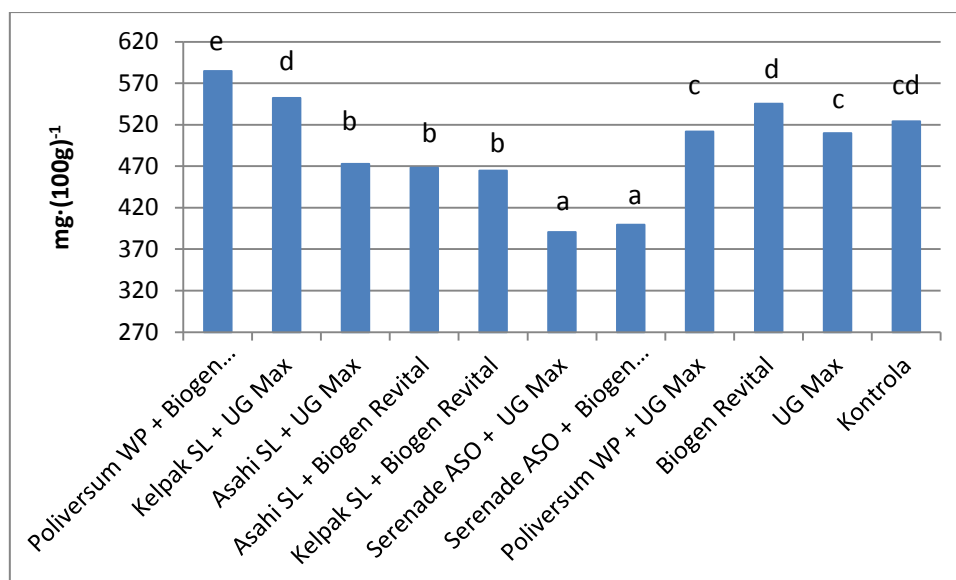
Rysunek 31. Kształtowanie się aktywności antyoksydacyjnej frakcji związków rozpuszczalnych w wodzie (ACW) wykonana kielków gryki



Rysunek 32. Kształtowanie się aktywności antyoksydacyjnej frakcji związków rozpuszczalnych w tłuszczach (ACL) wykonana kielków gryki

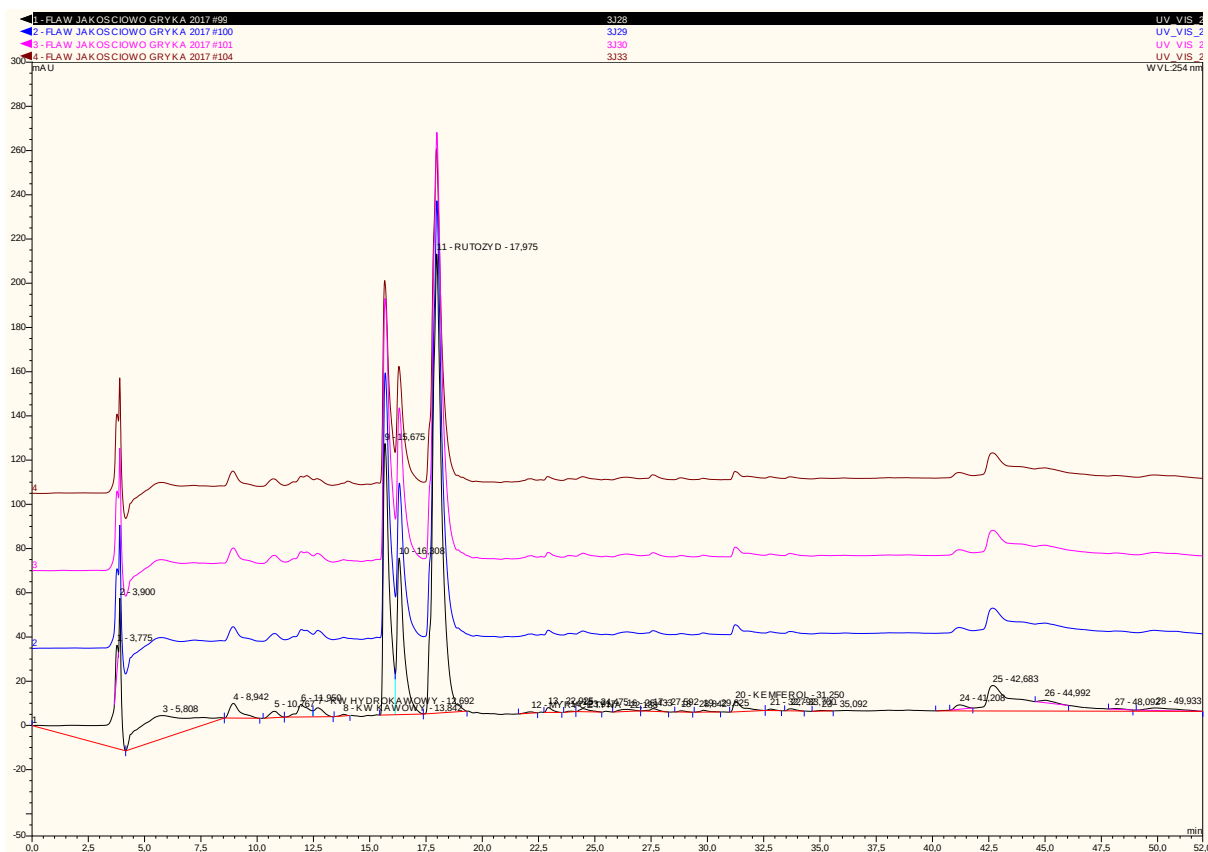
Kształtowanie się zawartości rutozydu w kielkach gryki zaprawianych preparatami biologicznymi pozwoliło na wydzielenie pięciu grup jednorodnych. Pierwsza z nich, o najmniejszej zawartości rutozydu ( $391 - 400 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ) obejmowała dwie kombinacje preparatów biologicznych, a elementem łączącym je była obecność zaprawy biologicznej Serenade ASO (*Bacillus subtilis*). W grupie drugiej, o nieco większej zawartości rutozydu ( $465 - 473 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ) znalazły się obydwie kombinacje z biostymulatorem Asahi SL oraz kombinacja preparatów Kelpak SL z Biogen Revital. W trzeciej i czwartej grupie (zawartość

rutozydu od 510 do 552  $\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ) znalazły się trzy kombinacje z użyźniaczem gleby UG Max oraz obiekty kontrolny i zaprawiony tylko użyźniaczem Biogen Revital. Największą zawartość rutozydu (585  $\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ) w kielkach stwierdzono po zaprawieniu nasion zaprawą biologiczną Polyversum WP i użyźniaczem gleby Biogen Revital (Rysunek 33).



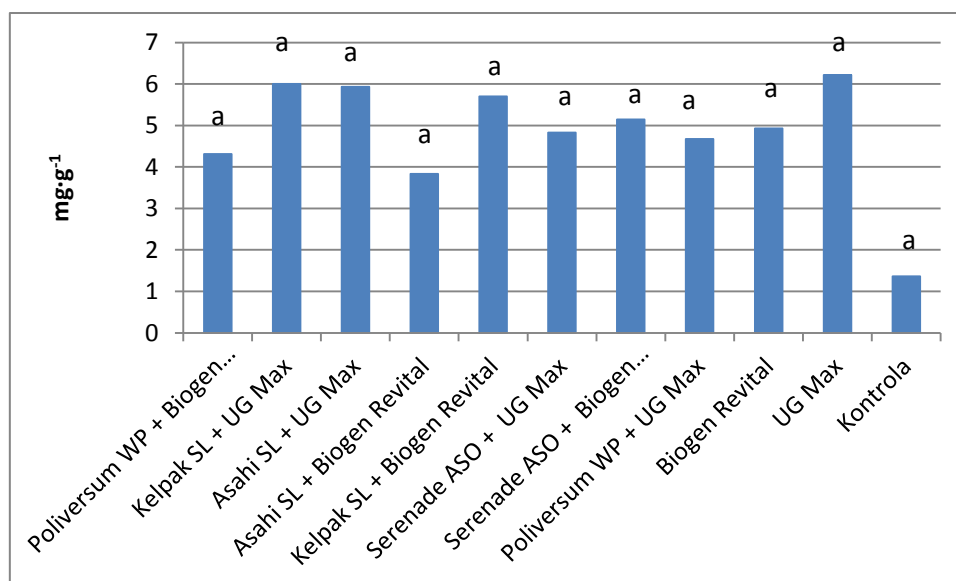
Rysunek 33. Kształtowanie się zawartości rutozydu w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

Analiza jakościowa wykazała obecność rutozydu jako dominującego związku we wszystkich badanych próbkach. Ponadto, w próbkach z liści gryki odnotowano obecność śladowych ilości kwasu hydrokawowego, chlorogenowego, izochlorogenowego oraz kemferolu. W orzeszkach gryki zaobserwowano nieznaczne ilości luteoliny, kwercytryny oraz izoramnetyny. W kielkach gryki analiza ilościowa wskazała na występowanie kwasu hydrokawowego, kwasu kawowego oraz kemferolu, w nieznacznych ilościach. Na chromatografach zaobserwowano również obecność dwóch wysokich pików, o czasach retencji około 15 i 16 min, jednak nie udało się określić ich tożsamości za pomocą dostępnych substancji wzorcowych (Rysunek 34).



Rysunek 34. Porównawcza analiza jakościowa chromatogramów HPLC wyciągów z kielków gryki traktowanych preparatami Polyversum WP (czarny), Kelpak SL (niebieski), Asahi SL (czerwony) i Serenade ASO (brązowy)

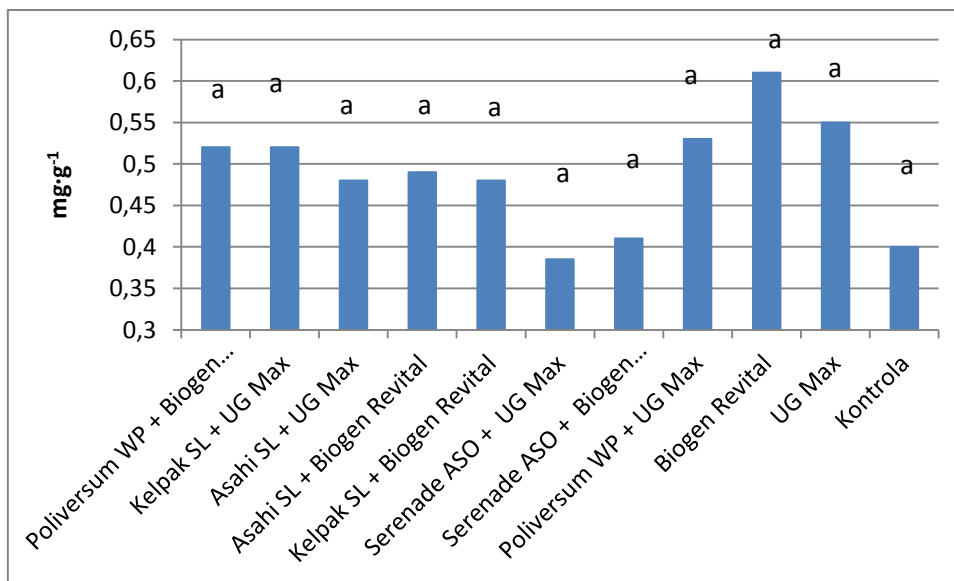
Kształtowanie się zawartości kwasu glukonowego w kielkach gryki nie podlegało istotnemu wpływowi kombinacji preparatów biologicznych stosowanych jako zaprawy, bowiem wyróżniono tylko jedną grupę jednorodną. Pomimo tego należy zwrócić uwagę na fakt, że zaprawienie nasion preparatem UG Max oraz w kombinacjach z biostymulatorami skutkowało wzrostem zawartości kwasu glukonowego w kielkach gryki. Ponadto wszystkie kombinacje zapraw wykazywały tendencję do zwiększania zawartości kwasu glukonowego w kielkach, w porównaniu do zawartości stwierdzonej w kielkach pochodzących z obiektu kontrolnego (Rysunek 35).



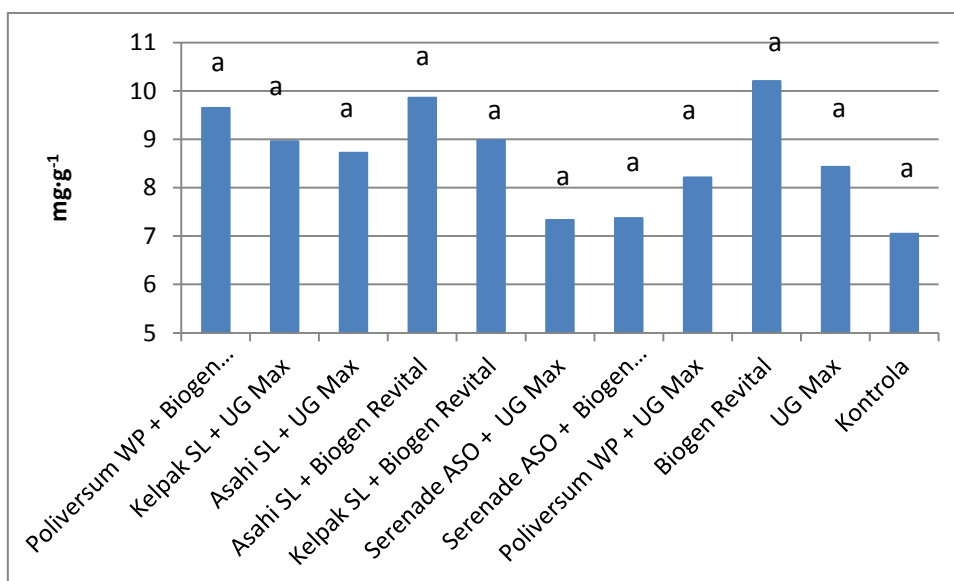
Rysunek 35. Kształtowanie się zawartości kwasu glukonowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

Kształtowanie się zawartości kwasu szczawiowego i winowego w kielkach gryki nie było modyfikowane istotnie przez żadną z badanych kombinacji preparatów stosowanych jako zaprawy, co pozwoliło na wydzielenie tylko jednej grupy jednorodnej. Warto zaznaczyć wpływ szczepu *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) na zawartość tych kwasów organicznych w kielkach gryki. Zaobserwowano negatywny wpływ tego preparatu, jak i kombinacji tego preparatu z użyźniaczami glebowymi na koncentracje kwasu szczawiowego i winowego w kielkach gryki. Poziom, do jakiego zmniejszyła się zawartość tych kwasów był zbliżony do obserwowanego w kielkach pochodzących z obiektów kontrolnych (Rysunek 36, Rysunek 37).





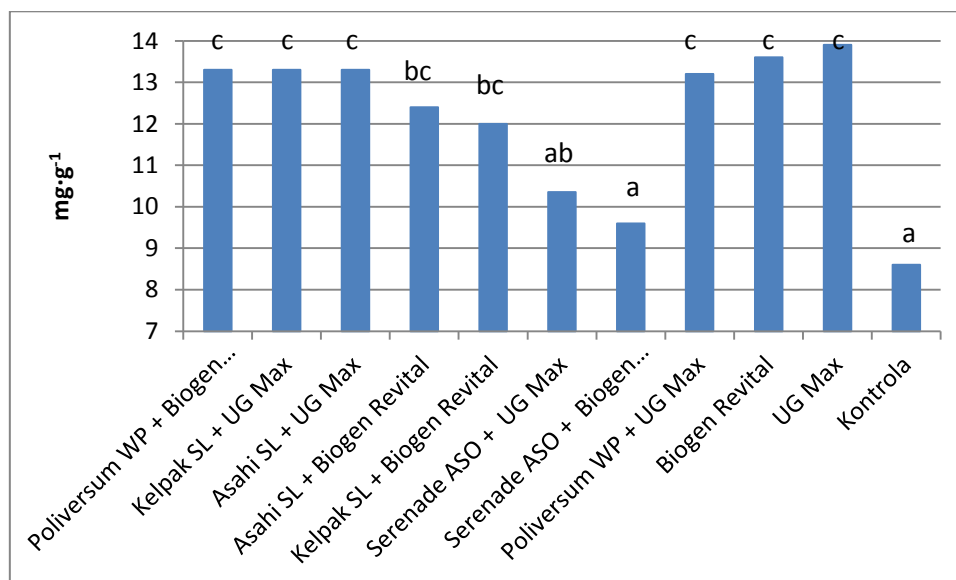
Rysunek 36. Kształtowanie się zawartości kwasu szczawiowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )



Rysunek 37. Kształtowanie się zawartości kwasu winowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektywne oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

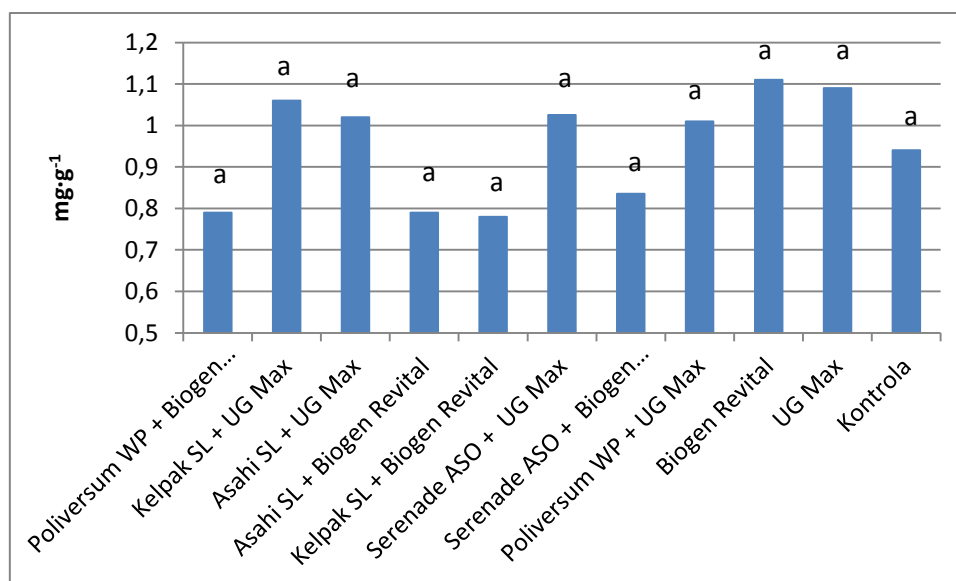
Kształtowanie się zawartości kwasu mlekowego w kielkach gryki zaprawionych różnymi kombinacjami preparatów biologicznych pozwoliło na wydzielenie trzech grup jednorodnych. Pierwsza z nich, o najmniejszej zawartości kwasu mlekowego ( $8,6 - 10,35 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ), obejmowała dwie kombinacje biopreparatów, a elementem wspólnym tych kombinacji była obecność zaprawy biologicznej Serenade ASO. W drugiej grupie, o nieco

większej zawartości ( $10,35 - 12,4 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ) kwasu mlekowego, znalazły się kombinacje biostymulatorów Kelpak SL i Asahi SL z preparatem Biogen Revital. W ostatniej uformowanej grupie jednorodnej, o najwyższej koncentracji ( $12-13,9 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ) tego kwasu w kielkach gryki, dominowały kombinacje zarówno zapraw, jak i biostymulatorów z użyźniaczami gleby UG Max i Biogen Revital (Rysunek 38).



Rysunek 38. Kształtowanie się zawartości kwasu mlekowego w kielkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

Zawartość kwasu mlekowego w kielkach gryki nie zależała w istotny sposób od zastosowanych jako zaprawy kombinacji preparatów biologicznych, bowiem wszystkie analizowane kombinacje współtworzyły jedną grupę jednorodną. Depresyjny wpływ (tendencja) na zawartość w/w kwasu organicznego stwierdzono w wyniku zastosowania preparatu Biogen Revital w kombinacji z biostymulatorami oraz preparatami Serenade ASO i Polyversum WP. Natomiast użyźniacz gleby Biogen Revital zastosowany indywidualnie jako zaprawa nasienna pozwolił na osiągnięcie ponadprzeciętnego stężenia kwasu mlekowego w kielkach gryki (Rysunek 39).



Rysunek 39. Kształtowanie się zawartości kwasu mlekowego w kiełkach gryki pod wpływem kombinacji badanych preparatów. Średnie obiektowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny ( $\alpha=0,05$ )

## Podsumowanie

W wyniku przeprowadzonego badania elektroprzewodnictwa wód nastoinowych wyraźnie uwidocznił się pozytywny efekt zaprawiania nasion użyźniaczami gleby w ich kombinacji z preparatem biologicznym Serenade ASO, jak również biostymulatorem Asahi SL. Również w poprzednim roku badań stwierdzono podobny wpływ zaprawiania nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* (Serenade ASO), jak i wzajemnej kombinacji z biostymulatorem Kelpak SL na zmniejszenie wypływu z eksudatów. Korzystny wpływ mikroorganizmów na wigor nasion może skutkować lepszą połową zdolnością wschodów, zdolnością siewek do wzrostu w niekorzystnych warunkach środowiskowych, a w konsekwencji wyższym plonem nasion.

Testowane kombinacje zaprawiania orzeszków gryki przyczyniają się do zmniejszenia liczby kolonizujących je grzybów, a tym samym ograniczają występowanie zgnilizn i zgorzeli korzeni, plamistości liści oraz wzrostu strzępek grzybów pleśniowych (oznaki etiologiczne). Użyźniacze glebowe UGmax i Biogen Revital Max Pro oraz ich kombinacje z biostymulatorami Kelpak SL i Asahi SL dają podobne efekty ochronne. Znacznie gorsze uzyskuje się połączeniu użyźniaczy glebowych z biopreparatami Serenade ASO oraz Polyversum WP. Preparat na bazie bakterii *Bacillus subtilis* – Serenade ASO wraz z użyźniaczami obniża masę kiełków nawet o 60%. Z kolei grzyb *Pythium oligandrum*

(Polyversum WP) w połączeniu z użyźniaczami, szczególnie zaś Biogenem Revital Max Pro traci właściwości ochronne co skutkuje stymulacją rozwoju zgnilizn korzeniowych kielków. Wyjątkowo korzystne jest stosowane do zaprawiania Biogenu Revital Max Pro z auksynami i cytokininami *Ecklonia Maxima* (Kelpak SL), bowiem aż w 82% hamuje rozwój pleśni, 61% plamistości liścieni i 35% zgnilizn korzeniowych oraz sprzyja wzrostowi świeżej masy kielków. Według naszej opinii ten wariant zaprawiania rekomendujemy do produkcji kielków gryki.

Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów z kielków gryki, badana metodą FRAP po 4 i po 60 minutach od zapoczątkowania reakcji wykazywała podobną zależność związaną z zastosowaniem różnych kombinacji preparatów. Biogen Revital, oraz jego kombinacja z Polyversum WP, a także łączne działanie Biogenu Revital z UG Max wydają się być najlepsze dla uzyskania najwyższej aktywności antyoksydacyjnej kielków gryki.

Na podstawie przeprowadzonych badań trudno jest jednoznacznie określić wpływ czynników doświadczalnych na zawartość podstawowych składników pokarmowych, frakcji włókna pokarmowego oraz zawartość składników mineralnych, najwyraźniej widać ich pozytywny wpływ na poziom popiołu surowego, a co za tym idzie na zawartość minerałów w porównaniu do kontroli, głównie Polyversum WP + Biogen Revital. Zauważono ujemny wpływ preparatów Serenade ASO + UG Max, Serenade ASO + Biogen Revital oraz Polyversum WP + UG Max, w stosunku do kontroli, na poziom włókna surowego oraz większość frakcji włókna pokarmowego (NDF, ADF, ADL i CEL). W związku z powyższym przedstawione badania wskazują na konieczność prowadzenia dalszej oceny składu chemicznego i wartości odżywczej kielków gryki, jako integralnej części pracy hodowlanej nad tym cennym gatunkiem.

## **PODZADANIE 2. Zwiększenie polowej zdolności wschodów gryki oraz zdrowotność siewek gryki**

**Cele szczegółowe podzadania drugiego zrealizowane zostały w oparciu o następujące działania:**

1. Określenie równomierności wschodów (liczby roślin wypadających) na wszystkich obiektach eksperymentalnych.
2. Określenie udziału siewek z objawami zgorzeli na 15 losowo pobranych siewkach z poletka w fazie BBCH 10-19.

3. Pobranie z wytypowanych obiektów po 15 siewek i wykonanie na nich pomiarów biometrycznych metodą destrukcyjną (sucha masa, długość korzeni, wysokość pędów, powierzchnia asymilacyjna z wykorzystaniem aparatu Li-Cor 3200).

**Oczekiwane rezultaty to:**

1. Wskazanie najlepszego biopreparatu do zaprawiania orzeszków gryki w kontekście polowej zdolności wschodów.
2. Określenie wpływu porażenia przez patogeny na polową zdolność wschodów.

**Oczekiwane efekty to:**

1. Szybsze i bardziej wyrównane wschody gryki, skutkujące bardziej dynamicznym rozwojem łanu.
2. Lepsza zdrowotność młodocianych roślin, skutkująca bardziej dynamicznym rozwojem łanu.

**Material i metody**

Czteroczynnikowe doświadczenie polowe założono według planu Boxa-Behnkena  $3^{4-1}$  w dwóch powtórzeniach w Stacji Doświadczalnej Instytutu Produkcji Roślinnej Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. W eksperymencie uwzględniono stosowanie biostymulatorów (w różnych terminach i różnymi metodami), zapraw biologicznych oraz użyźniaczy gleby (Tabela 9). Wielkość poletek do zbioru wynosiła  $10\text{ m}^2$ , a gęstość siewu gryki wynosiła 250 szt. kiełkujących nasion na  $1\text{ m}^2$ . Przedplonem był rzepak ozimy. Po wschodach na każdym poletku trzykrotnie ( $3 \times 0,5\text{ m}^2$ ) określono obsadę roślin. Do pomiarów biometrycznych z każdego poletka pobierano po 15 losowo wybranych młodocianych roślin gryki. Pomiary biometryczne metodą destrukcyjną wykonano przy użyciu aparatu Li-Cor 3200 firmy Li-Cor Biosciences w dniu 14 czerwca 2016 roku. Obok indywidualnej powierzchni asymilacyjnej liści określono również świeżą masę roślin i liści, długość korzeni i wysokość pędów.

Tabela 9. Czynniki i ich poziomy uwzględnione w doświadczeniu polowym

| Czynnik doświadczalny           | Poziomy czynniki       |                                      |                       |
|---------------------------------|------------------------|--------------------------------------|-----------------------|
|                                 | Niski                  | Średni                               | Wysoki                |
| Biostymulator (jako zaprawa)    | Kelpak SL (KZ)         | Kontrola (brak zaprawiania) (KZ0)    | Asahi SL (AZ)         |
| Zaprawa biologiczna             | Polyversum WP (Poliv.) | Kontrola (brak zaprawiania) (Poliv0) | Serenade ASO (Seren.) |
| Biologiczny użyźniacz gleby     | UG Max (UG)            | Kontrola (brak użyźniacza) (UG0)     | Biogen Revital (BR)   |
| Biostymulator (oprysk nalistny) | Kelpak SL (KN)         | Kontrola (brak opryskiwania) (KN0)   | Asahi SL (AN)         |

W eksperymencie polowym w fazie BBCH 9-10 na 15 roślinach losowo wybranych z poletka dokonano oceny stanu zdrowotnego młodocianych roślin gryki. Oceniono procent roślin z objawami zgorzeli siewek.

### Wyniki i ich omówienie

Podstawowym parametrem kształtującym architekturę łanu jest zagęszczenie roślin po wschodach. Odpowiednio ukształtowany łan zapewnia efektywne wykorzystanie promieniowania fotosyntetycznego, składników odżywczych oraz wody. Również kluczowym zagadnieniem, mającym znaczenie praktyczne, ma wysoki koszt kwalifikowanego materiału siewnego. Wysoka zdolność polowa wschodów oraz zdrowotność siewek pozwala na obniżenie ilości wysiewu, co może skutkować ekonomicznymi oszczędnościami.

W prezentowanych badaniach jedynym czynnikiem, który w istotny sposób modyfikował obsadę roślin po wschodach, był biostymulator zastosowany w formie zaprawy. Moczenie nasion w preparacie Kelpak SL spowodowało ubytek obsady roślin w porównaniu do nasion moczonych w preparacie Asahi SL o 15,2 szt.  $\cdot m^{-2}$  (poziom istotności efektu kwadratowego  $\alpha=0,034$ ). Warto również podkreślić wpływ o charakterze tendencji czynników jakimi, były zaprawa biologiczna i użyźniacz gleby na obsadę roślin po wschodach. Zaprawienie nasion przed wysiewem preparatami Serenade ASO (*Bacillus subtilis*) oraz Polyversum WP (*Pythium oligandrum*) obniżyło połowę zdolność wschodów średnio o 6,1 szt.  $m^{-2}$  w porównaniu do obiektu kontrolnego. Natomiast zastosowanie użyźniacza gleby Biogen Revital skutkowało obniżeniem obsady roślin po wschodach w porównaniu do preparatu UG Max o 12,7 szt.  $\cdot m^{-2}$  (Tabela 10).

Odmienne kształtowała się obsada roślin gryki przed zbiorem. W okresie zbioru gryki zanotowano jeszcze niższe obsady niż omówione powyżej. Obsada roślin przed zbiorem

podlegała istotnemu wpływowi czynnika jakim był użyźniacz gleby. Na tych obiektach po zastosowaniu preparatów UG Max i Biogen Revital odnotowano wzrost obsady roślin w porównaniu do obiektu kontrolnego o  $16,2 \text{ szt} \cdot \text{m}^{-2}$ .

Tabela 10. Wpływ badanych czynników na równomierność wschodów oraz obsadę przedzbiorową roślin gryki

| Czynnik                                                   | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|-----------------------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                                           | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Obsada po wschodach [ $\text{szt} \cdot \text{m}^{-2}$ ]  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                   | 191,1           | 185,9  | 175,9  | 0,034                        | 0,516        |
| Zaprawa biologiczna                                       | 183,1           | 187,7  | 180,0  | 0,979                        | 0,111        |
| Użyźniacz glebowy                                         | 191,1           | 184,8  | 178,4  | 0,118                        | 0,900        |
| Obsada przed zbiorem [ $\text{szt} \cdot \text{m}^{-2}$ ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                   | 148,8           | 155,5  | 143,2  | 0,485                        | 0,464        |
| Zaprawa biologiczna                                       | 153,7           | 151,3  | 148,8  | 0,551                        | 0,573        |
| Użyźniacz glebowy                                         | 165,5           | 144,1  | 155,0  | 0,200                        | 0,009        |
| Biostymulator (nalistnie)                                 | 154,0           | 150,5  | 150,7  | 0,680                        | 0,408        |

Efekt kwadratowy bliski statystycznej istotności ( $\alpha=0,086$ ) potwierdza tendencję wzrostu średniej masy młodocianych rośliny gryki wyrosłych z nasion zaprawionych biopreparatami Serenade ASO i Polyversum WP. Stwierdzono, że młodociane rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) oraz oosporami *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) zwiększyły średnią masę o 0,109 g w porównaniu do roślin z obiektu kontrolnego. Średnia masa młodocianych rośliny gryki w istotny sposób modyfikowana była przez zastosowany użyźniacz gleby. Zauważono, że rośliny wyrosłe po aplikacji na glebę użyźniacza UG Max były cięższe o 0,73 g w porównaniu do roślin z obiektu kontrolnego i o 0,23 g od roślin wyrosłych po aplikacji preparatu Biogen Revital Max Pro.

Średnia masa liści z rośliny była modyfikowana przez istotny wpływ dwóch źródeł zmienności. Zaprawa biologiczna w istotny sposób modyfikowała średnią masę liści młodocianej rośliny. Średnia masa liści z rośliny po zaprawieniu nasion szczepem *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) oraz oosporami *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) wzrosła w porównaniu do średniej masy liści z rośliny z obiektu kontrolnego o 0,033 g. Również zastosowanie użyźniacza gleby wpłynęło istotnie na średnią masę liści z rośliny. Zarówno po naniesieniu na glebę użyźniacza UG Max jak i preparatu Biogen Revital Max Pro zaobserwowano wzrost średniej masy liści z rośliny o 0,338 g w porównaniu do średniej masy liści roślin z obiektu kontrolnego (Tabela 11).

Analiza statystyczna nie potwierdziła wpływu zaprawiania nasion biostymulatorami Asahi SL i Kelpak SL na udział liści w masie rośliny, ale pozwala stwierdzić wyraźną tendencję wzrostową dla tego parametru. Zaprawienie orzeszków gryki fitohormonami (auksynami oraz cytokininami) pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) spowodowało wzrost udziału masy liści w masie rośliny w porównaniu do roślin wyrosłych z nasion zaprawionych naturalnymi roślinnymi nitrofenolami (Asahi SL) o 2,6 %. Zaobserwowano tendencję w formowaniu się większego udziału masy liści w masie rośliny pod wpływem stosowania użyźniaczy gleby ( $\alpha=0,106$ ). Aplikacja użyźniaczy gleby UG Max i Biogen Revital Max Pro wpłynęła na wzrost udziału masy liści w porównaniu do prezentowanego przez rośliny z obiektu kontrolnego o 3,3 %.

Zaprawienie orzeszków biostymulatorami modyfikowało w istotny sposób powierzchnię asymilacyjną liści młodocianych roślin gryki. Biostymulatory zastosowane w formie zaprawy zmniejszyły średnią powierzchnię asymilacyjną roślin w porównaniu do powierzchni asymilacyjnej roślin wyrosłych na obiekcie kontrolnym o 2,84 cm<sup>2</sup>.

Na granicy statystycznej istotności ( $\alpha = 0,115$ ) utrzymywał się wpływ biostymulatorów (Kelpak SL, Asahi SL) zaaplikowanych w formie zaprawy na powierzchnię asymilacyjną liści. Zaprawianie nasion gryki zarówno fitohormonami (Kelpak SL) jak i nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) zmniejszyło powierzchnię asymilacyjną liści w porównaniu do obiektu kontrolnego o 0,37 cm<sup>2</sup>.

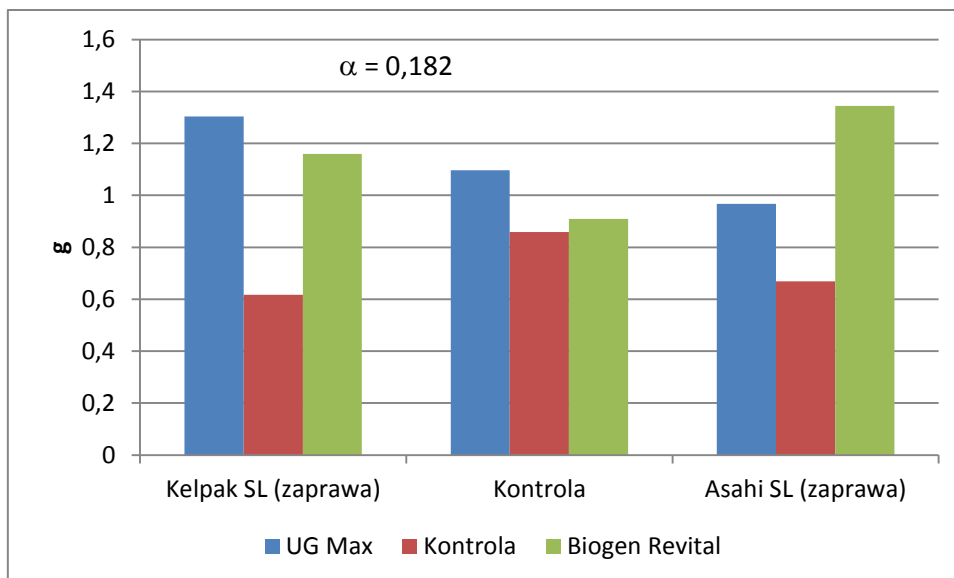
Analiza statystyczna potwierdziła istotność efektu liniowego dla źródła zmienności jakim było zaprawianie orzeszków gryki biostymulatorami na średnią liczbę liści gryki. Rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych fitohormonami (cytokininy i auksyny) pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) posiadały większą średnią liczbę liści na roślinie w porównaniu do tego parametru wyznaczonego na obiekcie kontrolnym o 0,09 szt. jak i w porównaniu z roślinami wyrosłymi z orzeszków zaprawionych naturalnymi roślinnymi nitrofenolami (Asahi SL) o 0,42 szt. Na uwagę zasługuje wpływ użyźniaczy gleby o charakterze tendencji ( $\alpha=0,106$ ) na średnią liczbę liści na roślinie. Zastosowanie preparatów UG Max oraz Biogen Revital Max Pro zmniejszyło średnią liczbę liści na roślinie w stosunku do tego parametru wyznaczonego dla obiektu kontrolnego o 0,34 szt.



Tabela 11. Wpływ badanych czynników na budowę morfologiczną młodocianych roślin gryki

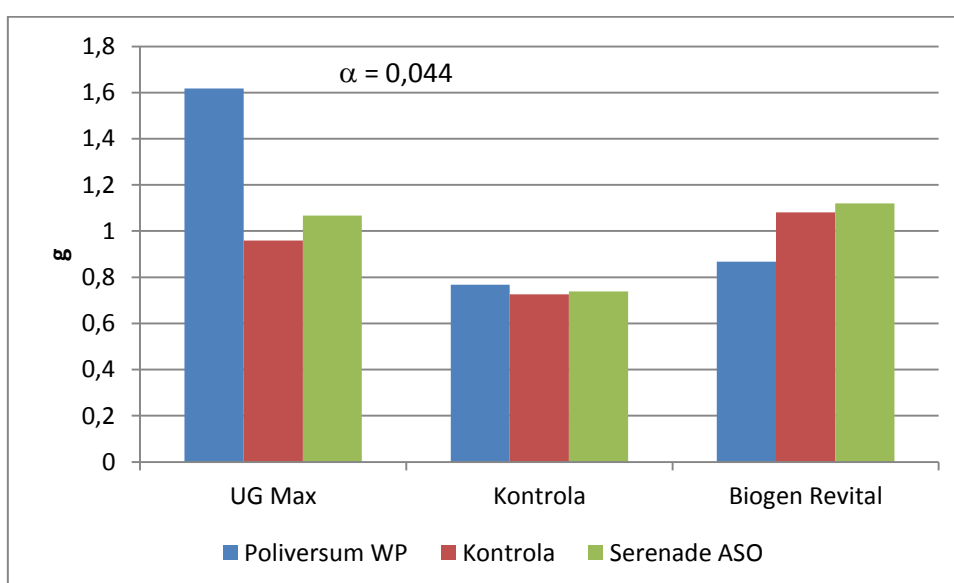
| Czynnik                                              | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|------------------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                                      | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Masa rośliny [g]                                     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                              | 1,826           | 2,064  | 1,968  | 0,223                        | 0,965        |
| Zaprawa biologiczna                                  | 2,053           | 1,933  | 2,031  | 0,891                        | 0,086        |
| Użyźniacz glebowy                                    | 2,426           | 1,701  | 2,167  | 0,478                        | 0,008        |
| Masa liści z rośliny [g]                             |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                              | 0,863           | 0,937  | 0,864  | 0,675                        | 0,925        |
| Zaprawa biologiczna                                  | 0,957           | 0,886  | 0,880  | 0,483                        | 0,050        |
| Użyźniacz glebowy                                    | 1,112           | 0,741  | 1,046  | 0,766                        | 0,002        |
| Udział procentowy masy liści w masie rośliny [%]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                              | 46,10           | 45,16  | 43,48  | 0,083                        | 0,898        |
| Zaprawa biologiczna                                  | 45,32           | 45,45  | 43,62  | 0,383                        | 0,496        |
| Użyźniacz glebowy                                    | 45,82           | 43,40  | 47,63  | 0,424                        | 0,106        |
| Wysokość rośliny [cm]                                |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                              | 5,1             | 5,3    | 5,1    | 0,890                        | 0,577        |
| Zaprawa biologiczna                                  | 5,1             | 5,2    | 5,2    | 0,799                        | 0,985        |
| Użyźniacz glebowy                                    | 5,2             | 5,1    | 5,5    | 0,252                        | 0,574        |
| Powierzchnia asymilacyjna rośliny [cm <sup>2</sup> ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                              | 27,22           | 29,44  | 25,97  | 0,313                        | 0,039        |
| Zaprawa biologiczna                                  | 27,61           | 27,13  | 30,66  | 0,235                        | 0,635        |
| Użyźniacz glebowy                                    | 26,94           | 29,43  | 26,27  | 0,684                        | 0,252        |
| Powierzchnia asymilacyjna liścia [cm <sup>2</sup> ]  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                              | 5,314           | 5,742  | 5,422  | 0,951                        | 0,115        |
| Zaprawa biologiczna                                  | 5,486           | 5,422  | 5,954  | 0,238                        | 0,982        |
| Użyźniacz glebowy                                    | 5,528           | 5,672  | 5,360  | 0,524                        | 0,719        |
| Średnia liczba liści na roślinie [szt.]              |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                              | 5,128           | 5,034  | 4,710  | 0,049                        | 0,292        |
| Zaprawa biologiczna                                  | 4,980           | 4,933  | 5,080  | 0,813                        | 0,379        |
| Użyźniacz glebowy                                    | 4,750           | 5,142  | 4,851  | 0,628                        | 0,106        |

Bliski statystycznej istotności, co można określić mianem tendencji, był wpływ interakcji biostymulator (zastosowany w formie zaprawy) x użyźniacz gleby na średnią masę liści młodocianej rośliny gryki. Rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) zwiększyły masę liści po aplikacji użyźniacza gleby Biogen Revital o 0,38 g. Depresyjne oddziaływanie zaprawiania nasion biostymulatorami na masę liści z rośliny można było zniwelować poprzez zastosowanie któregośkolwiek z użyźniaczy gleby, bowiem w każdym przypadku obserwowano wzrost wartości tego parametru (Rysunek 40).



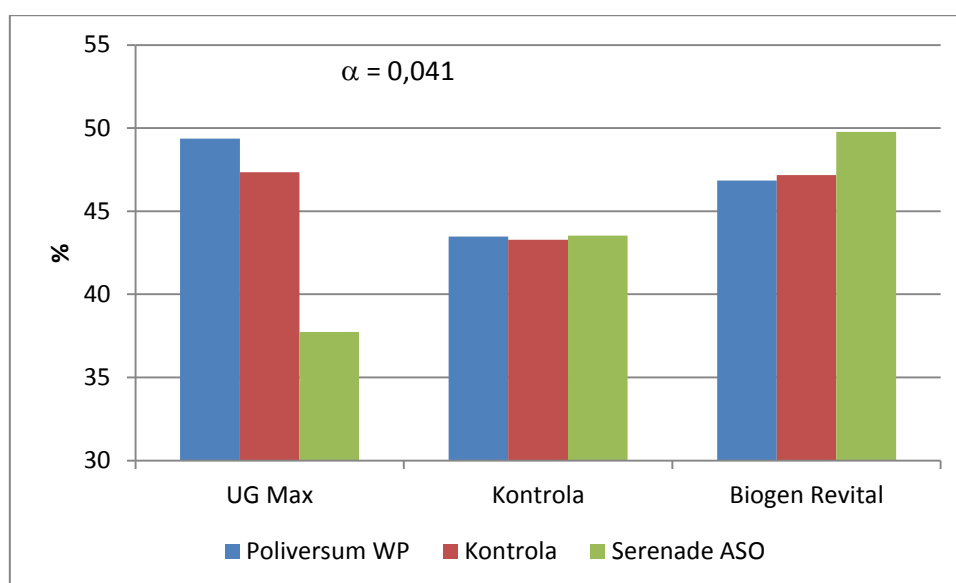
Rysunek 40. Kształtowanie się średniej masy liści na młodocianej roślinie w zależności od zastosowanych biostymulatorów jako zaprawy oraz użyźniaczy gleby

Zaobserwowano statystycznie istotny wpływ interakcji użyźniacz gleby x zaprawa biologiczna na średnią masę liści młodocianej rośliny gryki. Masa liści młodocianej rośliny wyrosłej z nasion zaprawionych oosporami grzyba *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) była wyraźnie większa od stwierdzonej u roślin wyrosłych po zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max od wartości tego parametru stwierdzonych dla innych kombinacji. Zaprawy biologiczne nie modyfikowały tego parametru, jeśli nie stosowano użyźniaczy gleby (Rysunek 41).



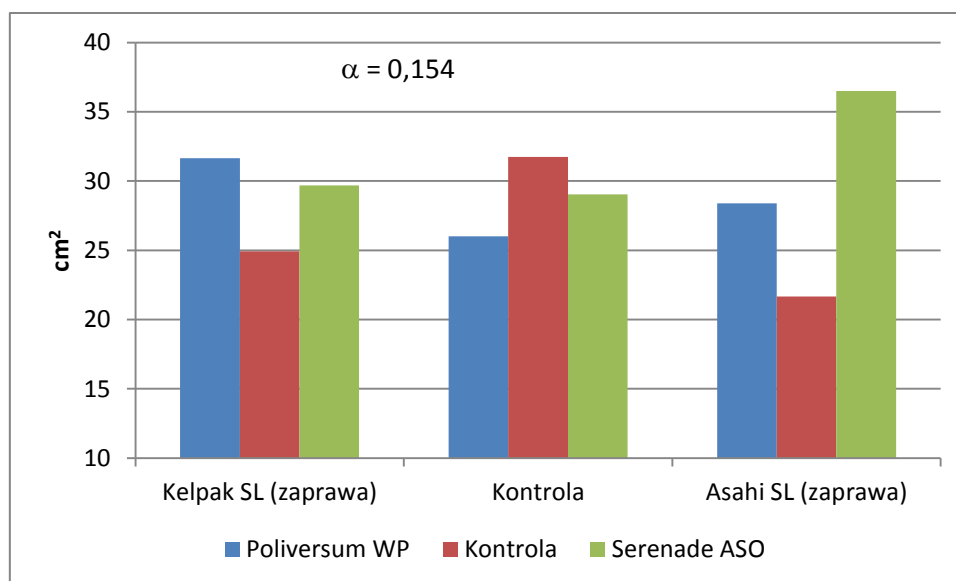
Rysunek 41. Kształtowanie się średniej masy liści na młodocianej roślinie w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych oraz użyźniaczy gleby

Udział masy liści w masie młodocianej rośliny gryki podlegał istotnemu wpływowi interakcji czynników zaprawa biologiczna oraz użyźniacz gleby. Warto podkreślić, że zaprawienie nasion gryki oosporami *Pythium oligandrum*, a następnie aplikacja użyźniacza gleby UG Max zwiększyła procentowy udział liści w masie rośliny, natomiast zaprawienie nasion gryki *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) a następnie zastosowanie tego samego użyźniacza gleby spowodowało wyraźne zmniejszenie udziału liści w masie młodocianej rośliny gryki. Zaobserwowano również korzystne oddziaływanie na tą cechę kombinacji użyźniacza Biogen Revital z Serenade ASO jako zaprawą (Rysunek 42).



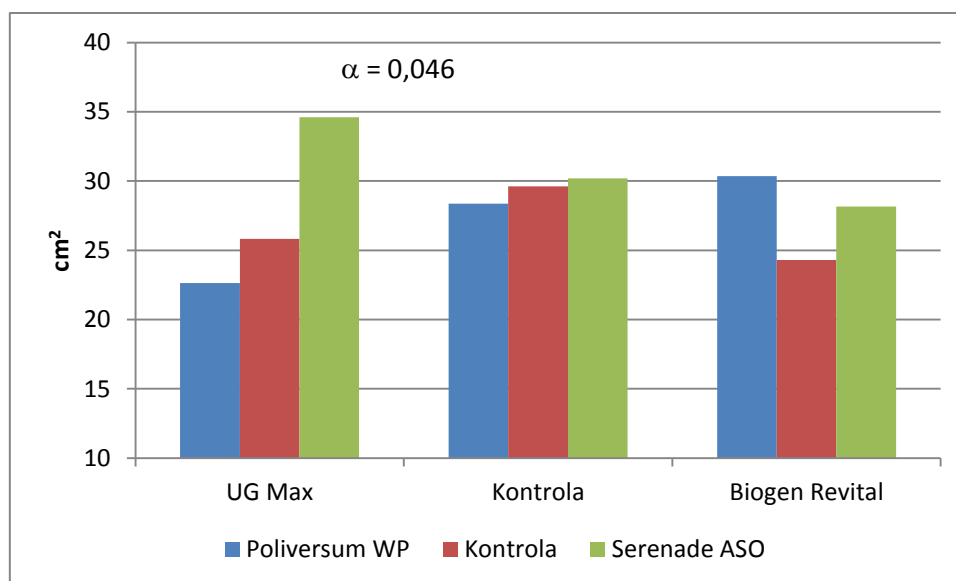
Rysunek 42. Kształtowanie się średniego udziału masy liści w masie młodocianej rośliny w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych oraz użyźniaczy gleby

Mianem tendencji można określić wpływ interakcji biostymulator zastosowany jako zaprawa x zaprawa biologiczna na wielkość powierzchni asymilacyjnej liści młodocianej rośliny gryki. Wśród obiektów na których nie zaprawiano nasion biostymulatorami zastosowanie zapraw skutkowało niewielkim zmniejszeniem wartości analizowanego parametru. Natomiast na obiektach, na których zaprawiano nasiona biostymulatorami dodatkowe wprowadzenie zapraw skutkowało zwiększeniem średniej powierzchni asymilacyjnej młodocianej rośliny gryki. Największy wzrost zaobserwowano po zaprawieniu nasion preparatem Serenade ASO w kombinacji z biostymulatorem Asahi SL (Rysunek 43).



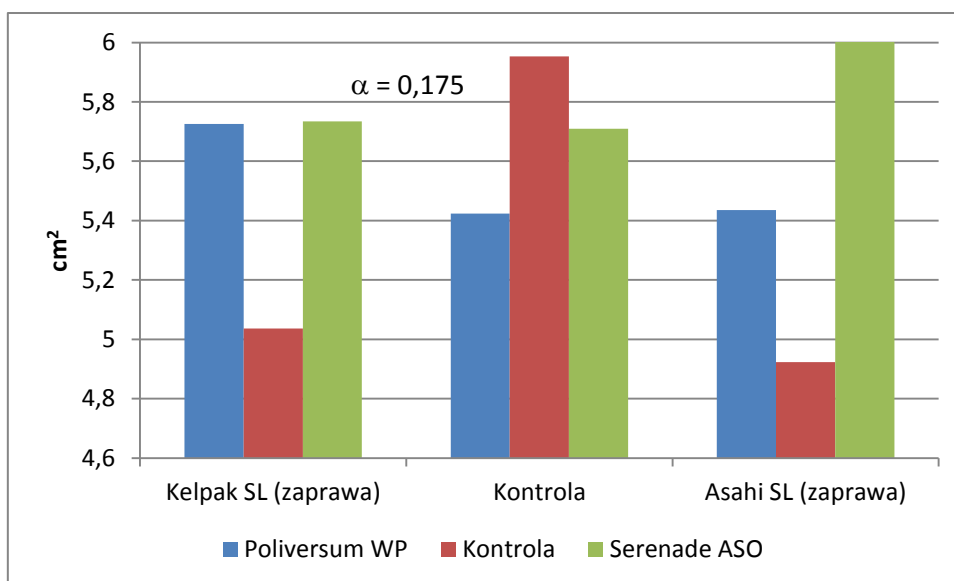
Rysunek 43. Kształtowanie się średniej powierzchni asymilacyjnej liści młodocianej rośliny w zależności od zastosowanych biostymulatorów jako zaprawy oraz zapraw biologicznych

Również powierzchnia asymilacyjna liści młodocianej rośliny gryki była modyfikowana przez istotną interakcję czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby. Powierzchnia asymilacyjna liści roślin była największą po zastosowaniu preparatu UG Max i zaprawieniu nasion preparatem Serenade ASO. Kombinacja tego samego użyźniacza gleby z preparatem Polyversum WP powodowała wyraźne zmniejszenie wartości omawianego parametru. Po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital zaprawienie nasion którejkolwiek z zapraw powodowało wzrost powierzchni asymilacyjnej liści młodocianej rośliny gryki (Rysunek 44).



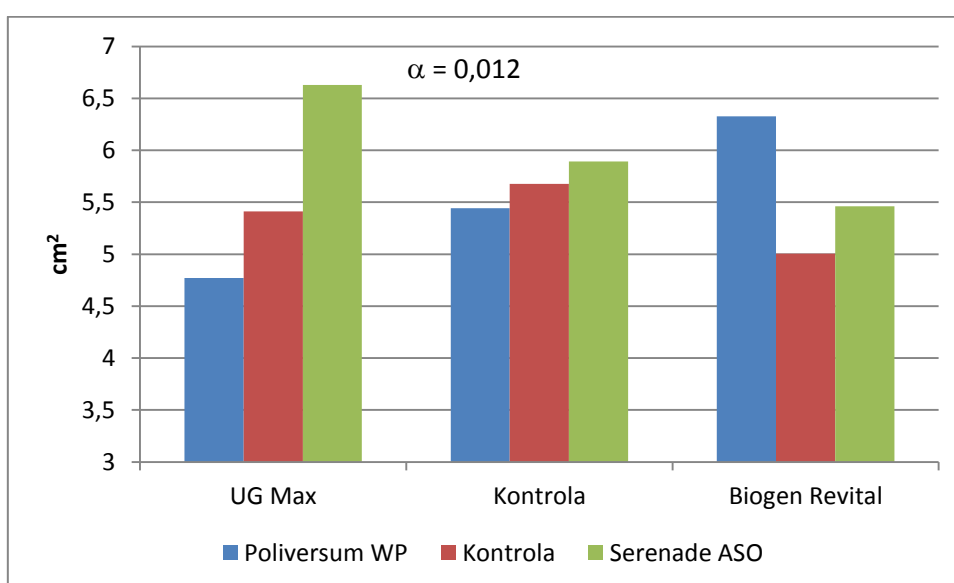
Rysunek 44. Kształtowanie się średniej powierzchni asymilacyjnej liści młodocianej rośliny w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby oraz zapraw biologicznych

Powierzchnia asymilacyjna liści młodocianej rośliny gryki była bliska statystycznie istotnego wpływu interakcji biostymulator zastosowany jako zaprawa x zaprawa biologiczna. Największą powierzchnię asymilacyjną liści stwierdzono po zaprawieniu nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) w kombinacji z nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL). Wśród obiektów, na których wysiewano materiał siewny niezaprawiony biostymulatorami, największą powierzchnią asymilacyjną liści cechowały się rośliny wyrosłe na obiekcie, na którym nie stosowano zapraw biologicznych. Natomiast na obiektach, na których zaprawiono nasiona którymkolwiek biostymulatorem (Kelpak SL, Asahi SL) dodatkowe zastosowanie zaprawy nasiennej (Polyversum WP, Serenade ASO) skutkowało wzrostem wartości omawianego parametru (Rysunek 45).



Rysunek 45. Kształtowanie się średniej powierzchni asymilacyjnej liścia młodocianej rośliny w zależności od zastosowanych biostymulatorów jako zaprawy oraz zapraw biologicznych

Ostatnią z analizowanych interakcji jest wpływ zastosowanych kombinacji użyźniaczy gleby z zaprawami biologicznymi na powierzchnię asymilacyjną liści młodocianej rośliny gryki. Największą powierzchnię asymilacyjną liści zaobserwowano w wyniku stosowania kombinacji użyźniacza gleby UG Max i zaprawiania nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* (Serenade ASO), natomiast kombinacja UG Max i Polyversum WP powodowała zmniejszenie wartości tego parametru. Użyźniacz gleby Biogen Revital pozwalał na wykształcenie największej powierzchni asymilacyjnej młodocianych roślin gryki po zaprawieniu nasion preparatem Polyversum WP (Rysunek 46).



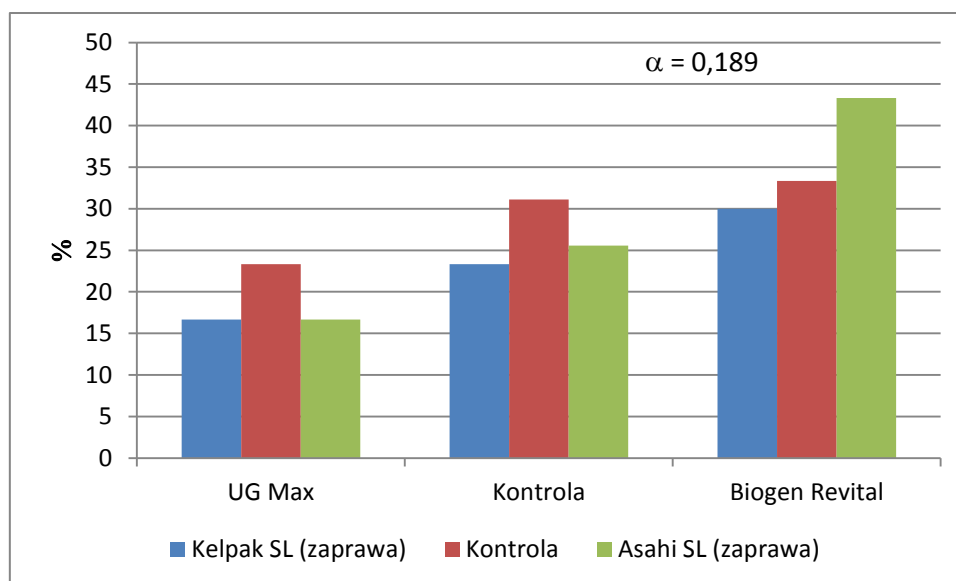
Rysunek 46. Kształtowanie się średniej powierzchni asymilacyjnej liścia młodocianej rośliny w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby oraz zapraw biologicznych

W warunkach polowych zdrowotność młodocianych roślin gryki była modyfikowana poprzez badane czynniki eksperymentalne. Stwierdzone poziomy istotności wskazują na statystyczne udokumentowanie wpływu czynników lub na wskazanie wyraźnych tendencji statystycznych. Zaobserwowano wyraźny wpływ stosowania biostymulatorów jako zapraw na częstotliwość występowania zgorzeli siewek. Biostymulatory wyraźnie obniżają częstotliwość pojawiania się objawów, a szczególnie czyni to preparat Kelpak SL. Efekty liniowe wskazują również na zmniejszenie częstotliwości występowania zgorzeli po zastosowaniu zaprawy Polyversum WP oraz użyźniacza UG Max. W przypadku częstotliwości występowania zgnilizn i zgorzeli korzeni omówione wyżej wpływy są jeszcze bardziej spektakularne (Tabela 12).

Tabela 12. Kształtowanie się nasilenia zgorzeli i zgnilizn siewek i korzeni pod wpływem badanych czynników

| Czynnik                                           | Poziomy czynnika |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------------------------------|------------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                                   | Niski            | Średni | Wysoki | Liniowego                    | Kwadratowego |
| Zgorzel siewek [%]                                |                  |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                           | 23,33            | 33,70  | 30,66  | 0,021                        | 0,003        |
| Zaprawa biologiczna                               | 27,33            | 31,11  | 31,33  | 0,184                        | 0,218        |
| Użyźniacz glebowy                                 | 29,33            | 28,51  | 34,00  | 0,124                        | 0,515        |
| Zgnilizny i zgorzele korzeni i podstawy łodyg [%] |                  |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                           | 23,33            | 29,26  | 27,33  | 0,212                        | 0,034        |
| Zaprawa biologiczna                               | 22,67            | 28,51  | 29,33  | 0,044                        | 0,120        |
| Użyźniacz glebowy                                 | 20,66            | 26,66  | 34,66  | 0,000                        | 0,542        |

Nasilenie zgorzeli siewek było kształtowane przez interakcję czynników biostymulator jako zaprawa x użyźniacz gleby. W obecności użyźniacza gleby UG Max wysiew nasion zaprawionych biostymulatorami skutkowało zmniejszeniem nasilenia zgorzeli korzeni młodocianych roślin gryki. Natomiast rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych preparatem Asahi SL w obecności użyźniacza Biogen Revital wykazywały ponad dwukrotnie większe nasilenie występowania zgorzeli i zgnilizn korzeni (Rysunek 47).



Rysunek 47. Kształtowanie się nasilenia zgorzeli i zgnilizn korzeni pod wpływem zaprawiania nasion biopreparatami i stosowania użyźniaczy gleby

## Podsumowanie

Próbując określać zalecenia agrotechniczne dotyczące wpływu analizowanych preparatów biologicznych na podstawie jednego sezonu wegetacyjnego należy mieć świadomość braku uwzględnienia zmienności warunków atmosferycznych. W roku badań poprzedzającym omawiane stwierdzono negatywny wpływ biostymulatorów (Asahi SL, Kelpak SL) oraz nieznaczny depresyjny wpływ zapraw biologicznych (Serenade ASO, Polyversum WP) na połowę zdolność wschodów. W prezentowanych badaniach również odnotowano negatywny wpływ biostymulatora Asahi SL na połowę zdolność wschodów. Jednak zaprawienie nasion preparatem Kelpak SL wpłynęło na poprawę połowej zdolności wschodów gryki. Podobny wpływ zapraw biologicznych na połowę zdolność wschodów zaobserwowano w roku poprzednim. Natomiast mniejsze obsady roślin były rekompensowane przez pozytywny wpływ zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby, stosowanych zarówno indywidualnie jak i w ich wzajemnej kombinacji, na masę młodziących roślin gryki. Z agrotechnicznego punktu widzenia to zjawisko sprzyjało kształtowaniu się prawidłowej architektury łanu gryki. Na ograniczenie spadku obsady roślin pozytywnie wpłynęło stosowanie użyźniaczy gleby UG Max i Biogen Revital Max Pro. Jednak zasadniczo stwierdzono brak takiego oddziaływania po zastosowaniu zapraw biologicznych i biostymulatorów.

Oceniając wpływ badanych preparatów biologicznych na cechy morfologiczne młodziących roślin gryki należy stwierdzić, że był on jednoznacznie pozytywny. Wśród



biostymulatorów najkorzystniej na morfologię roślin wpłynął preparat Asahi SL. Należy również zaznaczyć, że podobny efekt odnotowano w poprzednim roku prowadzenia eksperymentu polowego. Warto podkreślić fakt pozytywnego wpływ użyźniaczy gleby, jak również ich kombinacji z preparatami Serenade ASO i Polyversum WP na morfologię młodości roślin gryki. Sformułowania te znajdują potwierdzenie w wyżej opisanych wpływach na masę rośliny, jej wysokość oraz liczebność liści.

### **PODZADANIE 3. Poprawa dynamiki rozwoju roślin gryki oraz poprawa jakości surowców (liści i orzeszków)**

**Cele szczegółowe podzadania trzeciego zrealizowane zostały w oparciu o następujące działania:**

1. Określenie parametrów biometrycznych i fizjologicznych łanu gryki w wybranych dwóch fazach rozwojowych (pąkowanie BBCH 50-59 i pełnia kwitnienia BBCH 60-69). Zostaną wykonane pomiary wskaźników wegetacyjnych; GAI, NDVI, wybrane parametry fotosyntezy oraz kinetyki fluorescencji chlorofilu. Indeks zielonej powierzchni asymilacyjnej (GAI) łanu zmierzony zostanie za pomocą urządzenia Sunscan System firmy Delta-T®, indeks zieleni (NDVI) urządzeniem GreenSeeker firmy N-tech®, parametry fotosyntezy urządzeniem LCI-SD Ultra Compact Photosynthesis System, firmy ADC BioScientificLtd®. Fluorescencja chlorofilu określona będzie fluorymetrem Handy PEA (Hansatech, Kings Lynn, UK).
2. Określenie zdrowotności liści i podstawy łodygi w fazie BBCH 60-69 na 25 losowo wybranych roślinach z poletka (procentowy udział roślin porażonych przez: *Peronospora ducometi*, *Erysiphe polygoni*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, kompleks grzybów powodujących plamistość liści i łodyg: *Alternaria spp.*, *Bipolaris sorokiniana*, *Cercospora spp.*, *Phyllosticta polygonum*, *Ramularia spp.* oraz kompleks grzybów powodujących zgniliznę korzeni i podstawy łodygi: *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.*, *Pythium spp.*, *Sclerotinia spp.* Ocena mykologiczna orzeszków pochodzących z każdej kombinacji doświadczenia polowego wykonana będzie klasyczną metodą fitopatologiczną. Zostanie przeprowadzona analiza ilościowa CFU, a dominujące gatunki grzybów wyosobnionych z nasion przekazane będą do identyfikacji metodą molekularną. Pobór orzeszków do oceny po zakończeniu fazy BBCH 98 – okres spoczynku.
3. W ziele i orzeszkach gryki oznaczone zostaną: podstawowy skład chemiczny (sucha masa, białko ogółem, białko właściwe, włókno surowe, ekstrakt eterowy, popiół surowy, węglowodany ogółem), frakcje włókna, fosfor, potas, wapń, sód, magnez, cynk, żelazo,

miedź, molibden, mangan, ołów, kadm i nikiel, kwasy organiczne, flawonoidy, polifenole, antocyjany, aktywność antyoksydacyjna metodą FRAP, DPPH i PCL, polifenole TPC oraz aktywność antyoksydacyjna frakcji hydrofilowej (WCL) i lipofilowej (ACL).

#### **Oczekiwane rezultaty to:**

1. Wskazanie najlepszego wariantu stosowanych biopreparatów do zaprawiania nasion i opryskiwania łąnu gryki w kontekście możliwości kształtowania produkcyjności m.in. przez ograniczanie stresów siedliskowych.
2. Określenie wpływu porażenia przez patogeny na jakość surowców gryki (liści i orzeszków).

#### **Oczekiwane efekty to:**

1. Szybki i dynamiczny rozwój łąnu gryki skutkujący wzrostem plonu surowca.
2. Lepsza zdrowotność roślin w łąnie, skutkująca lepszą jakością surowców (liści i orzeszków).
3. Opracowanie zaleceń stosowania biopreparatów w ekologicznej uprawie gryki.

#### **Materiał i metody**

Określenie parametrów biometrycznych i fizjologicznych łąnu gryki (pomiar wskaźników wegetacyjnych; GAI, NDVI, wybrane parametry fotosyntezy oraz kinetyki fluorescencji chlorofilu) w wybranych fazach rozwojowych zostało zrealizowane w oparciu o eksperyment polowy, którego założenia zostały szczegółowo opisane w części dotyczącej metodyki podzadania drugiego. Pomiarów wykonano 28-go czerwca (50-59 BBCH – pąkowanie), 4-go lipca (60 BBCH – początek kwitnienia) i 14-go lipca (65 BBCH – pełnia kwitnienia) 2017 roku.

Pomiar parametrów fluorescencji chlorofilu a został wykonany przy użyciu fluorymetru Handy PEA (Hansatech, Kings Lynn, UK). Liście zostały zacienione klipsami na czas około 20 minut, w celu wygaszenia reakcji fazy świetlnej fotosyntezy i całkowitego zredukowania centrów reakcji obydwóch fotosystemów. Następnie wykonano pomiar, który był inicjowany poprzez oświetlenie liścia światłem wysycającym ( $3100 \mu\text{mol (kwantów)} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , czas oświetlenia 1s). Dla każdego obiektu doświadczalnego wykonano pomiar na środkowej części czwartego, najmłodszego liścia dziesięciu losowo wybranych roślin w trzech powtórzeniach. Pomiarów wykonano dwukrotnie: 4-go lipca (60 BBCH – początek kwitnienia) i 14-go lipca (65 BBCH – pełnia kwitnienia) 2017 roku.

Pomiary parametrów wymiany gazowej związanych z fotosyntezą wykonano przenośnym analizatorem LCI-SD Ultra Compact Photosynthesis System (ADC BioScientific

Ltd®, UK). Dla każdego obiektu doświadczalnego wykonano pomiar na środkowej części czwartego, najmłodszego liścia pięciu losowo wybranych roślin w trzech powtórzeniach. Pomiary wykonano dwukrotnie: w fazie pąkowania gryki BBCH 50-59 i pełni kwitnienia BBCH 60-69. Pomiarów dokonano: 14-go lipca (65 BBCH – pełnia kwitnienia) i 24-go lipca (70 BBCH – początek zawiązywania orzeszków) 2017 roku.

Indeks zielonej powierzchni asymilacyjnej łąnu zmierzony został za pomocą urządzenia Sunscan System firmy Delta-T®, indeks zieleni (NDVI) urządzeniem GreenSeeker firmy N-tech®. Zawartość chlorofilu w liściach gryki oznaczono za pomocą urządzenia Chlorophyll Master Spad 502 firmy Minolta. Opis ścisłego eksperymentu polowego, na którego obiektach wykonywano wyżej wyszczególnione pomiary zamieszczono w metodyce podzadania drugiego. Pomiarów dokonano: 28-go czerwca (50-59 BBCH– pąkowanie), 4-go lipca (60 BBCH – początek kwitnienia) i 14-go lipca (65 BBCH – pełnia kwitnienia) 2017 roku.

W eksperymencie polowym w pełni kwitnienia (BBCH 60-69) na 25 roślinach losowo wybranych z poletka dokonano oceny stanu zdrowotnego gryki (liści, korzeni i podstawy łodyg). Występowanie poszczególnych chorób grzybowych wyrażono procentowym udziałem. Analizowano występowanie następujących chorób: mączniaka rzekomego (*Peronospora ducometi*), szarej pleśni (*Botrytis cinereae*), plamistości liści i podstawy łodyg ( *Alternaria* spp., *Bipolaris sorokiniana*, *Phyllostica polygonarum* i inne), zgnilizny korzeniowej (*Fusarium* spp. i inne gatunki grzybów).

W laboratorium Katedry Ochrony Środowiska Rolniczego przeprowadzono izolację i częściową identyfikację grzybów zasiedlających porażone organy gryki: kielki (korzenie i liścienie), liście, korzenie, orzeszki. Laboratoryjną ocenę mikologiczną gryki wykonano bezpośrednio po przeprowadzonej obserwacji zdrowotności. Do laboratorium przewożono pobrany, porażony materiał roślinny, który oczyszczono powierzchniowo pod bieżącą wodą. Z pogranicza tkanki zdrowej i chorej liści (korzeni) wycinano fragmenty łącznie uzyskując ich 150 sztuk z każdej kombinacji. Rozdrobniony materiał odkażano przez 30 sekund w 50% alkoholu etylowym i trzykrotnie opłukiwano w sterylnej wodzie destylowanej, osuszano na jałowej gazie i wykładano po 10 szt. na podłoże PDA (Potato Dextrose Agar) w płytkach Petriego o średnicy 150mm. Podobnie postępowano z nasionami, przy czym ocenę zbiorowisk grzybów zasiedlających orzeszki gryki wykonano na 200 sztukach, zebranych w fazie dojrzałości pełnej i losowo pobranych z każdej kombinacji. Hodowlę grzybów prowadzono w komorze klimatyzacyjnej przez 10 dni w temperaturze 23°C i przy 12 godzinnyim cyklu oświetlenia. Pojawiające się kolonie grzybów sukcesywnie odszczepiano

na skosy agarowe. Następnie dokonano obserwacji makro- i mikroskopowych na podstawie, których grzyby identyfikowano do gatunku posługując się kluczami mikologicznymi i opracowaniami monograficznymi (Pidopliczko, 1978; Domsch et al., 1980; Cook, 1981; Nelson et al., 1983; Ellis i Ellis 1978, Kwaśna, 1991; Marcinkowska, 2003).

Izolaty grzybów identyfikowano również metodą spektroskopii masowej (MALDI TOF MS) z użyciem desorpcji/ionizacji laserowej wspomaganej matrycą z analizatorem czasu przelotu w Laboratorium Diagnostyki Mikrobiologicznej Jagiellońskiego Centrum Innowacji.

Wysuszone liście i orzeszki gryki zmielono w młynku laboratoryjnym Knifetec 1095 (Foss Tecator, Szwecja). Podstawowy skład chemiczny oznaczono metodami standardowymi wg AOAC (2012). W celu oznaczenia suchej masy próby suszono w temperaturze 105 °C do uzyskania stałej masy. Tłuszcz surowy oznaczono za pomocą eteru dietylowego metodą Soxhleta, popiół surowy – poprzez spalenie w piecu muflowym w temperaturze 580 °C przez 8 h, białko ogółem ( $N \times 6,25$ ) określono metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Büchi B-324, włókno surowe oznaczono na aparacie Ankom220 Fiber Analyzer (ANKOM Technology, Macedon New York, USA). Zawartość węglowodanów ogółem oszacowano z tzw. „różnicy” wg schematu: węglowodany ogółem = 100 – (woda + białko + tłuszcz + popiół surowy).

Zawartość frakcji włókna oznaczano zgodnie z metodą Van Soest’a i in. (1991). Metoda ta różnicuje skład włókna na frakcje: neutralnodetergentowe (NDF, neutral detergent fibre), kwaśnodetergentowe (ADF, acid detergent fibre), celulozy (CEL, cellulose), hemicelulozy (HCEL, hemicellulose) i ligniny (ADL, acid detergent lignin). Pomiarów wykonywano w aparacie Ankom220. Włókno neutralnodetergentowe (NDF), odpowiadające sumie hemiceluloz, celulozy i ligniny, oznaczono przy użyciu siarczanu sodowo-laurylowego, zaś kwaśnodetergentowe (ADF), w którego skład wchodzi celuloza i lignina, używając bromek cetylo-trójmetylo-amoniowy. Zawartość ligniny (ADL) określono po hydrolizie próbki ADF w 72% kwasie siarkowym, natomiast hemicelulozy (HCEL) wyliczono z różnicy zawartości NDF i ADF, a celulozę (CEL) z różnicy między ADF i ADL.

Materiał do analiz makroelementów poddano mineralizacji w stężonych kwasach: siarkowym ( $H_2SO_4$ ) i nadchlorowym ( $HClO_4$ ). Natomiast materiał do oznaczenia koncentracji mikroskładników - mineralizacji w mieszaninie: kwasu azotowego ( $HNO_3$ ) i kwasu nadchlorowego ( $HClO_4$ ). Zawartość fosforu oznaczono metodą kolorymetryczną za pomocą spektrofotometru Specol 11 (Carl Zeiss). Z wykorzystaniem atomizera AtomiciCE 3000 (Thermo Fisher Scientific) oznaczono zawartości: potasu, wapnia i sodu – metodą fotometryczną oraz magnezu, cynku, żelaza, miedzi, molibdenu, manganu, ołowiu, kadmu i niklu – metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej.

Metodyka oznaczania potencjału antyoksydacyjnego (FRAP, DPPH, ACW, ACL) całkowitej zawartości związków polifenolowych, profil polifenoli, flawonoidów i antocyjanów oraz zawartości kwasów organicznych została zamieszczona w podzadaniu drugim i jest obowiązująca w tymże, trzecim podzadaniu.

## Wyniki i ich omówienie

Oceniając wysokość plonu należy go uznać za bardzo wysoki, jednak nie podlegał on istotnemu wpływowi żadnego z badanych czynników doświadczalnych. Natomiast liczba nasion na roślinie podlegała statystycznie istotnemu wpływowi czynnika jakim było stosowanie zapraw biologicznych (Tabela 13). Zaprawienie orzeszków gryki szczepem bakterii *Bacillus subtilis*, jak i oosporami grzyba *Pythium oligandrum* wpłynęło niekorzystnie na liczbę zawiązanych orzeszków na roślinie gryki, co potwierdza istotny efekt kwadratowy dla tego czynnika ( $\alpha=0,042$ ). Oznacza to, że zaprawienie wyżej wymienionymi mikroorganizmami zmniejszyło liczbę zawiązanych orzeszków o 6,8 szt. w porównaniu do obiektu kontrolnego. Utrzymujący się na granicy statystycznej istotności efekt kwadratowy wskazuje na zmniejszenie liczby nasion na roślinie gryki w wyniku zaprawienia nasion preparatami Kelpak SL i Asahi SL ( $\alpha=0,091$ ). Zaprawienie orzeszków gryki przed wysiewem auksynami oraz cytokininami oraz nitrofenolami roślinnymi zmniejszyło liczbę zawiązanych orzeszków na roślinie o 4,9 szt. w porównaniu do obiektu kontrolnego.

Masa tysiąca ziaren podlegała istotnemu wpływowi biostymulatora zastosowanego w formie oprysku. W wyniku nalistnego zastosowania fitohormonów (auksyny i cytokininy) pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) zaobserwowano wzrost masy tysiąca nasion o 1 g w porównaniu do obiektów na których zastosowano nalistnie nitrofenole roślinne (Asahi SL). Efekt liniowy bliski statystycznej istotności ( $\alpha= 0,066$ ) wskazuje na wyraźny wzrost masy tysiąca nasion w wyniku przedsięwziętego zaprawiania orzeszków gryki mikroorganizmami (Serenade ASO, Polyversum WP). Zaprawienie nasion przed wysiewem szczepem *Bacillus subtilis* (Serenade) zwiększyło masę tysiąca nasion w porównaniu do masy stwierdzonej po zaprawieniu nasion oosporami *Pythium oligandrum* (Polyversum) o 0,8g. Bakterie z rodzaju *Bacillus* należą do grupy bakterii denitryfikacyjnych. Może to oznaczać większą dostępność azotu przekładającą się na wzrost masy tysiąca nasion gryki. Również mianem tendencji można ( $\alpha= 0,177$ ) określić wpływ czynnika zaprawa biologiczna na średnią wysokość dojrzałych roślin. Przedsięwzięte zaprawienie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* zwiększyło wysokość dojrzałych roślin gryki o 5 cm w porównaniu do roślin

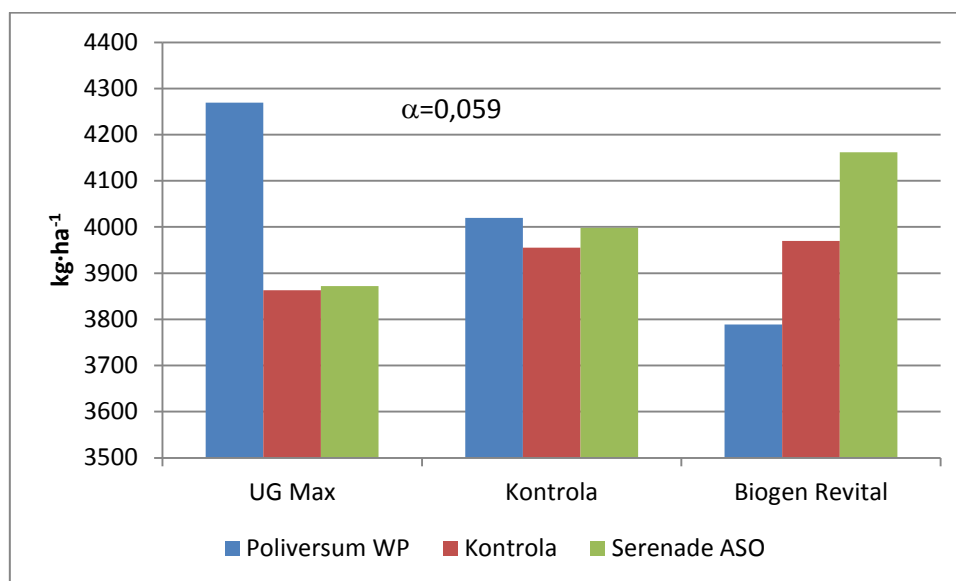
wyrosłych z nasion zaprawionych szczepem bakterii *Bacillus subtilis*. Zastosowanie w formie nalistnego oprysku biostymulatorów wpłynęło istotnie na liczbę rozgałęzień na roślinie. Nalistna aplikacja nitrofenoli roślinnych (Asahi SL) wpłynęła na wzrost liczby rozgałęzień na roślinie o 0,3 szt. w porównaniu do zastosowanych nalistnie fitohormonów (Kelpak SL).

Tabela 13. Wpływ badanych czynników na plonowanie, elementy składowe plonu oraz cechy morfologiczne roślin gryki

| Czynnik                                    | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|--------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                            | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Plon orzeszków [kg]                        |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                    | 4035            | 3934   | 3993   | 0,708                        | 0,199        |
| Zaprawa biologiczna                        | 4023            | 3935   | 4,004  | 0,869                        | 0,203        |
| Użyźniacz glebowy                          | 3932            | 3984   | 3972   | 0,727                        | 0,839        |
| Biostymulator (nalistnie)                  | 3928            | 3979   | 3987   | 0,600                        | 0,762        |
| Obsada przed zbiorem [szt·m <sup>2</sup> ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                    | 148,8           | 155,5  | 143,2  | 0,485                        | 0,464        |
| Zaprawa biologiczna                        | 153,7           | 151,3  | 148,8  | 0,551                        | 0,573        |
| Użyźniacz glebowy                          | 165,5           | 144,1  | 155,0  | 0,200                        | 0,009        |
| Biostymulator (nalistnie)                  | 154,0           | 150,5  | 150,7  | 0,680                        | 0,408        |
| Liczba nasion na roślinie [szt.]           |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                    | 64,58           | 64,91  | 56,03  | 0,198                        | 0,091        |
| Zaprawa biologiczna                        | 56,72           | 65,89  | 61,44  | 0,472                        | 0,042        |
| Użyźniacz glebowy                          | 61,82           | 61,55  | 67,20  | 0,413                        | 0,651        |
| Biostymulator (nalistnie)                  | 57,93           | 64,11  | 64,68  | 0,307                        | 0,160        |
| MTZ [g]                                    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                    | 24,07           | 23,80  | 24,10  | 0,938                        | 0,433        |
| Zaprawa biologiczna                        | 23,58           | 23,90  | 24,34  | 0,066                        | 0,874        |
| Użyźniacz glebowy                          | 24,08           | 23,98  | 23,64  | 0,290                        | 0,728        |
| Biostymulator (nalistnie)                  | 24,31           | 24,03  | 23,30  | 0,017                        | 0,525        |
| Wysokość [cm]                              |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                    | 109,1           | 108,3  | 105,0  | 0,262                        | 0,665        |
| Zaprawa biologiczna                        | 109,3           | 108,5  | 104,3  | 0,177                        | 0,559        |
| Użyźniacz glebowy                          | 109,9           | 106,3  | 109,4  | 0,887                        | 0,323        |
| Biostymulator (nalistnie)                  | 107,3           | 108,1  | 107,4  | 0,983                        | 0,779        |
| Liczba rozgałęzień [szt.]                  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                    | 1,742           | 1,627  | 1,750  | 0,944                        | 0,345        |
| Zaprawa biologiczna                        | 1,633           | 1,706  | 1,660  | 0,821                        | 0,475        |
| Użyźniacz glebowy                          | 1,549           | 1,721  | 1,706  | 0,192                        | 0,304        |
| Biostymulator (nalistnie)                  | 1,542           | 1,680  | 1,816  | 0,027                        | 0,858        |

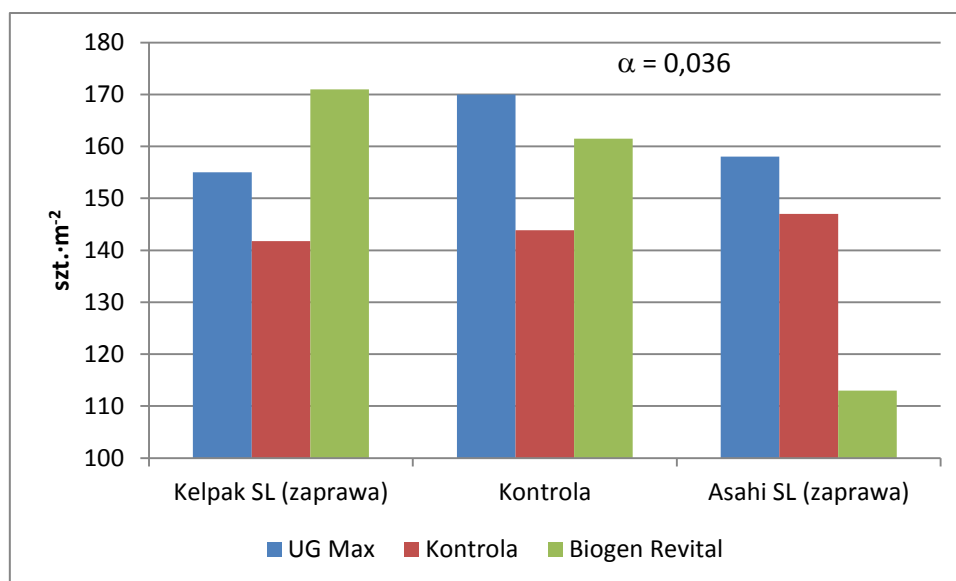
W przypadku plonu orzeszków gryki dowiedziono wpływu, bliskiego statystycznej istotności ( $\alpha = 0,059$ ), interakcji czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby. Zaprawienie przedsiewne nasion gryki oosporami grzyba *Pythium oligandrum*, a następnie zastosowanie użyźniacza gleby UG Max spowodowało wzrost plonu orzeszków gryki. Podobną reakcję zaobserwowano po zaprawieniu nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* i zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital. Natomiast zastosowanie użyźniacza gleby

Biogen Revital i wysiew nasion zaprawionych preparatem Polyversum WP skutkowało wyraźnym obniżeniem plonu nasion (Rysunek 48).



Rysunek 48. Kształtowanie się plonu orzeszków gryki pod wpływem zastosowanych preparatów biologicznych

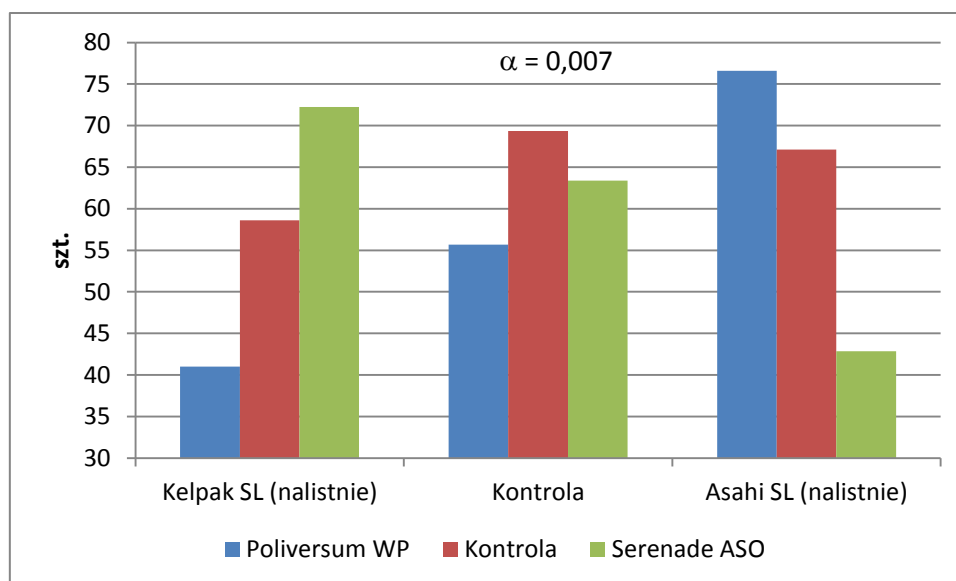
Obsada roślin gryki przed zbiorem modyfikowana była przez istotną statystycznie interakcję czynników biostymulator zastosowany w formie zaprawy x użyźniacz gleby. Zaprawienie nasion auksynami i cytokininami pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) wpłynęło na wzrost obsady roślin po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital. Natomiast na obiektach bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion stwierdzono wzrost obsady roślin po zastosowaniu zarówno preparatu UG Max jak i Biogen Revital. Na uwagę zasługuje również fakt, że zaprawienie przedsięwzięcia nasion nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) wpłynęło na wzrost obsady roślin po zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max (Rysunek 49).



Rysunek 49. Kształtowanie się przedzbiorowej obsady roślin gryki pod wpływem zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów jako zapraw

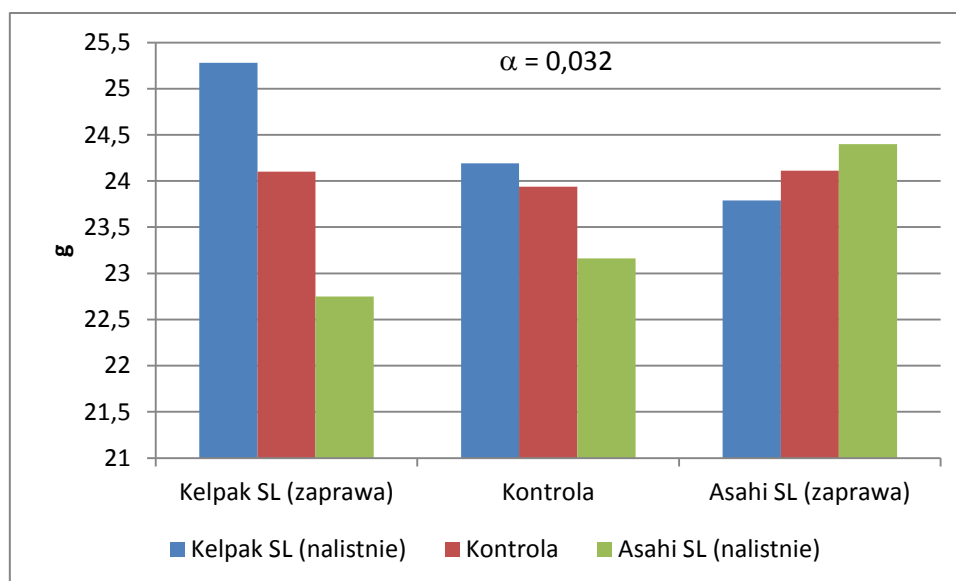
Liczba nasion na roślinie podlegała istotnemu wpływowi interakcji zaprawa biologiczna x biostymulator stosowany nalistnie. Na roślinach gryki wyrosłych z nasion zaprawionych szczepem *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) zaobserwowano wzrost liczby zawiązanych nasion po zastosowaniu nalistnie fitohormonów pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL). Natomiast zaprawienie nasion preparatem Serenade ASO i naniesienie preparatu Asahi SL w postaci oprysku spowodowało wyraźne zmniejszenie liczby nasion na roślinie gryki. Zaobserwowano również wzrost liczby zawiązanych orzeszków na roślinach wyrosłych z nasion zaprawionych oosporami grzyba *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) po zastosowaniu w formie nalistnej nitrofenoli roślinnych (Asahi SL) (Rysunek 50).





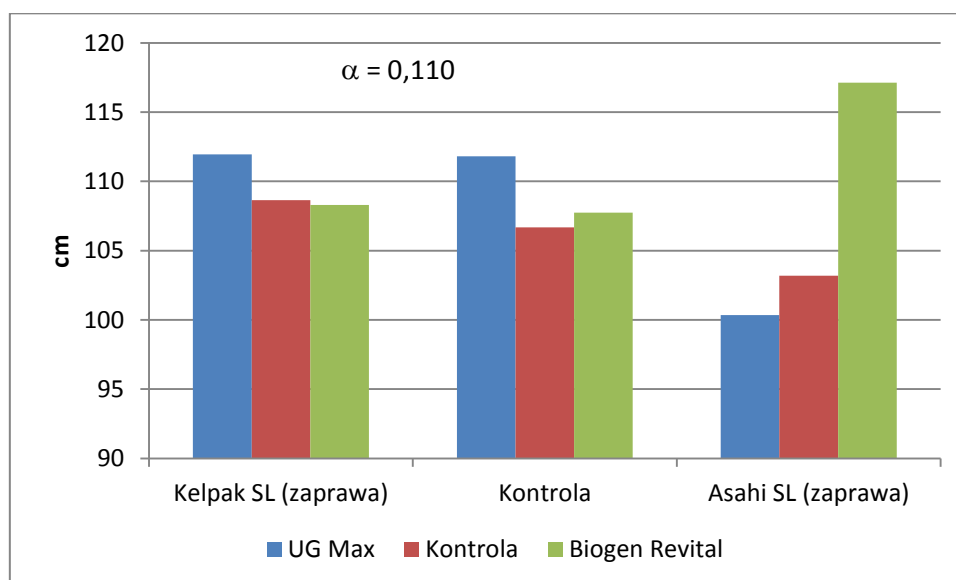
Rysunek 50. Kształtowanie się liczby nasion na roślinie gryki pod wpływem zastosowanych preparatów biologicznych i biostymulatorów jako zapraw

Natomiast masa tysiąca nasion podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników biostymulator stosowany jako zaprawa x biostymulator zastosowany w formie nalistnej. Zaprawienie nasion, a następnie zastosowanie w formie oprysku ekstraktem z alg *Ecklonia maxima* (auksyny i cytokininy) wpłynęło na wzrost masy tysiąca nasion, podobnie jak dwukrotne zastosowanie preparatu Asahi SL. Odmienną reakcję na masę tysiąca nasion zaobserwowano na obiektach, na których zastosowano nitrofenole roślinne w postaci oprysku nalistnego roślin uprzednio zaprawionych preparatem Kelpak SL. Masa tysiąca nasion ukształtowana na takich roślinach była znacząco mniejsza (Rysunek 51).



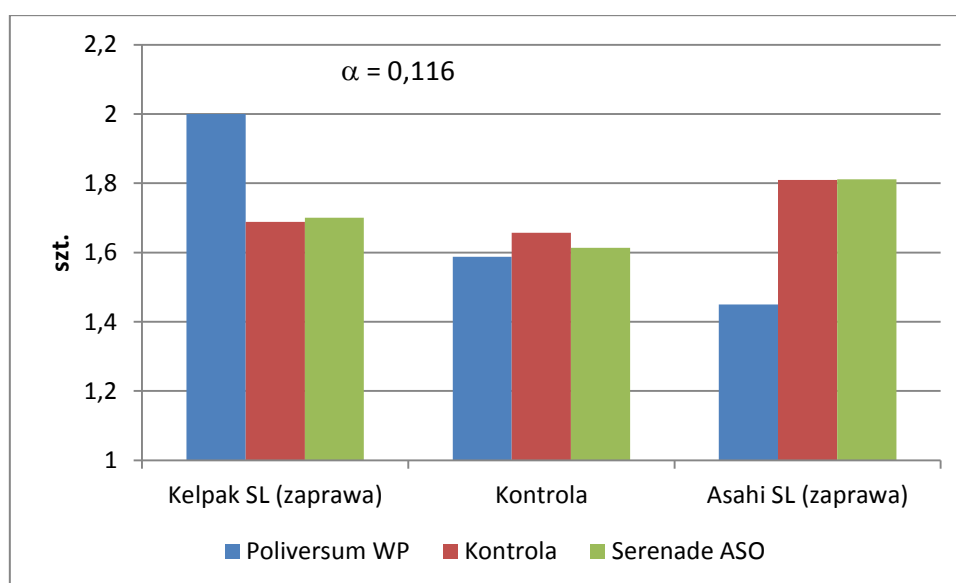
Rysunek 51. Kształtowanie się masy tysiąca nasion gryki pod wpływem różnych sposobów stosowania biostymulatorów

Bliski statystycznej istotności, co można określić mianem tendencji był wpływ interakcji biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby na wysokość roślin gryki ( $\alpha = 0,110$ ). Najwyższe rośliny wyrosły z nasion zaprawionych nitrofenolami (Asahi SL) zaobserwowano po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital. Natomiast na obiektach bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion jak i po zaprawieniu orzeszków gryki fitohormonami (Kelpak SL) zaobserwowano podobną reakcję roślin, a najwyższe osobniki stwierdzono po zastosowaniu użyźniacza UG Max (Rysunek 52).



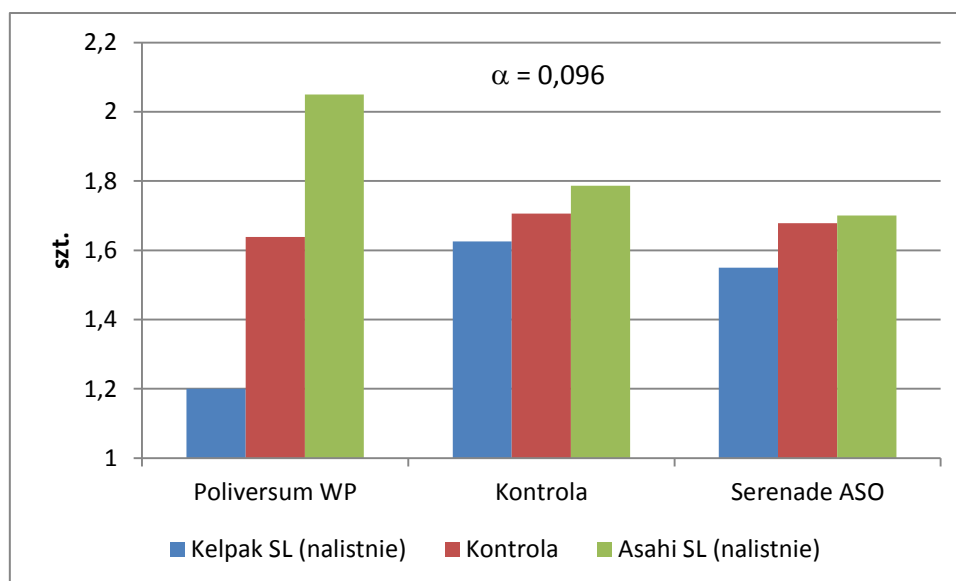
Rysunek 52. Kształtowanie się wysokości roślin gryki pod wpływem zastosowanych preparatów biologicznych i biostymulatorów jako zapraw

Mianem tendencji można również określić wpływ interakcji biostymulator zastosowany jako zaprawa x zaprawa biologiczna na liczbę rozgałęzień na roślinie. Na uwagę zasługuje wyraźny wzrost liczby rozgałęzień po zaprawieniu nasion auksynami i cytokininami pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) i oosporami grzyba *Pythium oligandrum* (Polyversum WP). Natomiast odmienną reakcję zaobserwowano na obiektach po zaprawieniu nasion zarówno nitrofenolami roślinnymi, jak i szczepem bakterii *Bacillus subtilis*. Na tych obiektach, jak i na obiekcie kontrolnym stwierdzono podobną liczbę rozgałęzień na roślinie (Rysunek 53).



Rysunek 53. Kształtowanie się liczby rozgałęzień na roślinie gryki pod wpływem zastosowanych preparatów biologicznych i biostymulatorów jako zapraw

Wpływ interakcji zaprawa biologiczna x biostymulator zastosowany następnie na liczbę rozgałęzień na roślinie gryki można również określić mianem tendencji ( $\alpha=0,096$ ). Dowiedziono wyraźnego wzrostu liczby rozgałęzień na roślinie w wyniku zaprawiania nasion oosporami *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) i następnie stosowania pochodnych polifenoli (Asahi SL). Zaprawienie nasion preparatem Kelpak SL, a następnie oprysk roślin preparatem Kelpak SL spowodowało wyraźne zmniejszenie liczby rozgałęzień na roślinie gryki. Na pozostałych obiektach (kontrola dla zaprawiania i zaprawienie preparatem Serenade ASO) nie obserwowano znaczących zmian wielkości tego parametru (Rysunek 54).



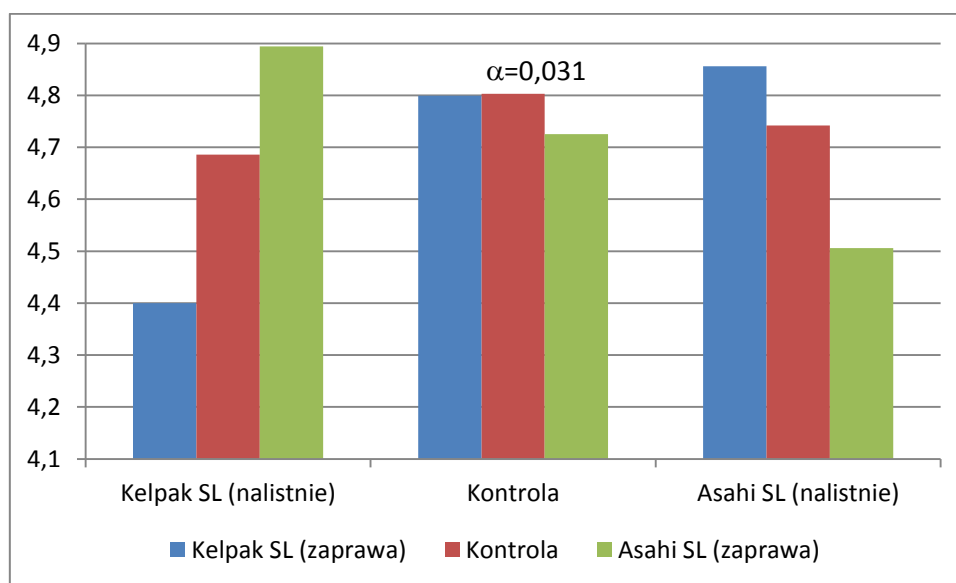
Rysunek 54. Kształtowanie się liczby rozgałęzień na roślinie gryki pod wpływem zastosowanych preparatów biologicznych i biostymulatorów (nalistnie)

Wartość wskaźnika powierzchni liści LAI podlegała istotnemu wpływowi terminu pomiaru (Tabela 14). Wyższymi wartościami wskaźnika pokrycia liściowego charakteryzował się ostatni termin pomiaru (6,737). Również wartość wskaźnika pokrycia liściowego była modyfikowana istotnym wpływem użyźniacza gleby. Zastosowanie użyźniacza UG Max zwiększyło średnia wartość wskaźnika pokrycia liściowego w porównaniu do wartości obserwowanych na obiektach na których zastosowano preparat Biogen Revital o 0,215. Mianem trendu można określić wpływ źródła zmienności jakim był użyźniacz gleby na wartość wskaźnika pokrycia liściowego (efekt kwadratowy  $\alpha = 0,063$ ). Zaobserwowano, że stosowanie użyźniaczy gleby zwiększyło wskaźnik pokrycia liściowego w porównaniu do obiektu kontrolnego o 0,127. Na uwagę zasługuje również utrzymujący się na granicy statystycznej istotności efekt kwadratowy ( $\alpha = 0,088$ ) dla źródła zmienności zaprawa biologiczna. Zaprawianie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum*, jak i szczepem bakterii *Bacillus subtilis* zwiększyło wartość wskaźnika pokrycia liściowego w porównaniu do obiektu kontrolnego o 0,112.

Tabela 14. Wpływ badanych czynników na powierzchnię asymilacyjną łąnu gryki - LAI (synteza z terminów)

| Czynnik                   | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności efektu |              |
|---------------------------|-----------------|--------|--------|--------------------------|--------------|
|                           | Niski           | Średni | Wysoki | Liniowego                | Kwadratowego |
| Termin pomiaru            | 2,032           | 5,462  | 6,737  | 0,000                    | 0,000        |
| Biostymulator (zaprawa)   | 4,742           | 4,755  | 4,717  | 0,887                    | 0,693        |
| Zaprawa biologiczna       | 4,786           | 4,694  | 4,826  | 0,765                    | 0,088        |
| Użyźniacz glebowy         | 4,922           | 4,687  | 4,707  | 0,036                    | 0,063        |
| Biostymulator (nalistnie) | 4,673           | 4,781  | 4,721  | 0,519                    | 0,864        |

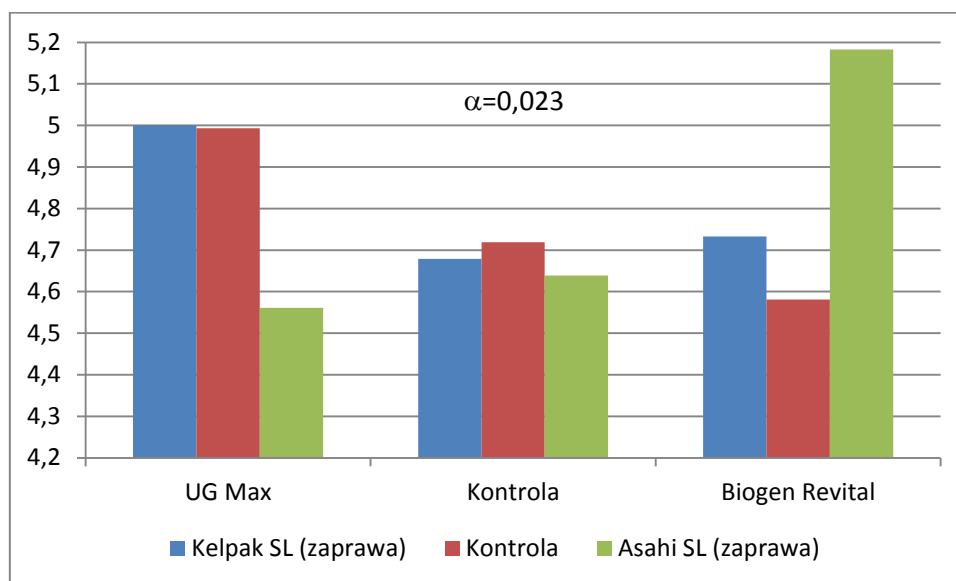
Wielkość wskaźnika pokrycia liściowego modyfikowana była przez istotną statystycznie interakcję biostymulator stosowany jako zaprawa x biostymulator stosowany nalistnie. Na uwagę zasługuje wyraźny wzrost wartości wskaźnika pokrycia liściowego po zaprawieniu nasion nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL), a następnie stosowaniu nalistnie fitohormonów (Kelpak SL) lub odwrotnie tzn. zaprawieniu nasion preparatem Kelpak SL i naniesieniu nalistnie preparatu Asahi SL. Na obiektach, na które nie nanoszono nalistnie biostymulatorów ich stosowanie w postaci zapraw nie modyfikowało wartości analizowanej cechy łąnu gryki (Rysunek 55).



Rysunek 55. Kształtowanie się indeksu powierzchni liści łąnu gryki pod wpływem różnych sposobów stosowania biostymulatorów

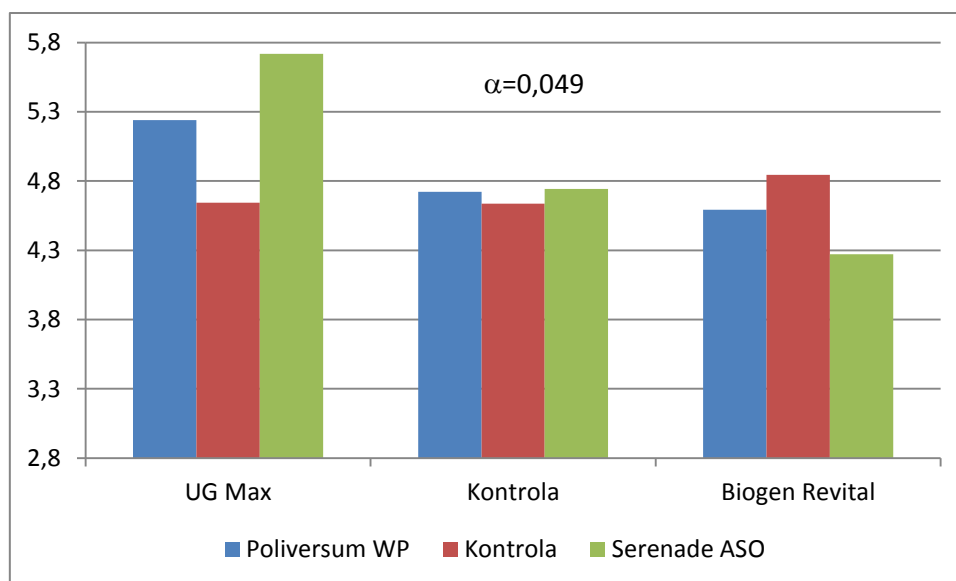
Warto również zaznaczyć wpływ istotnej statystycznie interakcji biostymulator stosowany jako zaprawa x użyźniacz gleby na wartość LAI. Najwyższą wartość indeksu powierzchni liści łąnu gryki zaobserwowano na obiektach ukształtowanych przez rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL), ale po zastosowaniu preparatu Biogen Revital. Natomiast odmienną reakcję zaobserwowano po zaprawieniu

nasion pochodnymi polifenoli (Asahi SL) i następnie zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max. Wskaźnik pokrycia liściowego przekroczył wówczas nieznacznie 4,5 (Rysunek 56).



Rysunek 56. Kształtowanie się indeksu powierzchni liści łanu gryki pod wpływem stosowania biostymulatorów i użyźniaczy gleby

Interesującym jest również wpływ istotnej statystycznie interakcji zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby na indeks powierzchni liść łanu gryki. Zaprawienie nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) wpłynęło na wzrost wartości wskaźnika pokrycia liściowego po zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max. Natomiast na obiektach po przedśiewnym zaprawieniu nasion tym samym szczepem bakterii zaobserwowano spadek wartości wskaźnika pokrycia liściowego po zastosowaniu preparatu Biogen Revital (Rysunek 57).



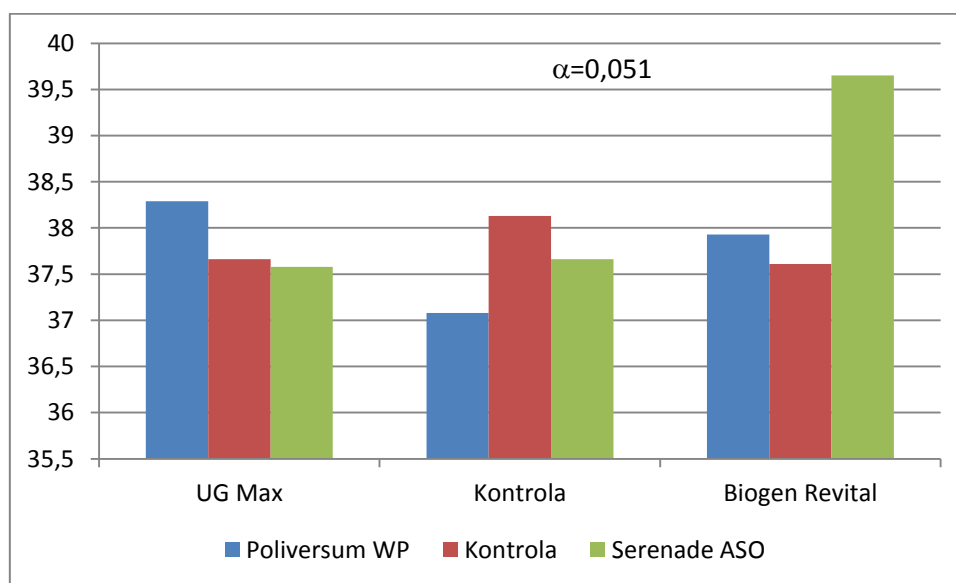
Rysunek 57. Kształtowanie się indeksu powierzchni liści łanu gryki pod wpływem stosowania zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

O wykorzystaniu w pełni promieniowania fotosyntetycznie czynnego obok powierzchni asymilacyjnej decyduje również koncentracja chlorofilu w liściach. Należy zaznaczyć, że im wyższa koncentracja chlorofilu w liściach, tym przebieg procesu fotosyntezy jest efektywniejszy. Podstawowym zadaniem roślin naczyniowych, w procesie fotosyntezy, jest właśnie przekształcenie energii fal w energię wiązań związków organicznych przy udziale chlorofilu. W prezentowanych badaniach zawartość chlorofilu podano w jednostkach umownych SPAD. W wyniku przeprowadzonej analizy statystycznej dowiedziono wzrostu koncentracji chlorofilu w liściach w fazie pełni kwitnienia w odniesieniu do fazy pąkowania (Tabela 15). Również należy podkreślić wzrost koncentracji chlorofilu w liściach gryki, co można określić mianem trendu, w wyniku stosowania biostymulatorów niezależnie od formy aplikacji, jak i zaprawiania nasion preparatami zawierającymi grzyba *Pythium oligandrum* i bakterię *Bacillus subtilis*.

Tabela 15. Wpływ badanych czynników na zawartość chlorofilu (w jednostkach SPAD, synteza z terminów)

| Czynnik                   | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                           | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Termin pomiaru            | 30,46           | 45,89  | 37,03  | 0,000                        | 0,000        |
| Biostymulator (zaprawa)   | 37,80           | 37,62  | 38,24  | 0,222                        | 0,105        |
| Zaprawa biologiczna       | 37,42           | 37,87  | 37,98  | 0,124                        | 0,894        |
| Użyźniacz glebowy         | 37,75           | 37,73  | 38,00  | 0,488                        | 0,398        |
| Biostymulator (nalistnie) | 37,45           | 37,85  | 37,98  | 0,141                        | 0,963        |

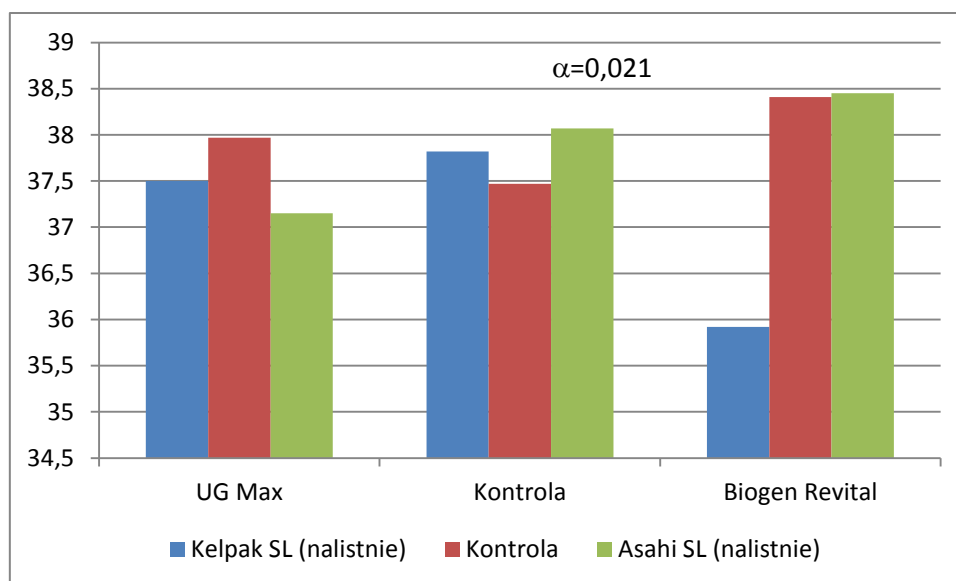
Koncentracja chlorofilu w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi interakcji zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby. Zaprawienie przedsiwne nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) wpłynęło na wyraźny wzrost zawartości chlorofilu w liściach po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital. Rośliny z pozostałych obiektów cechowały się mniejszą zawartością chlorofilu, a na uwagę zasługuje fakt, że zaprawienie nasion oosporami *Pythium oligandrum* bez stosowania użyźniaczy zmniejsza zawartość chlorofilu w liściach gryki (Rysunek 58).



Rysunek 58. Kształtowanie się indeksu SPAD łanu gryki pod wpływem stosowania zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Odnosić również należy wpływ istotnej statystycznie interakcji biostymulator stosowany w formie oprysku x użyźniacz gleby na zawartość chlorofilu w liściach gryki. Zastosowanie nalistne nitrofenoli po zastosowaniu preparatu UG Max spowodowało znaczną redukcję zawartości chlorofilu w liściach gryki (Rysunek 59). Natomiast najwyższą koncentrację chlorofilu stwierdzono na obiektach po zastosowaniu nalistnie nitrofenoli i preparatu Biogen Revital (38,45 SPAD). Na obiektach gdzie nie zastosowano użyźniaczy gleby po aplikacji nalistnej biostymulatorów stwierdzono wzrost zawartości chlorofilu w liściach gryki.





Rysunek 59. Kształtowanie się indeksu SPAD łanu gryki pod wpływem stosowania biostymulatorów jako zapraw i użyźniaczy gleby

Związek pomiędzy spektralnymi wskaźnikami roślinności opartymi na promieniowaniu w zakresie czerwieni i bliskiej podczerwieni a plonowaniem są przedmiotem licznych analiz. Wskaźniki te wyrażają tzw. „zieloność” pokrywy roślinnej, czyli kompleks właściwości, wśród których mieści się powierzchnia asymilacyjna wraz z jej strukturą przestrzenną, zawartość chlorofilu oraz stan fizjologiczny roślin. Wartości tych wskaźników wynikają zatem z intensywności procesów fotosyntezy, oddychania i transpiracji, a to z kolei determinuje wartość produkcji pierwotnej, kluczowej dla współczesnego podejścia do produkcji postrzeganej przez pryzmat biogospodarki. Najstarszym i najpopularniejszym wskaźnikiem jest NDVI (Normalized Difference Vegetation Index), który został oparty na pomiarach odbicia promieniowania w paśmie czerwieni i bliskiej podczerwieni. Niestety wskaźnik ten ma poważny mankament, bowiem niezbyt dobrze opisuje pokrywę roślinną przy powierzchni łanu w granicach 2 – 6 LAI, ponieważ zanika w tym zakresie liniowy charakter zależności pomiędzy tymże wskaźnikiem a powierzchnią asymilacyjną łanu. Pomimo tego mankamentu zaobserwowano wpływ terminu pomiaru i użyźniaczy gleby na wielkość tego wskaźnika (Tabela 16). Największą jego wartość zaobserwowano podczas drugiego pomiaru wykonanego 4-go lipca i wynosiła ona 0,569. Wpływ użyźniaczy gleby statystycznie potwierdzony efektem kwadratowym oznacza większą wartość tego wskaźnika po zastosowaniu któregośkolwiek z użyźniaczy. Ale wyraźna tendencja wynikająca z wielkości efektu liniowego wskazuje na większą skuteczność w zwiększaniu wartości tego wskaźnika przez użyźniacz UG Max w stosunku do Revital Max Pro. Próba stworzenia wskaźnika o

większej wrażliwości na zmiany wskaźnika ulistnienia w warunkach dużej gęstości, doprowadziła do powołania wskaźnika RVI (Ratio Vegetation Index) i jego odwrotności, czyli IRVI (Invers Ratio Vegetation Index). W przypadku analiz pomiarów wyrażonych tymi wskaźnikami potwierdzono wcześniej wykazane zależności, ale z dodatkowym, statystycznym udokumentowaniem korzystniejszego działania użyźniacza UG Max. Wskaźnikiem najlepiej dostosowanym do tego typu nieliniowej zależności pomiędzy ulistnieniem a samym wskaźnikiem jest WDR NDVI, inaczej WDRI (Wide Dynamic Range NDVI). W przypadku analizy jego wielkości również tylko czynnik jakim był użyźniacz gleby powodował jego statystyczną zmienność, wyraźnie wskazując na pozytywny efekt stosowania użyźniacza gleby. Ponadto wartości WDRI zwiększały się wraz z rozwojem roślin gryki do ostatniego, trzeciego pomiaru, czyli podobnie jak wcześniej prezentowane wartości wskaźnika RVI, ale inaczej niż wcześniej omówione wartości wskaźnika NDVI.

Tabela 16. Wpływ badanych czynników na spektralne wskaźniki łanu gryki (synteza z terminów)

| Czynnik                   | Poziomy czynnika |        |        | Poziom istotności dla efektu |            |
|---------------------------|------------------|--------|--------|------------------------------|------------|
|                           | Niski            | Średni | Wysoki | Liniowy                      | Kwadratowy |
| NDVI                      |                  |        |        |                              |            |
| Termin pomiaru            | 0,534            | 0,569  | 0,658  | 0,000                        | 0,011      |
| Biostymulator (zaprawa)   | 0,573            | 0,592  | 0,588  | 0,297                        | 0,748      |
| Zaprawa biologiczna       | 0,596            | 0,584  | 0,586  | 0,486                        | 0,318      |
| Użyźniacz glebowy         | 0,614            | 0,575  | 0,590  | 0,096                        | 0,012      |
| Biostymulator (nalistnie) | 0,589            | 0,590  | 0,577  | 0,405                        | 0,968      |
| WDRI                      |                  |        |        |                              |            |
| Termin pomiaru            | 0,535            | 0,571  | 0,656  | 0,000                        | 0,015      |
| Biostymulator (zaprawa)   | 0,574            | 0,592  | 0,590  | 0,273                        | 0,817      |
| Zaprawa biologiczna       | 0,597            | 0,584  | 0,586  | 0,450                        | 0,266      |
| Użyźniacz glebowy         | 0,611            | 0,576  | 0,591  | 0,144                        | 0,013      |
| Biostymulator (nalistnie) | 0,587            | 0,591  | 0,579  | 0,567                        | 0,901      |
| IRVI                      |                  |        |        |                              |            |
| Termin pomiaru            | 0,306            | 0,278  | 0,207  | 0,000                        | 0,015      |
| Biostymulator (zaprawa)   | 0,274            | 0,260  | 0,262  | 0,302                        | 0,827      |
| Zaprawa biologiczna       | 0,257            | 0,265  | 0,266  | 0,477                        | 0,374      |
| Użyźniacz glebowy         | 0,243            | 0,273  | 0,261  | 0,119                        | 0,014      |
| Biostymulator (nalistnie) | 0,262            | 0,261  | 0,271  | 0,441                        | 0,983      |
| RVI                       |                  |        |        |                              |            |
| Termin pomiaru            | 3,374            | 3,818  | 4,954  | 0,000                        | 0,008      |
| Biostymulator (zaprawa)   | 3,863            | 4,130  | 4,031  | 0,352                        | 0,586      |
| Zaprawa biologiczna       | 4,168            | 3,992  | 4,071  | 0,588                        | 0,173      |
| Użyźniacz glebowy         | 4,448            | 3,888  | 4,053  | 0,031                        | 0,006      |
| Biostymulator (nalistnie) | 4,086            | 4,101  | 3,882  | 0,258                        | 0,892      |

Pomiar fluorescencji chlorofilu *a* pozwala na ocenę zmian aktywności aparatu fotosyntetycznego. Ponieważ funkcjonowanie fotosystemu II (PSII) jest najbardziej czułym wskaźnikiem działania czynników stresowych na rośliny nadaje to tej analizie szczególne znaczenie. Szybkość transportu elektronów jest zależna od zapotrzebowania wykazywanego

przez reakcje fazy świetlnej fotosyntezy, a to z kolei warunkowane jest zapotrzebowaniem na produkty fotosyntezy przez roślinę. Zapotrzebowanie na produkty fotosyntezy zależy od kondycji rośliny i warunków siedliskowych generujących stresy. Poniższa analiza parametrów kinetyki fluorescencji chlorofilu *a* oparta została o wskaźniki wydajności i przepływu energii oraz wskaźnik funkcjonowania (Tabela 17):

$F_v/F_0$  – maksymalna efektywność rozszczepiania wody po donorowej stronie PSII. Charakteryzuje efektywność rozszczepiania wody (wydzielania tlenu) w PSII. Kompleks manganowy uważany jest za bardzo wrażliwy element łańcucha transportu elektronów.

$F_v/F_m$  ( $\Phi_{P_0}$ ) – maksymalną wydajność kwantowa pierwotnych reakcji fotochemicznych fotosyntezy. Wartość tego parametru jest proporcjonalna do wydajności kwantowej reakcji fotochemicznych PSII i świadczy o prawdopodobieństwie wychwytywania energii zaabsorbowanych fotonów (czyli ekscytonów migrujących po antenie) przez centra reakcji PSII. W warunkach optymalnych parametr ten osiąga u roślin naczyniowych wartość 0,832, a jego obniżenie świadczy o obniżeniu sprawności PSII.

$\Psi_0$  – prawdopodobieństwo transportu elektronów poza  $Q_A^-$ , czyli wydajność z jaką ekscyton wychwycony przez RC (centrum reakcji) przesuwają elektron w łańcuchu transportu elektronów poza  $Q_A^-$ .

$\Phi_{E_0}$  – kwantowa wydajność transportu elektronów. Oznacza prawdopodobieństwo wychwycenia i transportu elektronów poza  $Q_A^-$ .

$\Phi_{D_0}$  ( $F_0/F_M = 1 - \Phi_{P_0}$ ) – kwantowa wydajność rozpraszania energii. Wartość tego parametru świadczy o prawdopodobieństwie rozproszenia energii zaabsorbowanych fotonów (czyli ekscytonów migrujących po antenie) w postaci ciepła, fluorescencji jak i transferu do innych układów.

$\Phi_{R_0}$  – kwantowa wydajność redukcji końcowych akceptorów (po akceptorowej stronie PSI).

$PI_{ABS}$  – wskaźnik funkcjonowania PSII w stosunku do absorpcji, dotyczący ogólnej żywotności PSII; dodatnio skorelowany z dostępnością wody dla roślin; im rośliny mają lepsze warunki wodne tym jest on wyższy. Parametr ten jest wskaźnikiem bardziej wrażliwym niż  $F_v/F_m$ .

Analizując wartości maksymalnej efektywności rozszczepiania wody po donorowej stronie PSII ( $F_v/F_0$ ) należy zauważyć, że w pierwszym terminie badań (04.07) zaobserwowano niższe wartości tego parametru niż w terminie drugim (24.07). Potwierdza to efektywniejszą pracę kompleksu manganowego PSII roślin gryki w czasie pełni kwitnienia. Natomiast w roku 2016 wartość tego parametru była nieznacznie mniejsza podczas drugiego pomiaru. Oczywiście różnice te wynikają z zmienności warunków siedliskowych w latach

badań. Żaden z badanych czynników badawczych w sposób statystycznie istotny nie różnicował tego wskaźnika, ale należy zwrócić uwagę na dwie zarysowujące się tendencje statystyczne. Pierwsza z nich to możliwy negatywny wpływ biostymulatorów stosowanych jako zaprawy (obydwóch) na efektywność kompleksu manganowego, co potwierdza poziom istotności efektu kwadratowego dla tego źródła zmienności ( $\alpha = 0,132$ ). Druga (tendencja) to negatywny wpływ zaprawy Polyversum WP w odniesieniu do zaprawy Serenade ASO (efekt liniowy 0,141). W roku poprzedzającym omawiane rezultaty zastosowanie zaprawy Serenade ASO również pozwoliło roślinom gryki osiągnąć nieco lepszą wartość tego parametru. Prawdopodobieństwo wychwycenia energii ekscytonów przez RC ( $\Phi_{p_0}$ ) podlegało podobnym wpływom jak zaobserwowane wartości  $F_V/F_0$ . Potwierdziła się tendencja negatywnego wpływu biostymulatorów stosowanych jako zaprawy oraz pozytywnego wpływu zaprawy zawierającej *Bacillus subtilis* (Serenade ASO). Ponadto zaobserwowano większą wartość tego parametru u roślin, które zostały opryskane preparatem Kelpak SL w odniesieniu do roślin opryskanych preparatem Asahi SL (efekt liniowy 0,075). Wychwycona energia ekscytonów musi następnie być wykorzystana na transport elektronów poza plastochinon związany z białkiem D2, czyli pierwszy stabilny akceptor w PSII. Prawdopodobieństwo transportu elektronów poza  $Q_A$  ( $\psi_0$ ), było znacząco ograniczane po zastosowaniu jako zaprawy biostymulatora Kelpak SL (efekt liniowy 0,090). Natomiast zastosowanie zapraw biologicznych, zarówno Polyversum WP czy też Serenade ASO, powodowało statystycznie istotny wzrost prawdopodobieństwa przekazania energii zaabsorbowanych ekscytonów poza  $Q_A$ . Pozostałe czynniki badawcze (użyźniacz gleby, oprysk nalistny biostymulatorem) nie wpłynęły na wartości tego parametru. Kwantowa wydajność transportu elektronów ( $\Phi_{E_0}$ ) była modyfikowana w sposób statystycznie istotny przez termin pomiaru oraz zaprawy biologiczne. Zdecydowanie większe wartości tego parametru obserwowano u roślin młodszych (0,474 wobec 0,431) oraz u roślin wyrosłych z orzeszków zaprawionych zaprawami biologicznymi (Polyversum WP – 0,458 i Serenade ASO – 0,457 wobec kontroli – 0,449). Natomiast kwantowa wydajność redukcji końcowych akceptorów po akceptorowej stronie PSI ( $\Phi_{R_0}$ ) podlegała wpływowi tylko terminu pomiaru, ale widocznych jest kilka tendencji. Po pierwsze zaprawianie nasion biostymulatorami wskazuje na tendencję do obniżenia wartości tego parametru, natomiast zastosowanie zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby wskazuje na tendencję odmienną, zwiększającą wartość tego parametru. Oczywiście kwantowe wydajności uzależnione są od wielkości strat poniesionych w wyniku rozproszenia energii zaadsorbowanych fotonów w postaci ciepła, fluorescencji i transferu do innych układów ( $\Phi_{D_0}$ ). Rośliny młodsze pomimo korzystniejszych wartości  $\psi_0$ ,  $\Phi_{E_0}$  i  $\Phi_{R_0}$

charakteryzowały się mniejszą wydajnością kwantową pierwotnych reakcji fotochemicznych z powodu większych wartości  $\Phi_{D0}$ . Uogólnieniem rozważań nad przepływem energii w PSII jest wskaźnik funkcjonowania w stosunku do absorpcji ( $PI_{ABS}$ ) ujmujący strumień energii od ekscytonu do redukcji międzysystemowych akceptorów elektronów. Wskazuje on na sprawniejszy system PSII u roślin w pełni kwitnienia oraz potwierdza statystyczną tendencję pozytywnego wpływu stosowania użyźniacza UG Max na wartość tego parametru.

Tabela 17. Wpływ badanych czynników na wybrane parametry fluorescencji chlorofilu a gryki (synteza z terminów)

| Czynnik                                 | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|-----------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                         | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| $F_v/F_0$                               |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                          | 2,797           | -      | 3,530  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                 | 3,149           | 3,178  | 3,141  | 0,904                        | 0,132        |
| Zaprawa biologiczna                     | 3,138           | 3,162  | 3,193  | 0,151                        | 0,713        |
| Użyźniacz glebowy                       | 3,170           | 3,160  | 3,165  | 0,875                        | 0,717        |
| Biostymulator (nalistnie)               | 3,167           | 3,169  | 3,146  | 0,545                        | 0,330        |
| $\Phi_{P_0} (F_v/F_M)$                  |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                          | 0,732           | -      | 0,763  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                 | 0,746           | 0,749  | 0,746  | 0,964                        | 0,108        |
| Zaprawa biologiczna                     | 0,745           | 0,748  | 0,750  | 0,088                        | 0,549        |
| Użyźniacz glebowy                       | 0,747           | 0,748  | 0,748  | 0,673                        | 0,432        |
| Biostymulator (nalistnie)               | 0,750           | 0,748  | 0,745  | 0,075                        | 0,413        |
| $\Psi_0$                                |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                          | 0,645           | -      | 0,558  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                 | 0,593           | 0,604  | 0,602  | 0,090                        | 0,449        |
| Zaprawa biologiczna                     | 0,610           | 0,596  | 0,605  | 0,330                        | 0,004        |
| Użyźniacz glebowy                       | 0,603           | 0,601  | 0,600  | 0,500                        | 0,583        |
| Biostymulator (nalistnie)               | 0,600           | 0,601  | 0,604  | 0,434                        | 0,495        |
| $\Phi_{E_0}$                            |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                          | 0,474           | -      | 0,431  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                 | 0,446           | 0,456  | 0,452  | 0,213                        | 0,274        |
| Zaprawa biologiczna                     | 0,458           | 0,449  | 0,457  | 0,807                        | 0,039        |
| Użyźniacz glebowy                       | 0,455           | 0,453  | 0,452  | 0,546                        | 0,702        |
| Biostymulator (nalistnie)               | 0,453           | 0,453  | 0,454  | 0,894                        | 0,705        |
| $\Phi_{R_0}$                            |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                          | 0,364           | -      | 0,318  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                 | 0,338           | 0,344  | 0,338  | 0,968                        | 0,101        |
| Zaprawa biologiczna                     | 0,345           | 0,340  | 0,341  | 0,199                        | 0,197        |
| Użyźniacz glebowy                       | 0,344           | 0,342  | 0,337  | 0,058                        | 0,757        |
| Biostymulator (nalistnie)               | 0,340           | 0,340  | 0,346  | 0,104                        | 0,269        |
| $\Phi_{D_0} (F_0/F_M = 1 - \Phi_{P_0})$ |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                          | 0,268           | -      | 0,237  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                 | 0,254           | 0,251  | 0,254  | 0,964                        | 0,108        |
| Zaprawa biologiczna                     | 0,255           | 0,252  | 0,250  | 0,089                        | 0,549        |
| Użyźniacz glebowy                       | 0,253           | 0,252  | 0,252  | 0,672                        | 0,432        |
| Biostymulator (nalistnie)               | 0,250           | 0,252  | 0,255  | 0,075                        | 0,413        |
| $PI_{ABS}$                              |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                          | 5,305           | -      | 5,725  | 0,002                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                 | 5,317           | 5,605  | 5,487  | 0,366                        | 0,408        |
| Zaprawa biologiczna                     | 5,575           | 5,455  | 5,604  | 0,947                        | 0,313        |
| Użyźniacz glebowy                       | 5,748           | 5,459  | 5,423  | 0,111                        | 0,374        |
| Biostymulator (nalistnie)               | 5,541           | 5,504  | 5,515  | 0,899                        | 0,742        |

Analiza wymiany gazowej obejmowała następujące parametry:

$c_i$  - stężenie międzykomórkowego dwutlenku węgla ( $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ),

$E$  – transpirację ( $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),

$g_s$  - przewodnictwo szparkowe ( $\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),

**A** - fotosyntezę netto ( $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

Ponadto na podstawie ilorazu intensywności fotosyntezy do transpiracji wyznaczono fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE), a na podstawie ilorazu intensywności fotosyntezy do przewodnictwa szparkowego wyznaczono chwilowy fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUEI).

Wzrost i rozwój roślin jest wypadkową wielu procesów, z których intensywność fotosyntezy jest jednym z najważniejszych. Pozostałe parametry wymiany gazowej, a szczególnie przewodnictwo szparkowe bezpośrednio albo pośrednio wpływają na intensywność fotosyntezy. Ponadto termin pomiaru, a właściwie wiek fizjologiczny rośliny, również modyfikują te parametry, czego dowodem są wyniki otrzymanych badań. Wynika z nich, że wszystkie parametry wymiany gazowej były różnicowane statystycznie w efekcie oddziaływania czynnika jakim był termin pomiaru (Tabela 18). Rośliny gryki w drugim terminie pomiaru (15 lipca) cechowały się nieco niższym stężeniem międzykomórkowego  $\text{CO}_2$  ( $c_i$ ), mniejszym przewodnictwem szparkowym ( $g_s$ ), mniejszą asymilacją netto (A), ale większą transpiracją (E). Powodem tych zmian oprócz wcześniej wspomnianego wieku fizjologicznego roślin mogły być również aktualne warunki pluwiotermiczne. Zmiany nasilenia asymilacji i transpiracji są uzależnione od zmiany apertury i mogą oddziaływać na przewodność szparkową liścia bezpośrednio jak i pośrednio poprzez zmianę stężenia międzykomórkowego  $\text{CO}_2$  jak i potencjałów wody liścia i gleby. Także inne czynniki środowiskowe (promieniowanie, temperatura) mogą wpływać na te parametry modulując ich oddziaływania zwrotne. Sprawny aparat szparkowy utrzymuje stężenie międzykomórkowego  $\text{CO}_2$  na prawie stałym poziomie, co można było zaobserwować w omawianych badaniach i co zostało potwierdzone poprzez brak wpływu na ten parametr któregośkolwiek z czynników. Towarzyszyły temu jednak zmiany transpiracji pod wpływem wszystkich badanych czynników. Zaprawienie nasion preparatem Kelpak SL, w porównaniu do zaprawienia nasion preparatem Asahi SL, spowodowało obniżenie transpiracji przy braku statystycznego zróżnicowania asymilacji. Natomiast zaprawienie nasion zaprawą Polyversum WP w porównaniu do zaprawienia zaprawą Serenade ASO spowodowało wzrost transpiracji i zarazem asymilacji. Jak można zauważyć zarówno badane biopreparaty, stosowane jako zaprawy, jak i zaprawy biologiczne odmiennie wpływały na wymianę gazową roślin gryki. Natomiast oddziaływanie użyźniaczy gleby było tożsame tzn. powodowało wzrost transpiracji, za którym podążał wzrost asymilacji przy niezróżnicowanym przewodnictwie szparkowym. Również biopreparaty zastosowane w formie oprysku nalistnego powodowały

powodowały wzrost asymilacji przy wzroście transpiracji, co potwierdzają poziomy istotności dla tych efektów (kwadratowych).

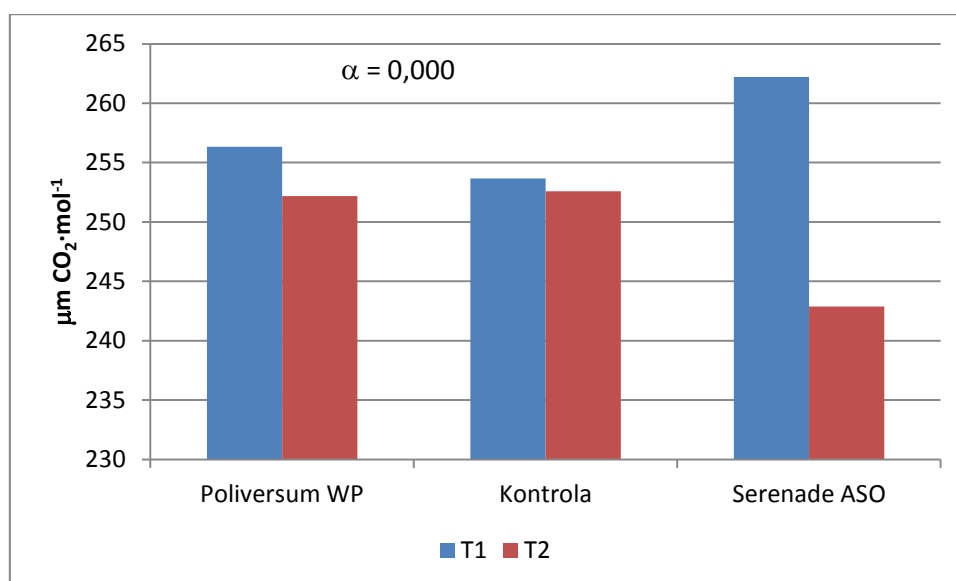
Opisane powyżej zmiany implikują zmiany w wielkościach współczynnika wykorzystania wody (WUE) oraz chwilowego fotosyntetycznego współczynnika wykorzystania wody (WUEI). Zastosowanie preparatu Kelpak SL, jako zaprawy, w porównaniu do preparatu Asahi SL poprawiło gospodarkę wodną roślin zwiększając statystycznie wartość WUE oraz wskazując na tendencję zwiększenia wartości WUEI, czyli współczynnika zdeterminowanego warunkami wewnętrznymi samej rośliny (genetycznymi). Spośród badanych użyźniaczy gleby gospodarka wodna uległa poprawie po zastosowaniu preparatu Biogen Revital (WUE=2,804 wobec 2,698 dla UG Max). Zastosowanie biostymulatorów Kelpak SL i Asahi SL, w postaci oprysku nalistnego, wyraźnie wpłynęło na przewodnictwo szparkowe (tendencja statystyczna) powodując jego wzrost oraz znaczne zwiększenie fotosyntezy, co przełożyło się na statystyczne zmniejszenie wartości WUEI.



Tabela 18. Wpływ badanych czynników na parametry wymiany gazowej roślin gryki (synteza z terminów)

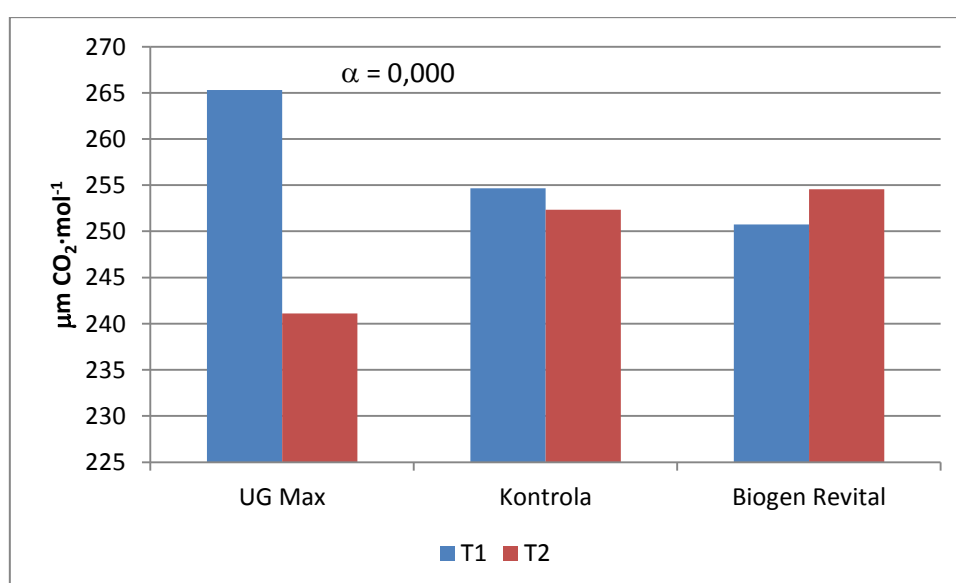
| Czynnik                                                                    | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                                                            | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| $c_i$ [ $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ]                       |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                                                             | 256,2           | -      | 250,3  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                                                    | 251,5           | 253,6  | 254,0  | 0,270                        | 0,398        |
| Zaprawa biologiczna                                                        | 254,3           | 253,1  | 252,5  | 0,419                        | 0,839        |
| Użyźniacz glebowy                                                          | 253,2           | 253,5  | 252,6  | 0,777                        | 0,522        |
| Biostymulator (nalistnie)                                                  | 254,8           | 253,3  | 251,6  | 0,137                        | 0,645        |
| $E$ [ $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ]  |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                                                             | 5,171           | -      | 5,866  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                                                    | 5,355           | 5,594  | 5,493  | 0,047                        | 0,218        |
| Zaprawa biologiczna                                                        | 5,605           | 5,574  | 5,292  | 0,000                        | 0,582        |
| Użyźniacz glebowy                                                          | 5,619           | 5,409  | 5,690  | 0,308                        | 0,000        |
| Biostymulator (nalistnie)                                                  | 5,583           | 5,414  | 5,713  | 0,062                        | 0,000        |
| $g_s$ [ $\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ] |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                                                             | 0,388           | -      | 0,302  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                                                    | 0,333           | 0,349  | 0,347  | 0,037                        | 0,092        |
| Zaprawa biologiczna                                                        | 0,349           | 0,349  | 0,330  | 0,003                        | 0,100        |
| Użyźniacz glebowy                                                          | 0,351           | 0,341  | 0,348  | 0,623                        | 0,137        |
| Biostymulator (nalistnie)                                                  | 0,353           | 0,340  | 0,349  | 0,521                        | 0,082        |
| $A$ [ $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ]       |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                                                             | 15,83           | -      | 13,06  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                                                    | 14,51           | 14,51  | 14,23  | 0,194                        | 0,567        |
| Zaprawa biologiczna                                                        | 14,48           | 14,59  | 14,03  | 0,035                        | 0,637        |
| Użyźniacz glebowy                                                          | 14,55           | 14,26  | 14,80  | 0,252                        | 0,000        |
| Biostymulator (nalistnie)                                                  | 14,70           | 14,20  | 14,79  | 0,726                        | 0,000        |
| $WUE$ [ $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$ ]                     |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                                                             | 3,219           | -      | 2,288  | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                                                    | 2,861           | 2,723  | 2,720  | 0,003                        | 0,121        |
| Zaprawa biologiczna                                                        | 2,729           | 2,766  | 2,746  | 0,719                        | 0,465        |
| Użyźniacz glebowy                                                          | 2,698           | 2,755  | 2,804  | 0,027                        | 0,918        |
| Biostymulator (nalistnie)                                                  | 2,730           | 2,769  | 2,736  | 0,920                        | 0,383        |
| $WUEI$ [ $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$ ]                    |                 |        |        |                              |              |
| Termin pomiaru                                                             | 0,0426          | -      | 0,0494 | 0,000                        | -            |
| Biostymulator (zaprawa)                                                    | 0,0474          | 0,0456 | 0,0455 | 0,100                        | 0,845        |
| Zaprawa biologiczna                                                        | 0,0445          | 0,0460 | 0,0474 | 0,010                        | 0,275        |
| Użyźniacz glebowy                                                          | 0,0449          | 0,0464 | 0,0460 | 0,319                        | 0,052        |
| Biostymulator (nalistnie)                                                  | 0,0446          | 0,0469 | 0,0450 | 0,721                        | 0,002        |

Parametry wymiany gazowej roślin gryki były również modyfikowane przez prezentowane poniżej cztery statystycznie istotne interakcje czynników. Pierwsza z nich ujawniła wyraźny spadek stężenia międzykomórkowego  $\text{CO}_2$  w fazie 70 BBCH gryki w stosunku do fazy 65 BBCH, ale tylko u roślin wyrosłych z nasion zaprawionych szczepem *Bacillus subtilis*. Obiekt kontrolny oraz obiekt na którym stosowano zaprawę Polyversum WP zawierającą oospory grzyba *Pythium oligandrum* wykazały tylko niewielki spadek koncentracji  $\text{CO}_2$  w stosunku do pierwszego terminu pomiaru wykonanego 14-go lipca (Rysunek 60).



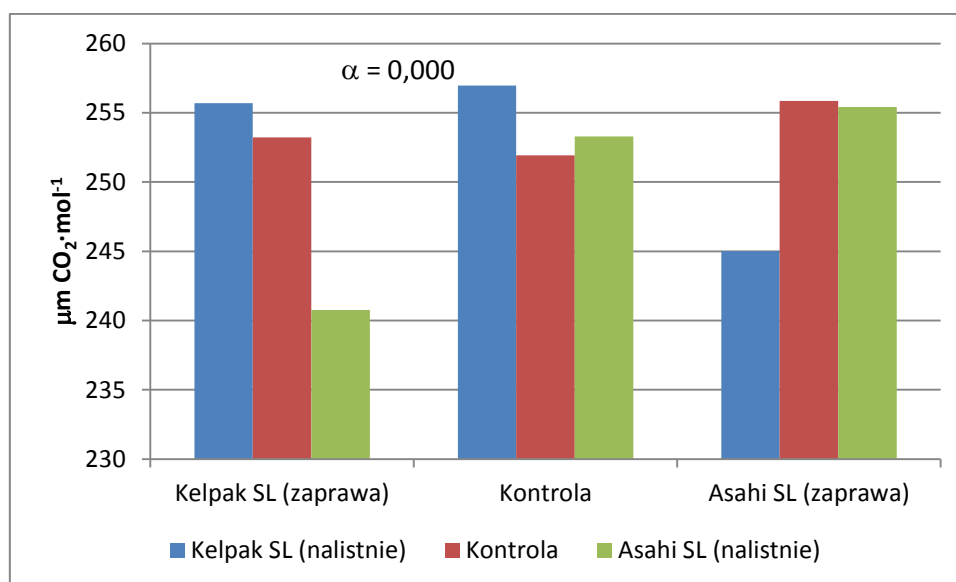
Rysunek 60. Kształtowanie się podszparkowego (międzykomórkowego) stężenia CO<sub>2</sub> w zależności od zastosowanego biopreparatu w dwóch terminach

Również badane użyźniacze gleby wpłynęły w odmienny sposób na stężenie międzykomórkowego CO<sub>2</sub>. Na obiekcie kontrolnym jak i na obiekcie na którym zastosowano użyźniacz Biogen Revital zasadniczo nie zaobserwowano zmiany stężenia CO<sub>2</sub> wraz z przechodzeniem roślin do fazy zawiązywania orzeszków. Natomiast u roślin wyrosłych na obiekcie, na którym zastosowano UG Max zaobserwowano znaczny spadek stężenia międzykomórkowego CO<sub>2</sub>. Niemniej zaobserwowane w tym przypadku stężenie nie wykroczało poza zakres przeciętny, charakterystyczny dla roślin prowadzących fotosyntezę typu C3 (Rysunek 61).



Rysunek 61. Kształtowanie się podszparkowego (międzykomórkowego) stężenia CO<sub>2</sub> w zależności od zastosowanego użyźniacza gleby w dwóch terminach

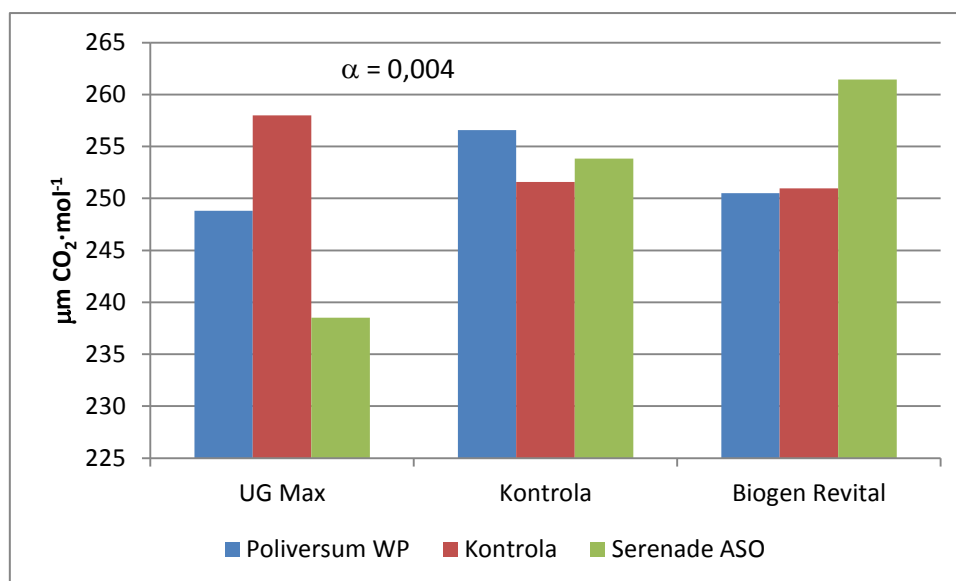
Widoczne zmiany stężenia międzykomórkowego CO<sub>2</sub> były również powodowane dwukrotnym zastosowaniem, w postaci zaprawy i oprysku, biostymulatorów Kelpak SL i Asahi SL. U roślin wyrosłych z nasion niezaprawionych zasadniczo nalistnie zastosowane biostymulatory nie poczyniły istotnych zmian w wielkościach omawianego parametru. Natomiast zastosowany nalistnie preparat Asahi SL, zawierający pochodne nitrofenoli, zastosowany na rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych preparatem Kelpak SL, zawierającym auksyny i cytokiny z *Ecklonia maxima*, spowodował wyraźny spadek stężenia międzykomórkowego CO<sub>2</sub>. W przypadku gdy nasiona gryki były zaprawione preparatem Asahi SL to zastosowanie nalistne preparatu Kelpak SL powodowało również spadek koncentracji międzykomórkowego CO<sub>2</sub>. Reakcje te wskazują na antagonizm substancji zawartych w tychże preparatach (Rysunek 62).



Rysunek 62. Kształtowanie się podszparkowego (międzykomórkowego) stężenia CO<sub>2</sub> w zależności od zastosowanych biostymulatorów i ich formy stosowania

Interesujące i wyraźne były również zmiany stężenia międzykomórkowego CO<sub>2</sub> powodowane interakcją użyźniacza gleby z zaprawą biologiczną. Rośliny wyrosłe na obiekcie bez zastosowanego użyźniacza gleby, pomimo zaprawienia różnymi biostymulatorami, zasadniczo nie reagowały zmianą stężenia międzykomórkowego CO<sub>2</sub>. Natomiast zaprawienie nasion preparatem Serenade ASO (*Bacillus subtilis*) spowodowało odmienną reakcję roślin na obiektach z różnymi użyźniaczami gleby. Na obiekcie na którym zastosowano użyźniacz UG Max zaobserwowano zmniejszenie międzykomórkowego stężenia CO<sub>2</sub>, a na obiekcie na którym zastosowano Revital Max Pro zaobserwowano wzrost stężenia tego gazu. Rośliny

wydają się nie reagować zmianą stężenia CO<sub>2</sub> na zastosowanie jako zaprawy preparatu Polyversum WP bez względu na użyty użyźniacz gleby (Rysunek 63).



Rysunek 63. Kształtowanie się podsparkowego (międzykomórkowego) stężenia CO<sub>2</sub> w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biopreparatów

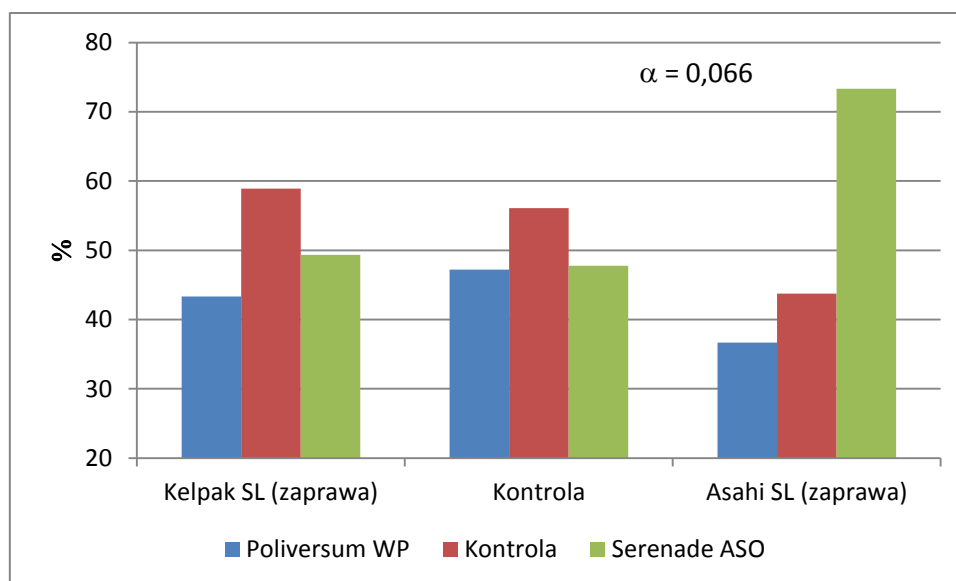
### Zdrowotność łanu gryki

Zdrowotność łanu gryki była znacząco modyfikowana przez badane czynniki eksperymentalne. Występowanie objawów mączniaka rzekomego warunkowane było zasadniczo wszystkimi badanymi czynnikami eksperymentalnymi (istotność statystyczna lub silny trend statystyczny). Zaprawienie nasion preparatem Asahi SL powodowało spadek nasilenia objawów mączniaka rzekomego, w porównaniu do obiektów na których wyrosły rośliny zaprawione preparatem Kelpak SL. Znaczne ograniczenie nasilenia mączniaka rzekomego osiągnięto po zaprawieniu nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum*. Również zastosowanie użyźniaczy gleby zwiększa zdrowotność łanu gryki (Tabela 19). Natomiast wpływ badanych preparatów biologicznych w omawianym eksperymencie w znacznie mniejszym stopniu ograniczał nasilenie objawów szarej pleśni i plamistości liści.

Tabela 19. Kształtowanie się zdrowotności łanu gryki w zależności od badawczych czynników

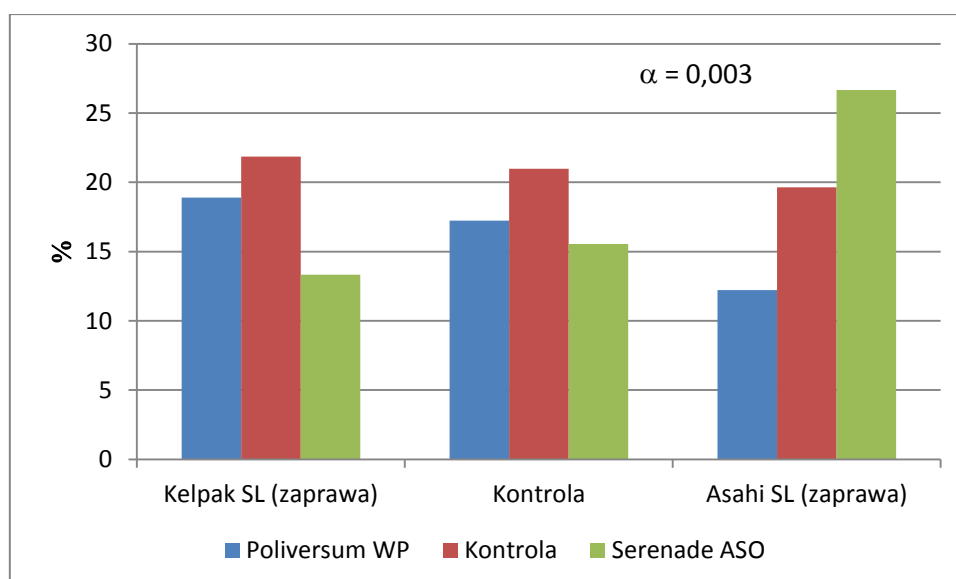
| Czynnik                             | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|-------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                     | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Mączniak rzekomy [%]                |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)             | 53,85           | 51,38  | 48,25  | 0,065                        | 0,606        |
| Zaprawa biologiczna                 | 44,32           | 53,47  | 53,19  | 0,109                        | 0,018        |
| Użyźniacz glebowy                   | 48,66           | 53,26  | 49,32  | 0,999                        | 0,152        |
| Indeks porażenia – mączniak rzekomy |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)             | 19,55           | 18,47  | 19,55  | 0,484                        | 0,349        |
| Zaprawa biologiczna                 | 16,55           | 20,85  | 17,33  | 0,689                        | 0,001        |
| Użyźniacz glebowy                   | 18,66           | 20,04  | 17,00  | 0,369                        | 0,030        |
| Szara pleśń [%]                     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)             | 35,00           | 32,27  | 36,33  | 0,549                        | 0,446        |
| Zaprawa biologiczna                 | 35,00           | 34,24  | 32,00  | 0,674                        | 0,567        |
| Użyźniacz glebowy                   | 34,33           | 34,52  | 32,00  | 0,370                        | 0,655        |
| Indeks porażenia – szara pleśń      |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)             | 15,55           | 13,03  | 17,22  | 0,122                        | 0,028        |
| Zaprawa biologiczna                 | 15,55           | 14,24  | 14,55  | 0,768                        | 0,356        |
| Użyźniacz glebowy                   | 14,22           | 15,96  | 12,11  | 0,174                        | 0,525        |
| Plamistość liści [%]                |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)             | 77,33           | 70,91  | 76,62  | 0,907                        | 0,074        |
| Zaprawa biologiczna                 | 71,66           | 76,06  | 71,00  | 0,907                        | 0,171        |
| Użyźniacz glebowy                   | 73,66           | 74,54  | 72,33  | 0,641                        | 0,232        |
| Indeks porażenia – plamistość liści |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)             | 33,66           | 31,86  | 35,44  | 0,402                        | 0,099        |
| Zaprawa biologiczna                 | 34,00           | 33,62  | 31,21  | 0,442                        | 0,443        |
| Użyźniacz glebowy                   | 34,42           | 33,48  | 31,11  | 0,171                        | 0,356        |

Nasilenie występowania mączniaka rzekomego było modyfikowane interakcją czynników biostymulator stosowany jako zaprawa x zaprawa biologiczna. Łany gryki ukształtowane przez rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych preparatem Kelpak SL oraz którekolwiek z zapraw biologicznych cechowały się lepszą zdrowotnością. Również zaprawienie nasion wyłącznie jedną z zapraw zmniejszało nasilenie objawów omawianej choroby. Tylko łan ukształtowany z nasion zaprawionych preparatem Asahi SL oraz Serenade ASO wykazywał bardzo wyraźny wzrost nasilenia objawów chorobowych (Rysunek 64).



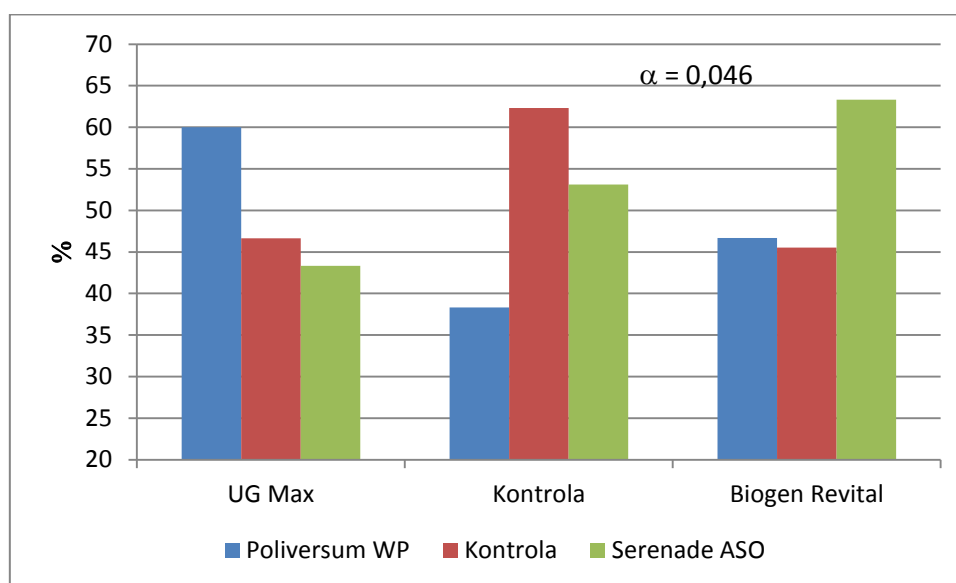
Rysunek 64. Kształtowanie się nasilenia występowania objawów mączniaka rzekomego w zależności od biostymulatorów stosowanych jako zaprawy i zapraw biologicznych

Indeks porażenia liści gryki przez *Peronospora documenti* także podlegał wpływowi interakcji czynników biostymulator stosowany jako zaprawa x zaprawa biologiczna. Istotną różnicą w odniesieniu do zmian stwierdzonych w odniesieniu do nasilenia objawów jest zaobserwowanie korzystniejszych wartości dla zaprawy Serenade ASO wobec Polyversum WP, po uprzednim zaprawieniu nasion preparatem Kelpak SL lub braku zaprawiania biostymulatorami (Rysunek 65).



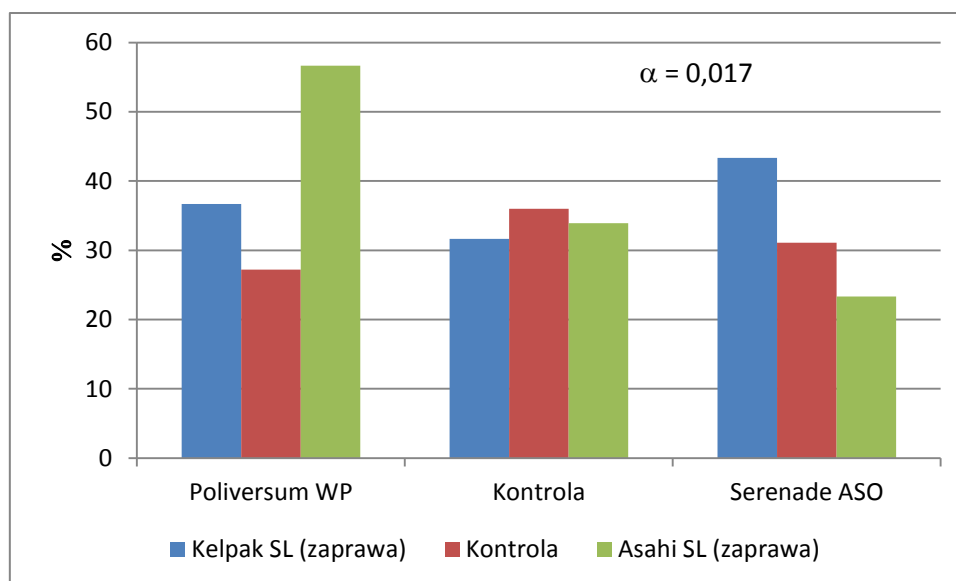
Rysunek 65. Kształtowanie się indeksu porażenia liści gryki przez *Peronospora documenti* w zależności od biostymulatorów stosowanych jako zaprawy i zapraw biologicznych

Istotność statystyczna interakcji czynników użyźniacz gleby x zaprawa biologiczna dowodzi możliwości kształtowania zdrowotności łanu gryki poprzez stosowanie różnych preparatów biologicznych. Łany gryki ukształtowane z nasion zaprawionych bakteriami *Bacillus subtilis* w obecności użyźniacza UG Max są wyraźnie zdrowsze niż te wyrosłe z nasion zaprawionych oosporami *Pythium oligandrum*. Indywidualne i wyłączone zastosowanie zapraw również zwiększyło zdrowotność łanu. Większą zdrowotnością cechował się łan ukształtowany przez rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych zaprawą Polyversum WP lub jej brakiem w obecności użyźniacza Biogen Revital (Rysunek 66).



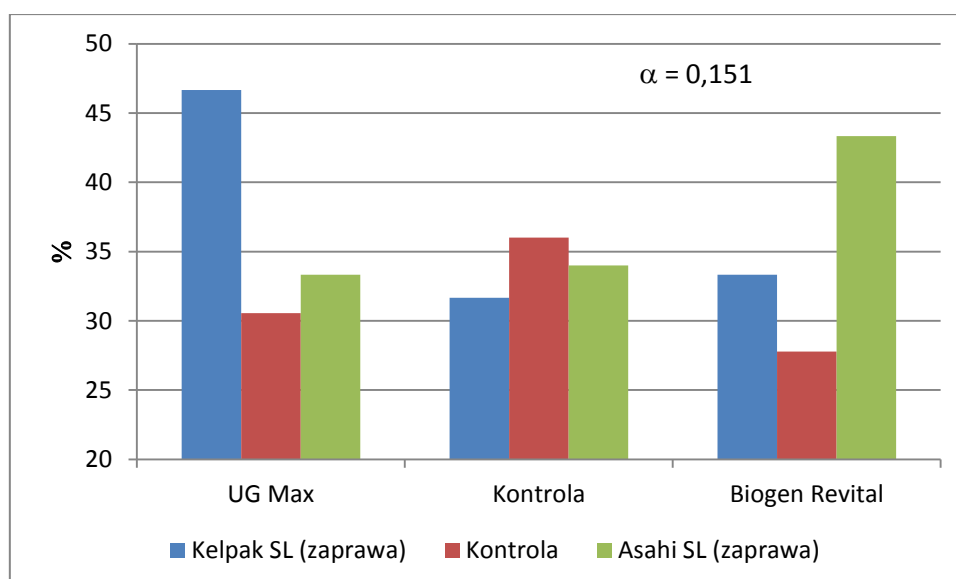
Rysunek 66. Kształtowanie się nasilenia występowania objawów mączniaka rzekomego w zależności od użyźniacza gleby i zapraw biologicznych

Występowanie szarej pleśni było kształtowane przez interakcję czynników biostymulator stosowany jako zaprawa x zaprawa biologiczna. Zdrowotność łanu ukształtowanego z roślin wyrosłych z nasion niezaprawionych zaprawą biologiczną nie podlegała modyfikacji w wyniku zaprawienia biostymulatorem. Natomiast równoczesne zaprawienie nasion biostymulatorem Kelpak SL i biostymulatorem Asahi SL spowodowało wyraźny wzrost udziału roślin z objawami szarej pleśni (Rysunek 67).



Rysunek 67. Kształtowanie się nasilenia występowania objawów szarej pleśni w zależności od biostymulatorów stosowanych jako zaprawy i zapraw biologicznych

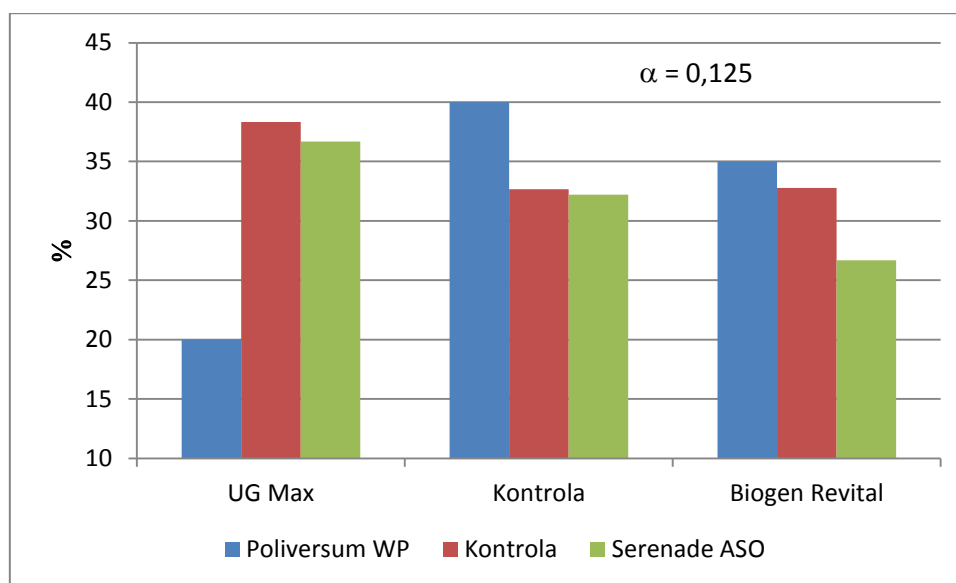
Nasilenie występowania objawów szarej pleśni na roślinach gryki była bliskie statystycznego wpływu interakcji czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany jako zaprawa. Wyraźne pogorszenie zdrowotności roślin zaobserwowano tylko w przypadku dwóch kombinacji. Pierwsza z nich to kombinacja Kelpak SL jako zaprawa w obecności użyźniacza UG Max, a druga to Asahi SL jako zaprawa w obecności użyźniacza Biogen Revital (Rysunek 68).



Rysunek 68. Kształtowanie się nasilenia występowania objawów szarej pleśni w zależności od biostymulatorów stosowanych jako zaprawy i użyźniaczy gleby



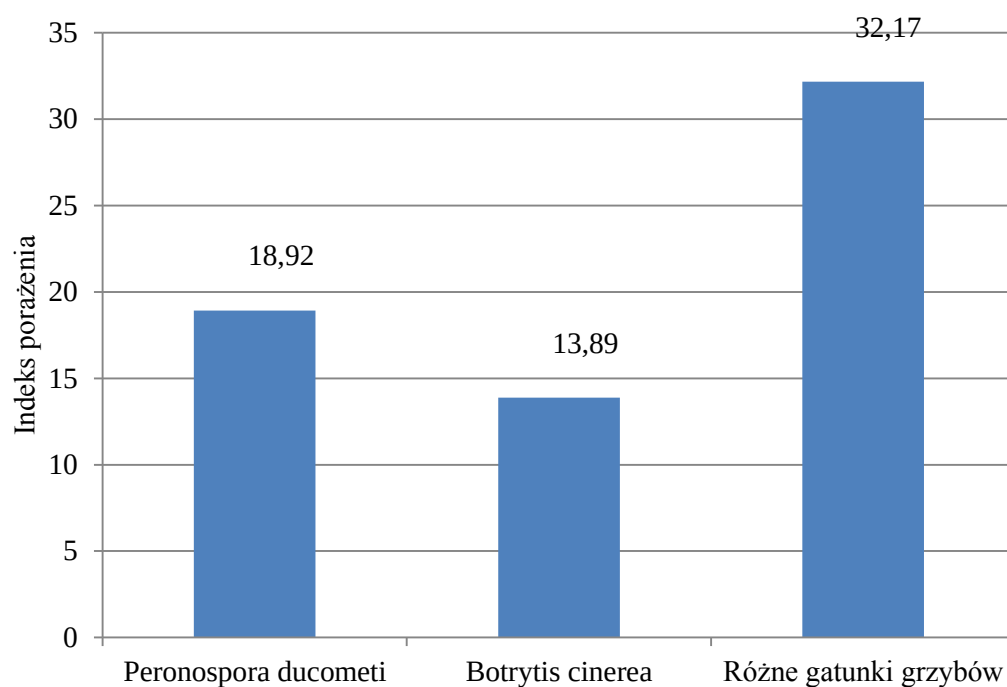
Podobnie jak interakcja poprzednia, również interakcja czynników użyźniacz gleby x zaprawa biologiczna była bliska statystycznego wpływu na częstotliwość występowania objawów szarej pleśni. Zdecydowanie ograniczająco na nasilenie występowania szarej pleśni na roślinach gryki wpłynęło zaprawienie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* i ich dalszy wzrost w obecności użyźniacza gleby UG Max. Efekt przeciwny zaobserwowano po indywidualnym zaprawieniu nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* (Kelpak SL) (Rysunek 69).



Rysunek 69. Kształtowanie się nasilenia występowania objawów szarej pleśni w zależności od użyźniaczy gleby i zapraw biologicznych

W badanym sezonie wegetacyjnym ocenę zdrowotności: liści, podstawy łodyg oraz korzeni wykonano w fazie BBCH 60-69 - pełni kwitnienia gryki. Nasilenie występowania chorób infekcyjnych roślin między innymi zależy od przebiegu warunków hydrotermicznych, jednakże ze względu na jednosezonowość badań można je pominąć.

Przeprowadzona ocena zdrowotności gryki odmiany Kora wykazała, że z największym nasileniem na liściach (32,17) wystąpiła plamistość, która jest efektem kompleksowego porażenia wywołanego przez wiele gatunków grzybów (Rysunek 70). Kolejna choroba pod względem nasilenia występowania to mączniak rzekomy, powodowany przez *Pyrenospora ducometi*, średni indeks porażenia wynosił 18,92. Natomiast najsłabiej liście gryki porażał grzyb *Botrytis cinerea*, dla którego indeks wynosił 13,89.



Rysunek 70. Porażenie liści gryki przez grzyby niezależnie od zastosowanych zabiegów

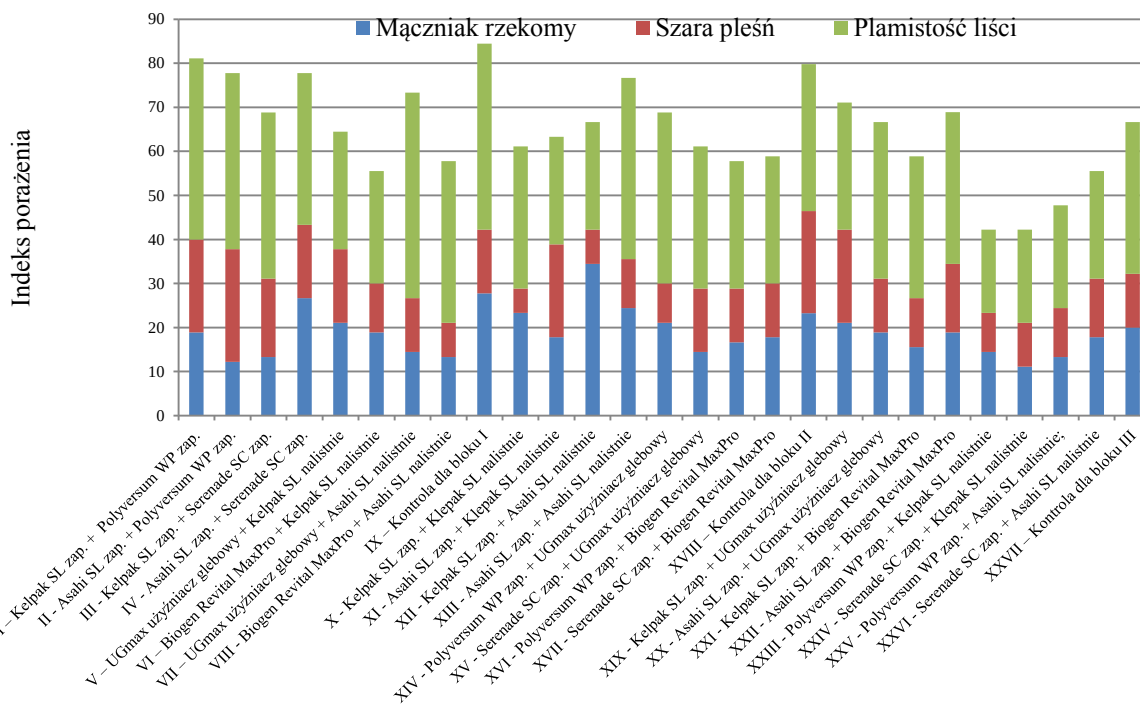
Zastosowane zabiegi ochronne z udziałem biopreparatów, biostymulatorów oraz użyźniaczy glebowych wpływały na ilość roślin porażanych przez poszczególnych sprawców chorób jak i na intensywność porażenia wyrażoną indeksem porażenia (Tabela 20, Rysunek 71 – Rysunek 73).

Tabela 20. Udział chorych roślin gryki w zależności od zastosowanych zabiegów biopreparatami, biostymulatorami oraz użyźniaczami glebowymi [%]

| Kombinacja                                         | Choroby liści [%]                                      |                                         |                                           |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                                    | Mączniak rzekomy gryki ( <i>Peronospora ducometi</i> ) | Szara pleśń ( <i>Botrytis cinerea</i> ) | Plamistości liści (Różne gatunki grzybów) |
| I – Kelpak SL zap. + Polyversum WP zap.            | 43,3                                                   | 36,6                                    | 93,3                                      |
| II - Asahi SL zap. + Polyversum WP zap.            | 36,7                                                   | 56,6                                    | 86,7                                      |
| III - Kelpak SL zap. + Serenade SC zap.            | 49,33                                                  | 43,3                                    | 80,0                                      |
| IV - Asahi SL zap. + Serenade SC zap.              | 73,33                                                  | 23,3                                    | 79,9                                      |
| V – UGmax użyźniacz glebowy + Kelpak SL nalistnie  | 60,0                                                   | 40,0                                    | 69,99                                     |
| VI – Biogen Revital MaxPro + Kelpak SL nalistnie   | 46,66                                                  | 26,7                                    | 59,99                                     |
| VII – UGmax użyźniacz glebowy + Asahi SL nalistnie | 39,99                                                  | 29,99                                   | 86,6                                      |
| VIII - Biogen Revital MaxPro + Asahi SL nalistnie  | 46,66                                                  | 16,66                                   | 83,3                                      |
| IX – Kontrola dla bloku I                          | 70,30                                                  | 39,99                                   | 96,65                                     |
| X - Kelpak SL zap. + Kelpak SL nalistnie           | 66,66                                                  | 13,3                                    | 69,99                                     |
| XI - Asahi SL zap. + Kelpak SL nalistnie           | 42,66                                                  | 36,6                                    | 56,66                                     |
| XII - Kelpak SL zap. + Asahi SL nalistnie          | 86,6                                                   | 16,6                                    | 49,99                                     |
| XIII - Asahi SL zap. + Asahi SL nalistnie          | 59,9                                                   | 13,3                                    | 76,66                                     |
| XIV - Polyversum WP zap. + UGmax użyźniacz glebowy | 59,9                                                   | 19,99                                   | 68,33                                     |
| XV - Serenade SC zap. + UGmax użyźniacz glebowy    | 43,3                                                   | 36,6                                    | 66,66                                     |
| XVI - Polyversum WP zap. + Biogen Revital MaxPro   | 46,6                                                   | 34,99                                   | 63,33                                     |
| XVII - Serenade SC zap. + Biogen Revital MaxPro    | 63,33                                                  | 26,7                                    | 76,6                                      |
| XVIII – Kontrola dla bloku II                      | 63,3                                                   | 46,6                                    | 79,9                                      |
| XIX - Kelpak SL zap. + UGmax użyźniacz glebowy     | 53,3                                                   | 46,6                                    | 79,9                                      |
| XX - Asahi SL zap. + UGmax użyźniacz glebowy       | 36,65                                                  | 33,3                                    | 86,6                                      |
| XXI - Kelpak SL zap. + Biogen Revital MaxPro       | 46,66                                                  | 33,3                                    | 73,33                                     |
| XXII - Asahi SL zap. + Biogen Revital MaxPro       | 43,29                                                  | 43,3                                    | 76,66                                     |
| XXIII - Polyversum WP zap. + Kelpak SL nalistnie   | 36,65                                                  | 23,33                                   | 36,66                                     |
| XXIV - Serenade SC zap. + Kelpak SL nalistnie      | 29,98                                                  | 26,6                                    | 43,33                                     |
| XXV - Polyversum WP zap. + Asahi SL nalistnie      | 33,0                                                   | 29,9                                    | 53,33                                     |
| XXVI - Serenade SC zap. + Asahi SL nalistnie       | 43,29                                                  | 33,30                                   | 60,0                                      |
| XXVII – Kontrola dla bloku III                     | 50,01                                                  | 36,66                                   | 79,9                                      |

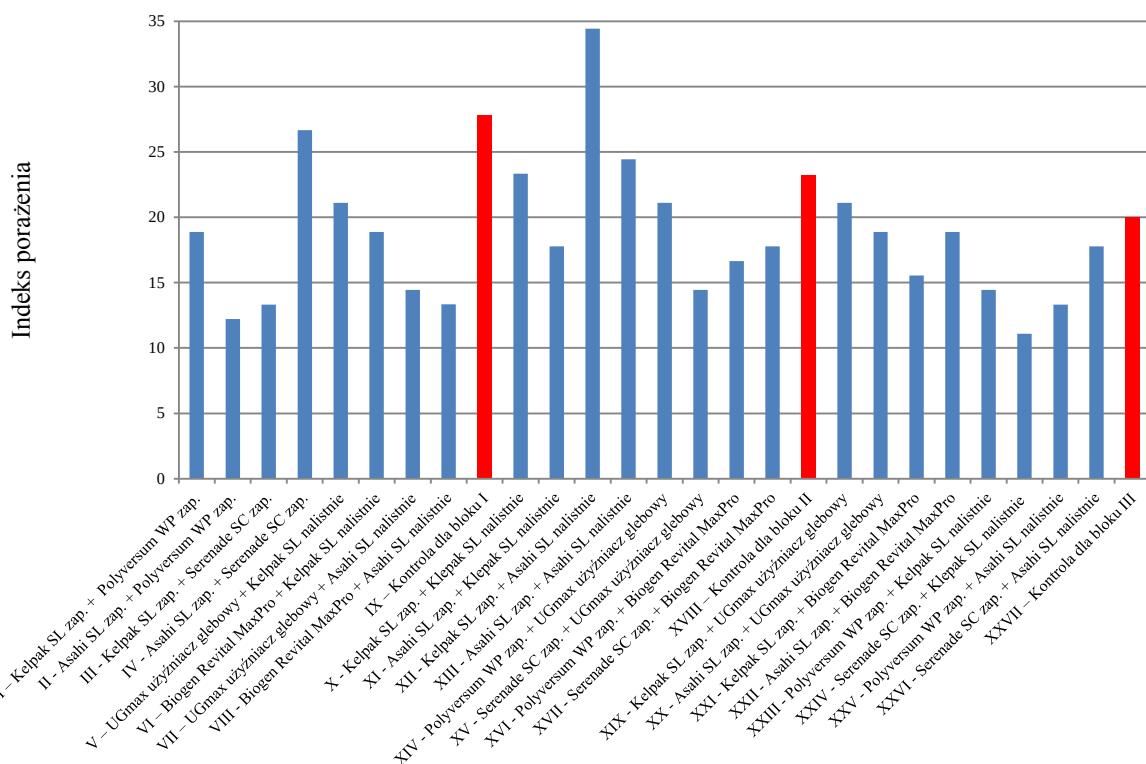
Większość zastosowanych wariantów ochrony skutecznie ograniczała udział roślin z objawami porażenia liści przez *Peronospora ducometi*, liczne gatunki wywołujące plamistości liści oraz *Botrytis cinerea*, co udokumentowano w tabeli (Tabela 20). Wzrost udziału roślin z objawami mączniaka rzekomego zanotowano jedynie w kombinacjach: IV (Asahi SL zap.+Serenade zap.), XII (Asahi SL zap.+ Asahi SL nalistnie) oraz XIX (Kelpak zap. + UGmax), która sprzyjała także infekcjom *Botrytis cinerea*. Poza tym zwiększony odsetek roślin z objawami szarej pleśni notowano pod wpływem łącznego stosowania do zaprawiania nasion Asahi zap.+ Polyversum WP (II) oraz Kelpak SL + Serenade SC (III). W badanym sezonie wegetacyjnym rejestrowano od 43,33% do 96,65% udział roślin z objawami plamistości liści. Przy czym najniższy udział notowano w kombinacji XXIV gdzie przedsięwzięcie nasiona zaprawiono preparatem Serenade ASO i później nalistnie aplikowano biostymulator Kelpak SL.

Parametrem dokładniej charakteryzującym zdrowotność roślin jest indeks porażenia, który wskazuje na zależność między intensywnością porażenia (stopniem porażenia), a ilością roślin porażonych. Z zestawienia indeksów porażenia liści dla wszystkich jednostek chorobowych wynika, że we wszystkich kombinacjach w obrębie I i II bloku sumaryczne nasilenie chorób było niższe niż w obiektach kontrolnych (Rysunek 71). Natomiast nieznaczne pogorszenie zdrowotności liści notowano w bloku III w kombinacji XIX (Kelpak SL zap. + UGmax oraz XXII (Asahi SL+ Biogen Revital Max Pro).



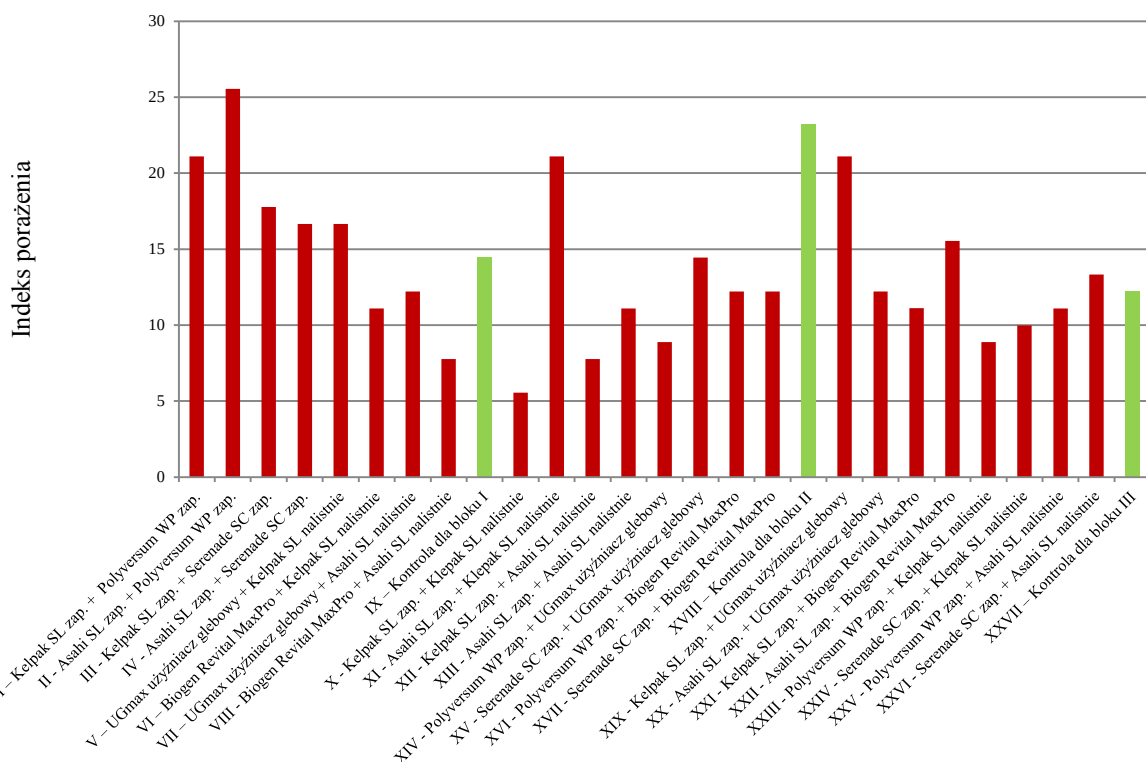
Rysunek 71. Wpływ różnego rodzaju biopreparatów i sposobu ich stosowania na występowanie chorób liści gryki

Do najsilniejszego ograniczenia rozwoju mączniaka rzekomego na liściach (11,1) przyczyniło się zaprawienie nasion biopreparatem Serenade ASO oraz nalistna aplikacja biostymulatora Kelpak SL (Rysunek 72). Nieco gorsze efekty, ale w porównaniu z kontrolą dwukrotnie mniejsze nasilenie porażenia liści przez *Pyrenospora ducometi* uzyskano w kombinacjach łącznego zaprawiania nasion biopreparatami z biostymulatorami II –Asahi SL zap. + Polyversum WP zap., III – Kelpak SL zap. + Serenade SC zap., a także przy samodzielnym zaprawieniu nasion biopreparatami i późniejszą aplikacją nalistną biostymulatorów (XXV i XXIII). Nieznacznie gorsze efekty ochronne z indeksem porażenia na poziomie 13,32 -14,44 notowano pod wpływem użyźniaczy glebowych (UGmax, Biogen Revital Max Pro) i nalistnej aplikacji biostymulatora Asahi SL (VII, VIII).

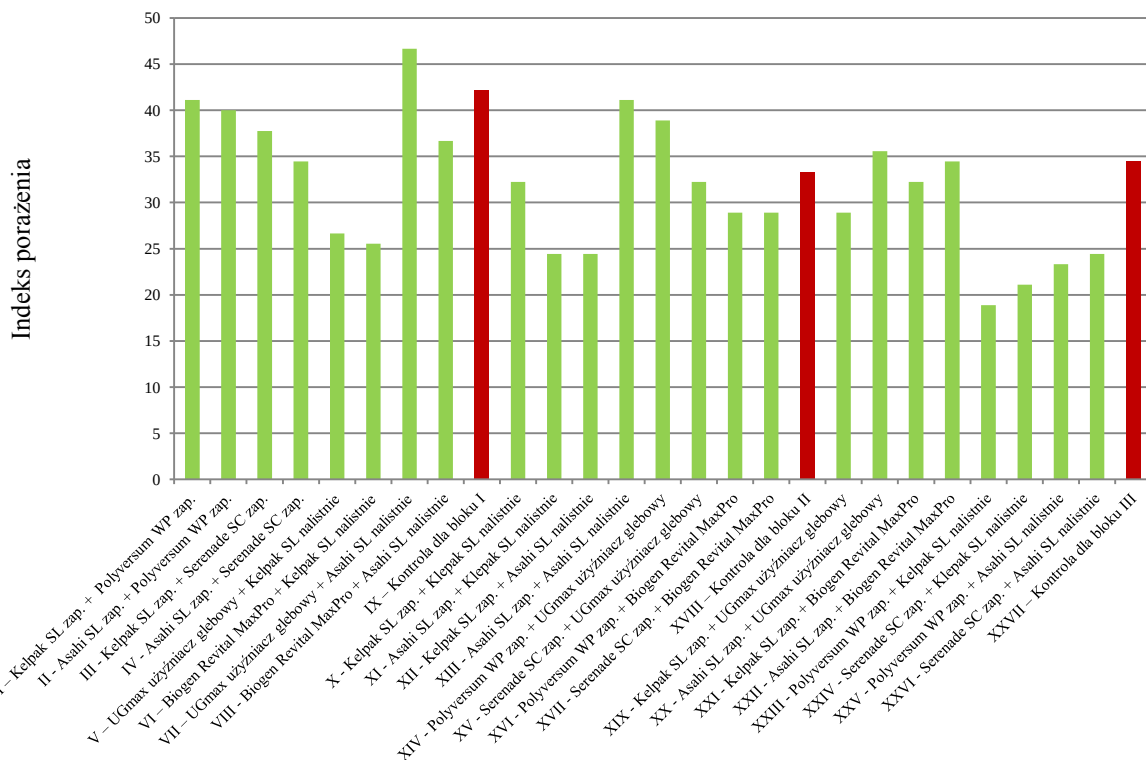


Rysunek 72. Wpływ różnego rodzaju biopreparatów i sposobu ich stosowania na nasilenie występowania mączniaka rzekomego na liściach gryki

W obrębie I bloku najniższy indeks porażenia przez *Botrytis cinerea* wynoszący 7,77 notowano dla użyźniacza gleby Biogen Revital Max Pro + nalistnie Asahi SL (Rysunek 74). Z kolei w obrębie kombinacji drugiego bloku obserwowano na ogół najsilniejsze ograniczenie nasilenia występowania szarej pleśni. Przy czym najniższy indeks porażenia 5,55 (czterokrotnie mniejszy niż w kontroli) stwierdzono w obiekcie z biostymulatorem Kelpak SL zastosowanym jako zaprawa i do opryskiwania. Niezależnie od zastosowanych zabiegów z największą intensywnością w zakresie 18,88-46,66 pojawiała się plamistość liści – sklasyfikowana jako jednostka chorobowa gryki powodowana przez kompleks grzybów (Rysunek 75).



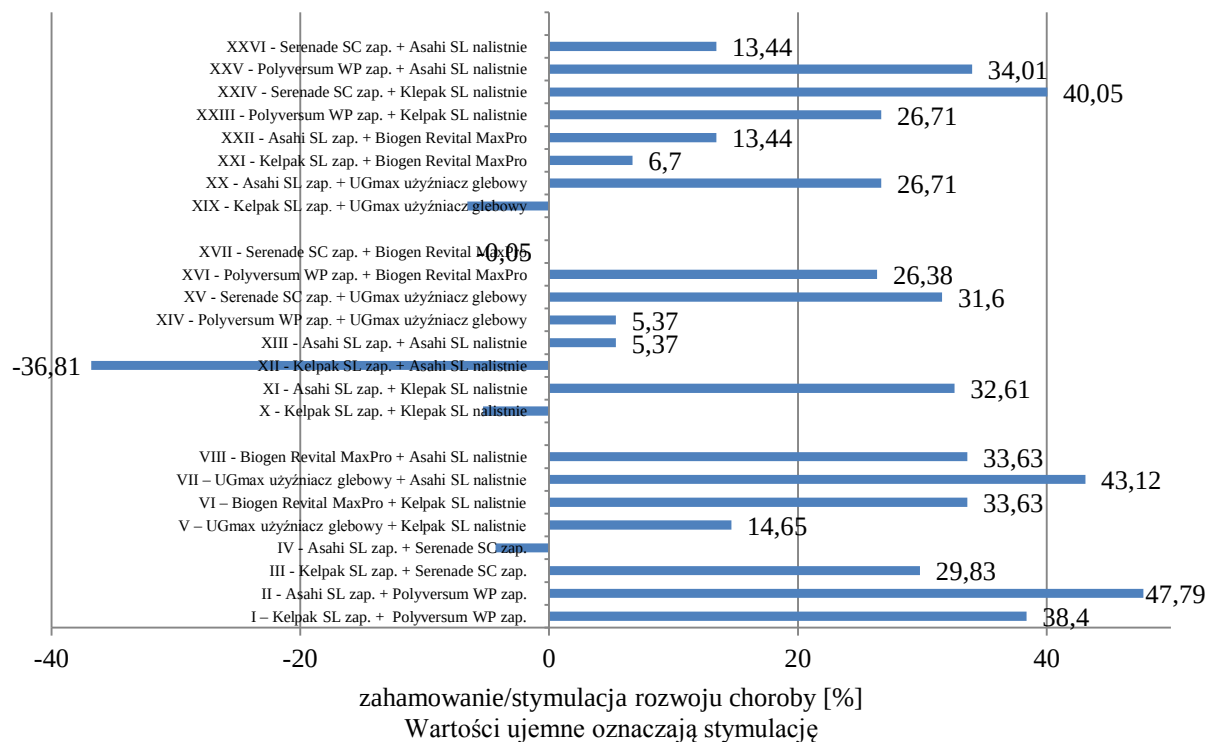
Rysunek 73. Wpływ różnego rodzaju biopreparatów i sposobu ich stosowania na nasilenie występowania szarej pleśni na liściach gryki



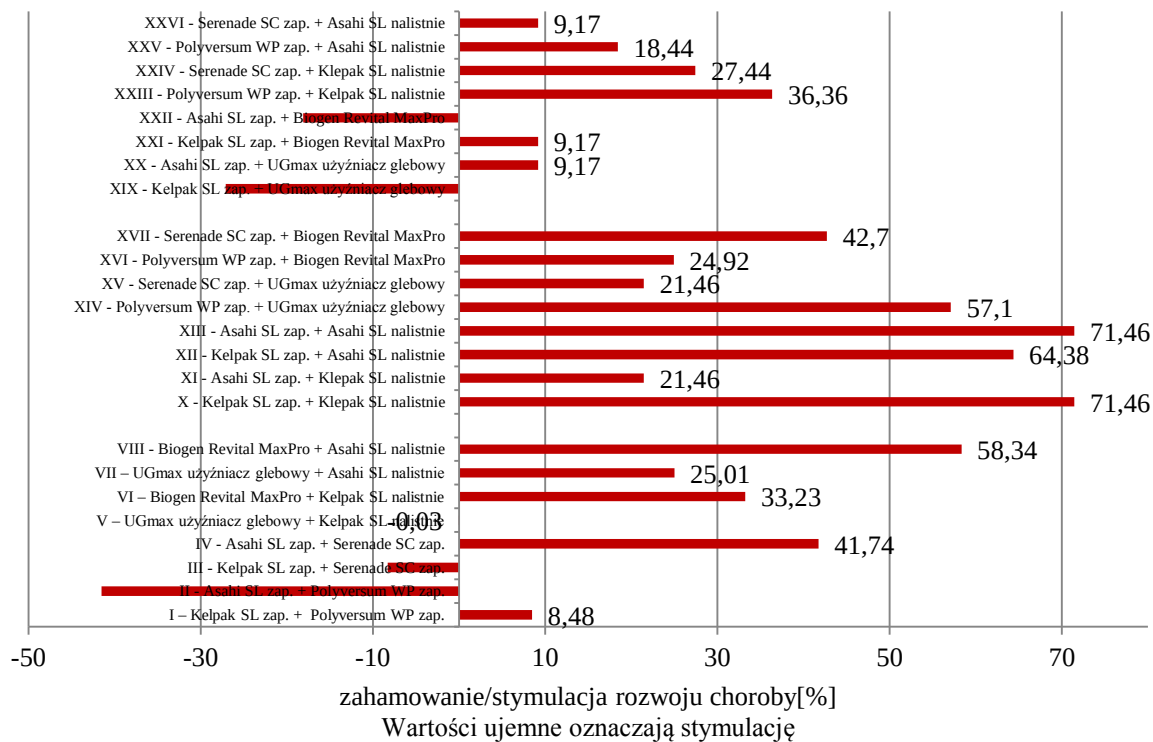
Rysunek 74. Wpływ różnego rodzaju biopreparatów i sposobu ich stosowania na nasilenie występowania plamistości liści gryki

Na rysunkach zaprezentowano wartości współczynników zahamowania rozwoju analizowanych chorób liści gryki, które zarazem odzwierciedlają skuteczność ochronną stosowanych zabiegów w odniesieniu do kontroli (bez ochrony) (Rysunek 75 – Rysunek 77). Jasny i przejrzysty charakter rysunków nie wymaga dodatkowej interpretacji, daje możliwość szybkiego porównania i określenia efektów ochronnych w poszczególnych kombinacjach. Umożliwia uszeregowanie wariantów zabiegów ochronnych według ich skuteczności wobec poszczególnych jednostek chorobowych. Z analizy współczynników zahamowania wynika, że stosowane zabiegi w największym stopniu ograniczały rozwój szarej pleśni. Przy czym w dwóch kombinacjach: X (Kelpak SL zap. + Kelpak SL nalistnie) oraz XIII (Asahi SL zap. + Asahi nalistnie) wartość współczynnika zahamowania przekroczyła aż 70%, a w trzech kolejnych VIII, XII i XIV 50% (Rysunek 76). Zarówno dla mączniaka rzekomego jak i szarej pleśni czterokrotnie stwierdzono stymulację nasilenia tych chorób. Zaprawianie nasion biostymulatorem Kelpak SL i zastosowanie użyźniacza gleby UGmax sprzyjało rozwojowi obydwóch chorób (Rysunek 75, Rysunek 76). Z kolei najwyższą stymulację (ponad 40%) szarej pleśni notowano w kombinacji II z udziałem Asahi SL zap. + Polyversum WP zap., a mączniaka rzekomego w XII (Kelpak SL zap. + Asahi SL nalistnie). Najsłabszy efekt ochronny dla plamistości liści gryki, zaznaczył się w kombinacji XXIII (Polyversum zap. + Kelpak SL nalistnie) (Rysunek 77).

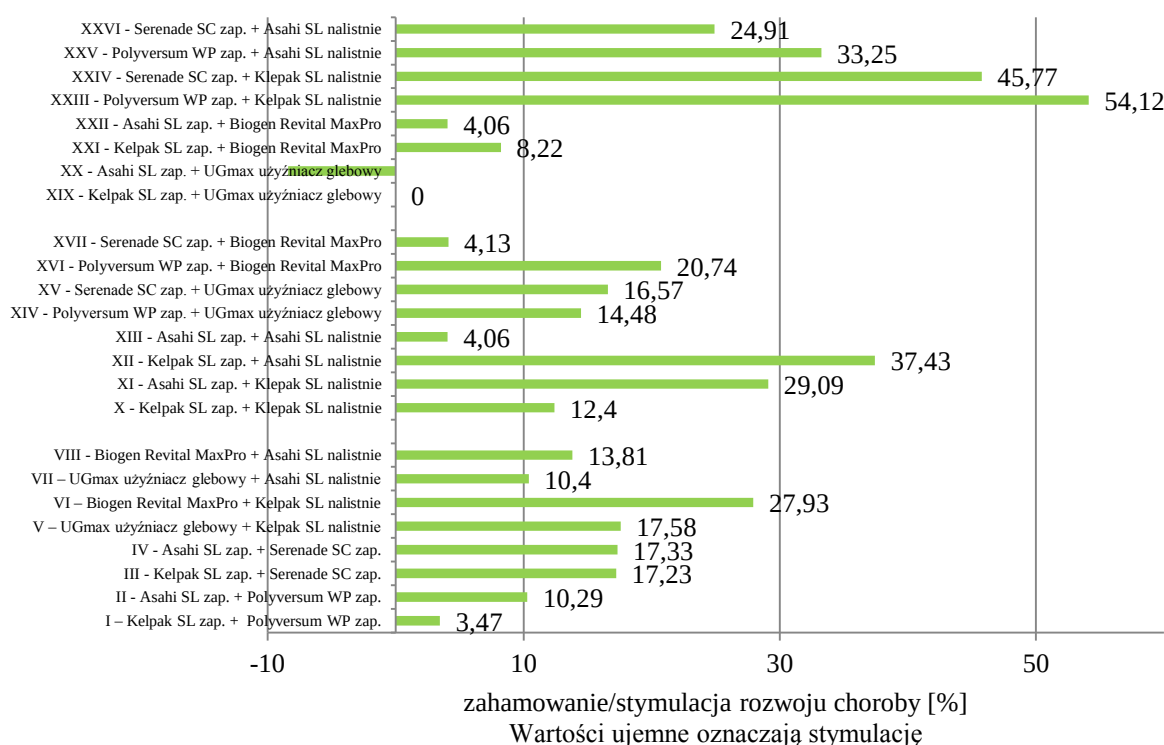




Rysunek 75. Skuteczność biopreparatów w ochronie gryki przed *Peronospora ducometi*



Rysunek 76. Skuteczność biopreparatów w ochronie gryki przed *Botrytis cinerea*

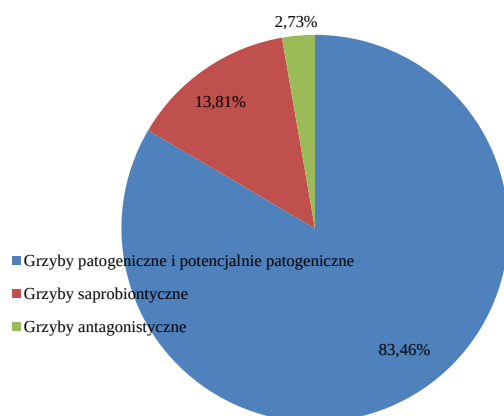


Rysunek 77. Skuteczność biopreparatów w ochronie gryki przed plamistością liści

Przyczyną słabej efektywności ochronnej zastosowanych biopreparatów, biostymulatorów i użyźniaczy gleby wobec plamistości liści może być złożoność gatunkowa grzybów uczestniczących w procesie chorobotwórczym. Za sprawców tej choroby uważane są następujące gatunki grzybów: *Ascochyta* spp., *Alternaria* spp., *Bipolaris sorokiniana*, *Phyllostica polygonarum*, *Fusicladium fagopyri*.

Przeprowadzona analiza mikologiczna potwierdziła złożoność czynników chorobotwórczych dla plamistości liści. Z nekrotycznych plam wyizolowano 26 gatunków grzybów, które przynależały do 18 rodzajów (Tabela 21). W społeczności grzybów gatunki: *Botrytis cinerea* i *Alternaria alternata* stanowiły 47,36%. W randze dominantów, z łącznym udziałem 11,09%, wystąpiły *Phyllostica polygonarum* oraz *Bipolaris sorokiniana*. Częstotliwość występowania na poziomie subdominantów (2,1-5,0%) uzyskały kolejno gatunki: *Fusarium solani* (3,37%), *Colletotrichum* spp. (3,16%), *Curvularia* spp. (3,11%) oraz *Fusarium oxysporum* (3,02%). Jednakże nie należy pominąć gatunków o mniejszej częstotliwości występowania, chociażby recedentach (2% -1%) do których zaliczono sześć ważnych gospodarczo patogenów: *Ramularia* spp., *Phoma glomerata* i grzyby z rodzaju *Fusarium*. Również w grupie o najniższej frekwencji (subrecedentów) znalazły się patogeniczne gatunki *Fusarium* oraz polifag *Sclerotinia sclerotiorum*. Łącznie 13,81% udział

miały grzyby saprobiontyczne wśród, których dominował *Epicoccum nigrum* (6,61%), a towarzyszył mu subdominant *Chaetomium globosum* (4,31%) oraz 4 gatunki w randze subrecedentów o łącznym udziale 2,89%) (Tabela 21, Rysunek 78). W ogólnej populacji grzybów wyosobnionych z liści gryki stwierdzono obecność grzybów antagonistycznych: *Trichoderma koningii* i *Trichoderma viride* o łącznej frekwencji 2,73%.



Rysunek 78. Struktura zbiorowiska grzybów wyizolowanych z liści gryki

Tabela 21. Grzyby wyizolowane z liści gryki z objawami plamistości

| Gatunek grzyba                                  | Liczba<br>izolatów | Częstotliwość<br>wysobnień C | Przynależność<br>do grup frekwencyjnych |
|-------------------------------------------------|--------------------|------------------------------|-----------------------------------------|
| Grzyby patogeniczne i potencjalnie patogeniczne |                    |                              |                                         |
| <i>Botrytis cinerea</i>                         | 694                | 29,61                        | Eudominanci                             |
| <i>Alternaria alternata</i>                     | 416                | 17,75                        | (47,36%)                                |
| <i>Phyllostica polygonarum</i>                  | 120                | 5,12                         | Dominanci                               |
| <i>Bipolaris sorokiniana</i>                    | 140                | 5,97                         | (11,09%)                                |
| <i>Fusarium solani</i>                          | 79                 | 3,37                         | Subdominanci (12,66%)                   |
| <i>Colletotrichum spp.</i>                      | 74                 | 3,16                         |                                         |
| <i>Curvularia spp.</i>                          | 73                 | 3,11                         |                                         |
| <i>Fusarium oxysporum</i>                       | 71                 | 3,02                         |                                         |
| <i>Fusarium equiseti</i>                        | 42                 | 1,79                         |                                         |
| <i>Ramularia spp.</i>                           | 39                 | 1,66                         | Recedenci<br>(9,03)                     |
| <i>Phoma glomerata</i>                          | 36                 | 1,53                         |                                         |
| <i>Phoma sorghiana</i>                          | 35                 | 1,49                         |                                         |
| <i>Microsporium equinum</i>                     | 31                 | 1,32                         |                                         |
| <i>Fusarium culmorum</i>                        | 29                 | 1,24                         |                                         |
| <i>Fusarium proliferatum</i>                    | 22                 | 0,94                         | Subrecedenci<br>(3,28)                  |
| <i>Fusarium incarnatum</i>                      | 19                 | 0,81                         |                                         |
| <i>F. sporotrichoides</i>                       | 19                 | 0,81                         |                                         |
| <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>                 | 17                 | 0,72                         |                                         |
| Grzyby saprobiontyczne                          |                    |                              |                                         |
| <i>Epicoccum nigrum</i>                         | 155                | 6,61                         | Dominant (6,61)                         |
| <i>Chaetomium globosum</i>                      | 101                | 4,31                         | Subdominant (4,31)                      |
| <i>Cladosporium herbarum</i>                    | 24                 | 1,02                         | Subrecedenci<br>(2,89)                  |
| <i>Aspergillus niger</i>                        | 18                 | 0,77                         |                                         |
| <i>Mucor spp.</i>                               | 14                 | 0,59                         |                                         |
| <i>Acremonium strictum</i>                      | 12                 | 0,51                         |                                         |
| Grzyby antagonistyczne                          |                    |                              |                                         |
| <i>Trichoderma koningii</i>                     | 38                 | 1,62                         | Recedenci (2,73)                        |
| <i>Trichoderma viride</i>                       | 26                 | 1,11                         |                                         |

Udział poszczególnych gatunków i ich częstotliwość wysobnień oraz nasilenie występowania choroby kształtowały zastosowane zabiegi ochronne. W świetle przeprowadzonych badań w większości przypadków stwierdzono zależność między nasileniem porażenia, a liczebnością uzyskanych zbiorowisk grzybów. Wyniki przedstawiają społeczności grzybów, wzajemny stosunek grup troficznych w badanych kombinacjach ochrony gryki (Tabela 22, Rysunek 78, Rysunek 79).

W zbiorowiskach grzybów wyizolowanych z wszystkich kombinacji ochrony stałość występowania zaznaczył gatunek potencjalnie patogeniczny *Alternaria alternata* oraz patogeniczny *Botrytis cinerea*. Jednakże ich udział podobnie jak pozostałych, o mniejszej stałości, determinowały zastosowane biopreparaty, biostymulatory i użyźniacze gleby.

Największą bioróżnorodnością gatunków, w liczbie 18, odznaczało się zbiorowisko grzybów z obiektu XX, w którym przedsięwzięcie zaprawiono nasiona biostymulatorem Asahi SL i dogłębowo wprowadzano użyźniacz UGmax (Tabela 22). Liczebność tego zbiorowiska (100 izolatów) stanowiła 4,26% ogółu populacji wyizolowanych grzybów (Rysunek 79). Równie bogaty skład gatunkowy zbiorowiska stwierdzono w przypadku zaprawiania nasion Polyversum WP + Biogen Revital Max Pro. Z kolei zbiorowiska grzybów wyizolowane z obiektów XII (Klepak SL zap. + Asahi SL nalistnie), XXIV (Serenade ASO zap. + Klepak SL nalistnie) i XXVI (Serenade ASO zap. + Asahi SL) odznaczały się znacznie zredukowaną ilością gatunków, których stwierdzono tylko 6, przy jednocześnie najmniejszych frekwencjach.

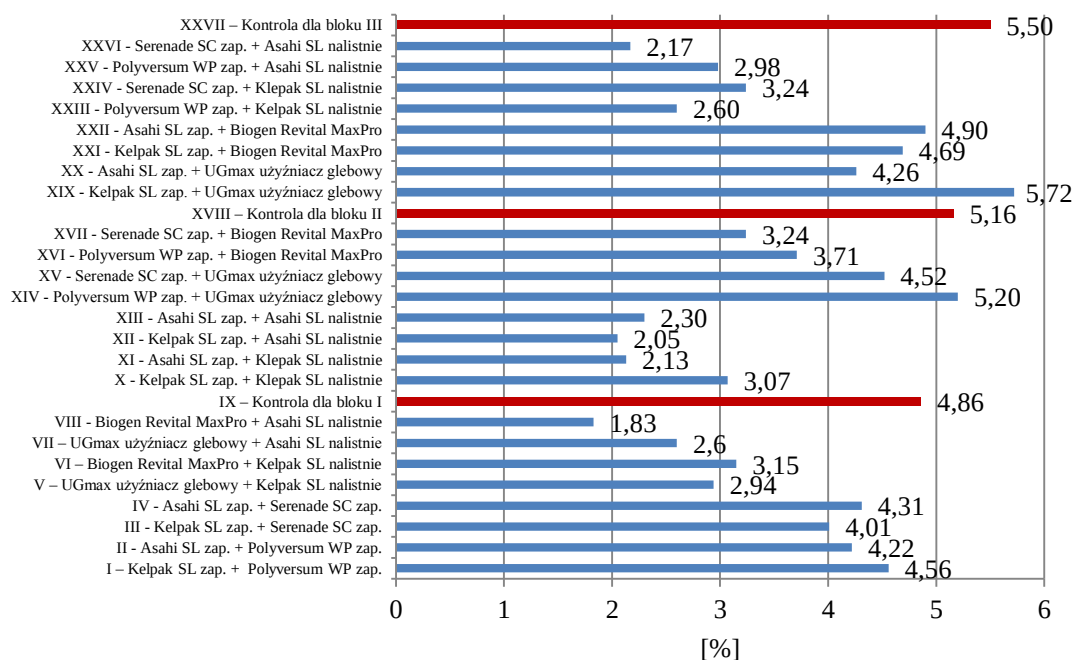
Na ogół zbiorowiska grzybów odpowiedzialne za rozwój plamistości w obrębie każdej kombinacji z decydującą przewagą zawierały gatunki patogeniczne (51,17-98,04%) (Rysunek 80). Jednakże 100% frekwencję patogenów odnotowano w przypadku kombinacji XII (Klepak SL zap.+ Asahi SL nalistnie). Z kolei najmniejszą ilość patogenów (51,15 i 51,38%), a zarazem największą saprobiontów (27,54 i 31,94%) reprezentowanych głównie przez *Epicoccum nigrum* oraz wysoką antagonistów (20,29 i 16,67%), stwierdzano w populacji grzybów wyizolowanych z liści gryki pochodzących z obiektów V (UGmax + Klepak SL nalistnie) i X (Klepak SLzap. + Klepak SL nalistnie). W kombinacji XXIII (Polyversum WP zap. + Klepak SL nalistnie) odnotowano największy 24, 59% udział antagonistycznych gatunków *Trichoderma koningii* i *Trichoderma viride* (Rysunek 80).

#### Legenda do Tabela 22

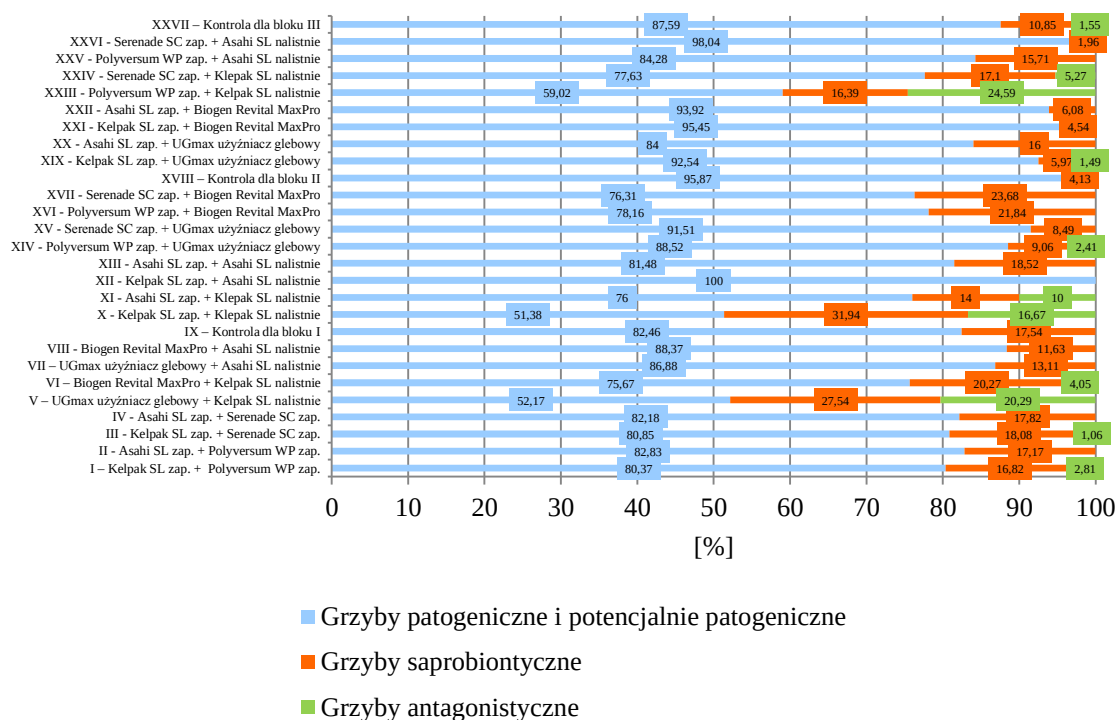
|                                           |                                                |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------|
| I – Klepak SL zap. + Polyversum WP zap.   | XV - Serenade ASO zap. + UGmax użyźniacz       |
| II - Asahi SL zap. + Polyversum WP zap.   | XVI - Polyversum WP zap. + Biogen Revital      |
| III - Klepak SL zap. + Serenade ASO zap.  | XVII - Serenade ASO zap. + Biogen Revital      |
| IV - Asahi SL zap. + Serenade ASO zap.    | XVIII – Kontrola dla bloku II                  |
| V – UGmax użyźniacz glebowy + Klepak SL   | XIX - Klepak SL zap. + UGmax użyźniacz         |
| VI – Biogen Revital MaxPro + Klepak SL    | XX - Asahi SL zap. + UGmax użyźniacz glebowy   |
| VII – UGmax użyźniacz glebowy + Asahi SL  | XXI - Klepak SL zap. +; Biogen Revital MaxPro  |
| VIII - Biogen Revital MaxPro + Asahi SL   | XXII - Asahi SL zap. + Biogen Revital MaxPro   |
| IX – Kontrola dla bloku I                 | XXIII - Polyversum WP zap. + Klepak SL         |
| X - Klepak SL zap. + Klepak SL nalistnie  | XXIV - Serenade ASO zap. + Klepak SL nalistnie |
| XI - Asahi SL zap. + Klepak SL nalistnie  | XXV - Polyversum WP zap. + Asahi SL nalistnie  |
| XII - Klepak SL zap. + Asahi SL nalistnie | XXVI - Serenade ASO zap. + Asahi SL nalistnie  |
| XIII - Asahi SL zap. + Asahi SL nalistnie | XXVII – Kontrola dla bloku III                 |
| XIV - Polyversum WP zap. + UGmax          |                                                |

Tabela 22. Analiza ilościowa i jakościowa grzybów zasiedlających liście gryki w zależności od zastosowanych zabiegów ochronnych

| Gatunek grzyba                  | I   | II | III | IV  | V  | VI | VII | VIII | IX  | X  | XI | XII | XIII | XIV | XV  | XVI | XVII | XVIII | XIX | XX  | XXI | XXII | XXIII | XXIV | XXV | XXVI | XXVII |
|---------------------------------|-----|----|-----|-----|----|----|-----|------|-----|----|----|-----|------|-----|-----|-----|------|-------|-----|-----|-----|------|-------|------|-----|------|-------|
| <i>Acremonium strictum</i>      | 2   | 3  | 3   |     | 1  |    |     |      |     |    |    |     |      |     |     | 1   |      |       |     |     |     |      |       |      | 2   |      |       |
| <i>Alternaria alternata</i>     | 21  | 9  | 14  | 19  | 10 | 17 | 16  | 10   | 9   | 19 | 17 | 25  | 15   | 27  | 23  | 3   | 9    | 5     | 21  | 12  | 32  | 25   | 4     | 3    | 15  | 16   | 20    |
| <i>Aspergillus niger</i>        | 2   | 3  |     |     |    |    | 1   |      | 2   | 3  |    |     |      |     |     |     | 1    |       |     | 2   |     |      |       |      | 4   |      |       |
| <i>Bipolaris sorokiniana</i>    | 13  | 3  | 9   | 2   |    | 19 | 8   | 11   | 5   | 6  | 5  | 2   |      | 4   | 7   | 6   | 2    | 11    | 8   | 3   | 4   | 7    | 1     |      | 5   |      | 9     |
| <i>Botrytis cinerea</i>         | 28  | 45 | 32  | 27  | 21 | 12 | 10  | 6    | 33  | 5  | 12 | 9   | 15   | 39  | 41  | 9   | 15   | 57    | 35  | 20  | 28  | 26   | 26    | 55   | 21  | 23   | 44    |
| <i>Chaetomium globosum</i>      | 3   | 1  | 7   | 4   | 8  |    | 7   | 5    | 12  | 6  |    |     | 6    | 4   | 2   | 1   | 5    | 4     | 4   | 8   | 5   |      | 1     |      |     |      | 8     |
| <i>Cladosporium herbarum</i>    |     |    |     |     |    |    |     |      |     |    |    |     |      |     |     | 11  |      |       |     | 3   |     | 7    |       |      | 3   |      |       |
| <i>Colletotrichum spp.</i>      | 9   | 6  | 3   | 3   |    |    | 3   | 2    | 13  |    |    | 7   | 2    |     |     |     |      | 8     | 7   | 4   |     | 5    |       |      |     |      | 2     |
| <i>Curvularia spp.</i>          | 4   | 2  | 4   | 1   | 3  |    | 5   | 2    | 7   |    |    |     |      | 6   | 2   | 9   | 3    | 7     | 2   | 1   | 5   | 1    |       |      | 2   |      | 7     |
| <i>Epicoccum nigrum</i>         | 10  | 9  | 7   | 9   | 10 | 15 |     |      | 3   | 14 | 7  |     | 4    | 5   | 6   | 6   | 12   | 1     | 3   | 3   |     |      | 9     | 13   | 2   | 1    | 6     |
| <i>Fusarium culmorum</i>        |     |    |     | 4   |    |    | 3   |      |     |    |    | 2   |      |     |     | 4   |      |       |     | 11  |     | 5    |       |      |     |      |       |
| <i>Fusarium equiseti</i>        |     | 2  |     |     |    |    |     |      | 1   |    |    |     |      | 12  |     |     |      |       | 15  |     |     |      |       | 3    | 5   | 4    |       |
| <i>Fusarium incarnatum</i>      |     |    |     |     |    |    | 2   |      |     |    |    |     |      | 3   | 7   | 4   |      |       |     | 3   |     |      |       |      |     |      |       |
| <i>Fusarium oxysporum</i>       |     |    | 8   |     |    | 12 | 5   |      |     | 5  |    | 3   | 4    | 2   | 1   | 4   | 6    |       | 3   |     | 7   | 5    | 3     |      |     |      | 3     |
| <i>Fusarium proliferatum</i>    |     | 2  | 1   |     |    |    |     |      | 1   |    |    |     | 1    | 2   | 3   | 5   | 1    | 2     |     | 3   | 1   |      |       |      |     |      |       |
| <i>Fusarium solani</i>          |     |    | 1   | 3   |    |    |     | 1    | 7   |    |    |     |      |     |     | 7   | 5    | 13    | 9   | 5   | 8   | 15   |       |      | 1   |      | 4     |
| <i>F. sporotrichoides</i>       |     |    |     |     |    | 4  |     |      |     |    |    |     |      |     |     | 2   | 7    |       | 6   |     |     |      |       |      |     |      |       |
| <i>Microsporium equinum</i>     | 8   | 6  |     |     | 1  |    |     | 1    |     |    |    |     |      | 2   |     |     |      | 1     |     | 4   |     | 3    |       |      |     |      | 5     |
| <i>Mucor spp.</i>               | 1   | 1  |     | 5   |    |    |     |      | 3   |    |    |     |      | 2   | 1   |     |      |       | 1   |     |     |      |       |      |     |      |       |
| <i>Phoma glomerata</i>          |     |    |     | 2   |    |    |     | 1    | 1   |    | 2  |     | 3    | 6   |     | 2   |      |       | 4   | 1   | 8   | 3    | 1     |      | 2   |      |       |
| <i>Phoma sorghiana</i>          |     | 3  |     | 4   | 1  |    |     |      |     |    |    |     |      |     |     |     |      |       | 3   |     |     | 4    |       |      | 9   | 4    | 7     |
| <i>Phyllostica polygonarum</i>  | 2   | 4  | 1   | 9   |    | 2  | 1   | 2    | 5   | 2  | 2  |     | 3    | 5   | 11  | 8   | 6    | 9     | 8   | 14  | 10  | 8    | 1     | 1    |     | 2    | 4     |
| <i>Ramularia spp.</i>           | 1   |    | 3   | 3   |    |    |     | 2    | 4   |    |    |     | 1    |     | 2   | 5   | 2    | 3     | 3   | 2   | 2   | 1    |       |      | 1   |      | 4     |
| <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> |     |    |     | 6   |    |    |     |      | 8   |    |    |     |      |     |     |     | 2    |       |     | 1   |     |      |       |      |     |      |       |
| <i>Trichoderma koningii</i>     | 2   |    | 1   |     | 11 | 3  |     |      |     | 5  | 1  |     |      | 2   |     |     |      |       |     |     |     |      | 8     | 3    |     |      | 2     |
| <i>Trichoderma viride</i>       | 1   |    |     |     | 3  |    |     |      |     | 7  | 4  |     |      | 1   |     |     |      |       | 2   |     |     |      | 7     | 1    |     |      |       |
| Łącznie                         | 107 | 99 | 94  | 101 | 69 | 74 | 61  | 43   | 114 | 72 | 50 | 48  | 54   | 122 | 106 | 87  | 76   | 121   | 134 | 100 | 110 | 115  | 61    | 76   | 70  | 51   | 129   |



Rysunek 79. Wpływ zabiegów wykonywanych biopreparatami i biostymulatorami na liczebność grzybów izolowanych z liści gryki w odniesieniu do ogółu wyosobnień



Rysunek 80. Struktura społeczności grzybów wyizolowanych z liści gryki w zależności od zastosowanych biopreparatów i biostymulatorów

Na podstawie przeprowadzonej oceny porażenia podstawy łodyg i korzeni gryki stwierdzono, że zmiany zgorzelowe obejmują średnio od 16,66% do 46,66% roślin (Tabela 23). Największy udział roślin porażonych stwierdzono w kombinacji XXII, w której przedsięwzięcie orzeszki zaprawiono biostymulatorem Asahi SL, a do gleby wniesiono użyźniacz Biogen Revital Max Pro. Wysoki odsetek roślin (39,99%) ze zgorzelą korzeni i podstawy łodygi notowano w obiekcie VI, również z udziałem Biogen Revital Max Pro i biostymulatorem Kelpak SL aplikowanym nalistnie oraz kontroli I bloku. Z kolei najmniejszą ilość roślin porażonych (16,66%) notowano w kombinacji z udziałem biostymulatora Kelpak SL zap. i użyźniacza UGmax. Pozostałe kombinacje ochronne także przyczyniły się do ograniczenia rozwoju zgorzeli podstawy łodygi i korzeni. Natomiast wartości współczynników zahamowania rozwoju choroby wyrażają ich skuteczność (Rysunek 81). Okazało się, że biostymulator na bazie auksyn i cytokinin (Kelpak SL) zastosowany do zaprawiania nasion oraz użyźniacz UGmax (XIX) w 54,56% ograniczają występowanie chorób zgorzelowych. Nieco niższą, ale równie wysoką skuteczność, na poziomie prawie 50% stwierdzono także w przypadku dodatkowego zaprawiania nasion biopreparatem Serenade ASO (III). Podobnie wysoką skuteczność w ochronie gryki przed zgorzelami wykazał biopreparat Polyversum WP + Kelpak SL aplikowany nalistnie (XIII). Z kolei podwójne zaprawienie z udziałem Serenade ASO i biostymulatora Asahi SL i (XXVI) nie dawało żadnych efektów ochronnych. Brak skuteczności obserwowano także w kombinacjach: VI (Biogen Revital Max Pro + Kelpak SL nalistnie) i XVII (Serenade ASO zap. + Biogen Revital Max Pro) (Rysunek 81).

W wyniku przeprowadzonej izolacji grzybów z porażonych korzeni gryki uzyskano łącznie 2959 izolatów, z czego 659 przypadało na *Alternaria alternata*, co stanowiło aż 22,27% udziału wyosobnionych grzybów (Tabela 24). Poza tym w randze eudominantów wystąpiły *Bipolaris sorokiniana* (12,23%) i *Fusarium proliferatum* (11,46%), które łącznie z *A. alternata* stanowiły 45,96%. Zbiorowiska grzybów wyizolowanych z korzeni gryki, w porównaniu z uzyskanymi z liści, były bardziej zróżnicowane pod względem gatunkowym (32 gatunki) oraz liczniejsze.

Zastosowane kombinacje z wykorzystaniem różnych wariantów łączenia biopreparatów z biostymulatorami oraz użyźniaczami gleb kształtowały zarówno pod względem ilościowym jak i jakościowym zbiorowiska wyizolowanych z korzeni grzybów (Tabela 25). Wyrazem tego są duże rozbieżności między zbiorowiskami grzybów wyosobnionych w poszczególnych kombinacjach. Najuboższa pod tym względem była populacja grzybów uzyskana z korzeni gryki pochodzącej z obiektu X (Kelpak SL zap. +

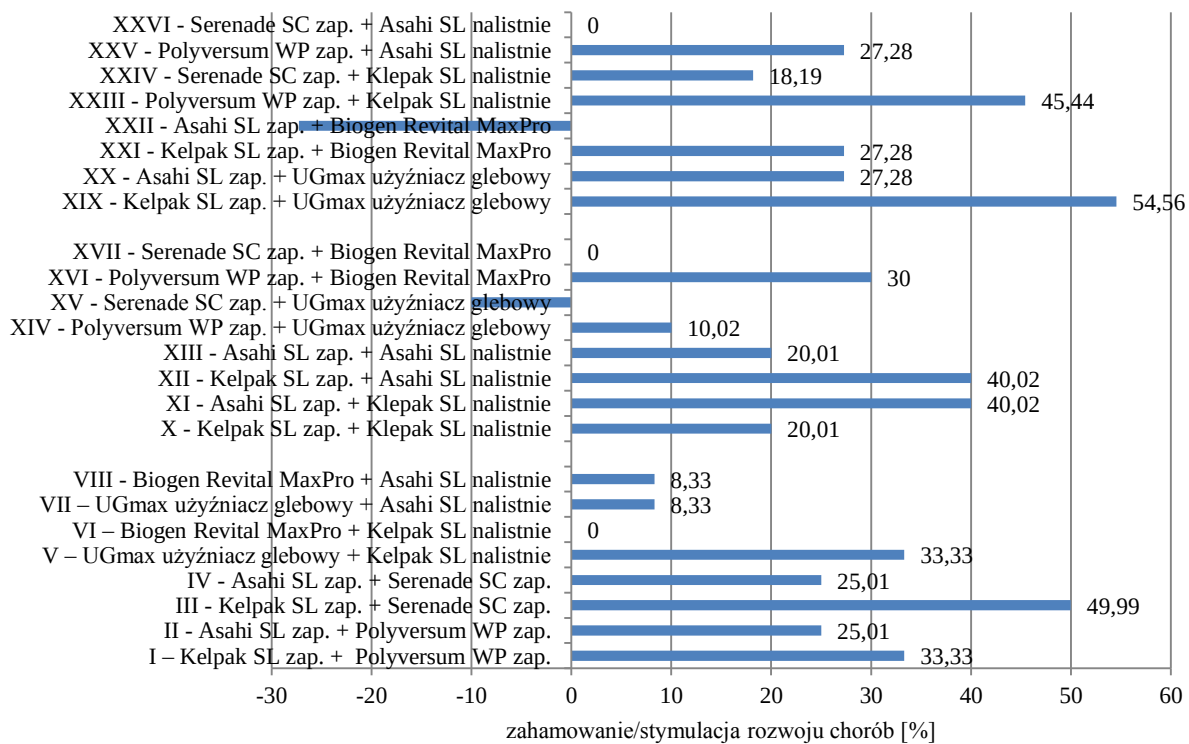


Kelpak SL nalistnie), 54 izolaty należały tylko do 8 gatunków oraz XXIII (Polyversum + Kelpak SL nalistnie), skutecznie chroniącego przed zgorzelą. Z kolei użycie do zaprawiania nasion Polyversum WP + Biogen Revital max Pro skutkowało izolowaniem z korzeni największej ilości gatunków, których odnotowano aż 18 przy 183 izolatach. Rysunek 82 wyraźnie wskazuje, że tylko w trzech kombinacjach XII, XIV, XVI notowano większą niż w kontroli liczebność izolowanych grzybów.

Dokładnie analizując strukturę grzybów tworzących poszczególne zbiorowiska, zaobserwowano zróżnicowanie w ilości patogenów, saprobiontów i antagonistów (Rysunek 83). W trzech kombinacjach z udziałem użyźniacza glebowego UGmax i nasion zaprawionych Serenase ASO, Kelpak SL i Asahi SL (XV, XIX, XX) notowano najmniejszy udział grzybów patogenicznych (47,31- 57,5%) i zarazem największy saprobiontów (17,96- 30,0%) oraz antagonistów (12,5 – 25,81%). Poza tym wysoki udział grzybów antagonistycznych (16,66%) stwierdzono w kombinacji z udziałem biostymulatora Kelpak SL (X).

Tabela 23. Zgorzel podstawy łodyg i korzeni w zależności od zastosowanych zabiegów biopreparatami, biostymulatorami oraz użyźniaczami glebowymi

| Kombinacje                                         | Udział roślin chorych [%] |
|----------------------------------------------------|---------------------------|
| I – Kelpak SL zap. + Polyversum WP zap.            | 26,66                     |
| II - Asahi SL zap. + Polyversum WP zap.            | 29,99                     |
| III - Kelpak SL zap. + Serenade ASO zap.           | 20,00                     |
| IV - Asahi SL zap. + Serenade ASO zap.             | 29,99                     |
| V – UGmax użyźniacz glebowy + Kelpak SL nalistnie  | 26,66                     |
| VI – Biogen Revital MaxPro + Kelpak SL nalistnie   | 39,99                     |
| VII – UGmax użyźniacz glebowy + Asahi SL nalistnie | 36,66                     |
| VIII - Biogen Revital MaxPro + Asahi SL nalistnie  | 36,66                     |
| IX – Kontrola dla bloku I                          | 39,99                     |
| X - Kelpak SL zap. + Klepak SL nalistnie           | 26,66                     |
| XI - Asahi SL zap. + Klepak SL nalistnie           | 19,99                     |
| XII - Kelpak SL zap. + Asahi SL nalistnie          | 19,99                     |
| XIII - Asahi SL zap. + Asahi SL nalistnie          | 26,66                     |
| XIV - Polyversum WP zap. + UGmax użyźniacz glebowy | 29,99                     |
| XV - Serenade ASO zap. + UGmax użyźniacz glebowy   | 36,66                     |
| XVI - Polyversum WP zap. + Biogen Revital MaxPro   | 23,33                     |
| XVII - Serenade ASO zap. + Biogen Revital MaxPro   | 33,33                     |
| XVIII – Kontrola dla bloku II                      | 33,33                     |
| XIX - Kelpak SL zap. + UGmax użyźniacz glebowy     | 16,66                     |
| XX - Asahi SL zap. + UGmax użyźniacz glebowy       | 26,66                     |
| XXI - Kelpak SL zap. + Biogen Revital MaxPro       | 26,66                     |
| XXII - Asahi SL zap. + Biogen Revital MaxPro       | 46,66                     |
| XXIII - Polyversum WP zap. + Kelpak SL nalistnie   | 20,00                     |
| XXIV - Serenade ASO zap. + Klepak SL nalistnie     | 29,99                     |
| XXV - Polyversum WP zap. + Asahi SL nalistnie      | 26,66                     |
| XXVI - Serenade ASO zap. + Asahi SL nalistnie      | 36,66                     |
| XXVII – Kontrola dla bloku III                     | 36,66                     |



Rysunek 81. Skuteczność biopreparatów w ochronie gryki przed zgorzelą podstawy łodyg i korzeni

Tabela 24. Grzyby wyizolowane z korzeni gryki z objawami zgorzeli

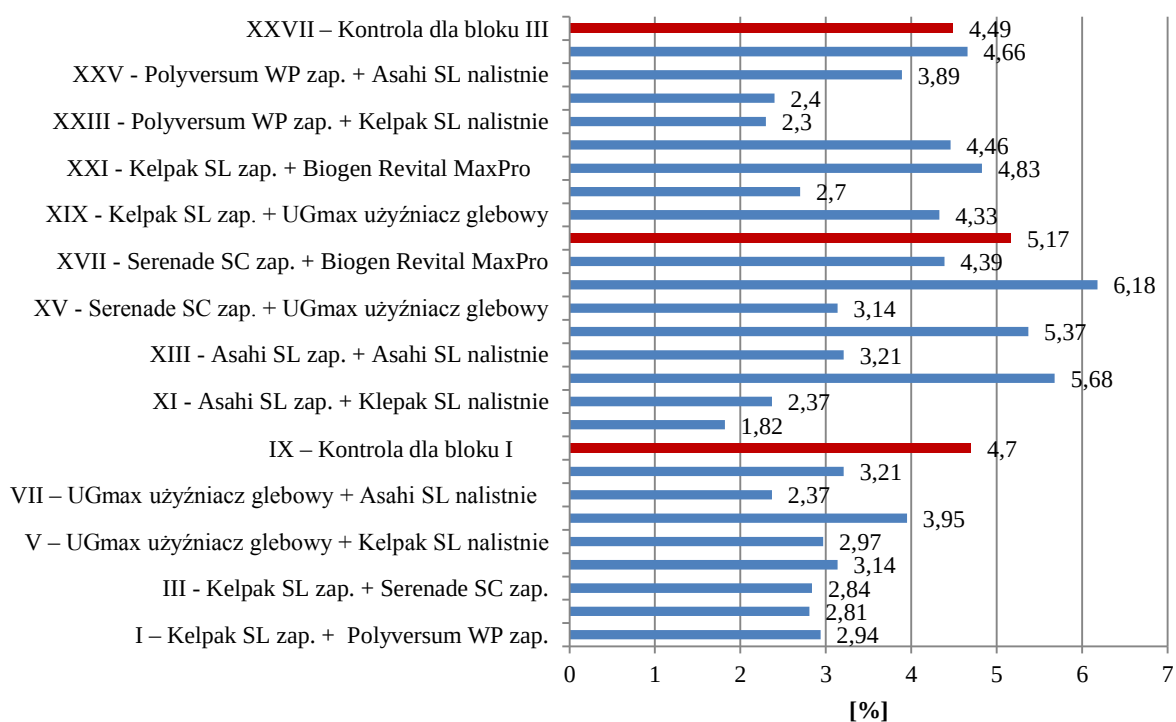
| Gatunek grzyba                                  | Liczba izolatów | Częstotliwość<br>wyosobnień C [%] | Przynależność<br>do grup<br>frekwencyjnych |
|-------------------------------------------------|-----------------|-----------------------------------|--------------------------------------------|
| Grzyby patogeniczne i potencjalnie patogeniczne |                 |                                   |                                            |
| <i>Alternaria alternata</i>                     | 659             | 22,27%                            | Eudominanci (45,96%)                       |
| <i>Bipolaris sorokiniana</i>                    | 362             | 12,23%                            |                                            |
| <i>Fusarium proliferatum</i>                    | 339             | 11,46%                            |                                            |
| <i>Fusarium oxysporum</i>                       | 198             | 6,69%                             | Dominanci (11,93%)                         |
| <i>Thanatephorus<br/>cucumeris</i>              | 155             | 5,24%                             |                                            |
| <i>Microsporium equinum</i>                     | 149             | 5,04%                             |                                            |
| <i>Curvularia</i> spp.                          | 114             | 3,85%                             | Subdominanci<br>(14,27%)                   |
| <i>Aureobasidium<br/>pullulans</i>              | 86              | 2,91%                             |                                            |
| <i>Botrytis cinerea</i>                         | 73              | 2,47%                             |                                            |
| <i>Sclerotinia<br/>sclerotiorum</i>             | 54              | 1,82%                             | Recedenci (8,61%)                          |
| <i>Fusarium incarnatum</i>                      | 48              | 1,62%                             |                                            |
| <i>Colletotrichum</i> spp.                      | 44              | 1,49%                             |                                            |
| <i>Fusarium equiseti</i>                        | 38              | 1,28%                             |                                            |
| <i>Fusarium culmorum</i>                        | 37              | 1,25%                             |                                            |
| <i>Phoma glomerata</i>                          | 34              | 1,15%                             |                                            |
| <i>Fusarium solani</i>                          | 26              | 0,88%                             | Subrecedenci (2,54%)                       |
| <i>F. sporotrichoides</i>                       | 24              | 0,81%                             |                                            |
| <i>Geotrichum candidum</i>                      | 18              | 0,61%                             |                                            |
| <i>Candida<br/>duobushaemulonii</i>             | 5               | 0,17%                             |                                            |
| <i>Phoma sorghiana</i>                          | 2               | 0,07%                             |                                            |
| Grzyby saprobiontyczne                          |                 |                                   |                                            |
| <i>Epicoccum nigrum</i>                         | 148             | 5,00%                             | Subdominanci (7,70%)                       |
| <i>Chaetomium globosum</i>                      | 80              | 2,70%                             |                                            |
| <i>Aspergillus niger</i>                        | 28              | 0,95%                             |                                            |
| <i>Penicillium daleae</i>                       | 20              | 0,68%                             | Subrecedenci (3,32%)                       |
| <i>Penicillium rugulosum</i>                    | 14              | 0,47%                             |                                            |
| <i>Cladosporium<br/>herbarum</i>                | 13              | 0,44%                             |                                            |
| <i>Aspergillus versicolor</i>                   | 10              | 0,34%                             |                                            |
| <i>Mucor</i> spp.                               | 8               | 0,27%                             |                                            |
| <i>Rhizopus microsporus</i>                     | 5               | 0,17%                             |                                            |
| Grzyby antagonistyczne                          |                 |                                   |                                            |
| <i>Gliocladium roseum</i>                       | 73              | 2,47%                             | Subdominant (2,47%)                        |
| <i>Trichoderma koningii</i>                     | 54              | 1,82%                             | Recedenci (3,21%)                          |
| <i>Trichoderma viride</i>                       | 41              | 1,39%                             |                                            |
| Łącznie                                         | 2959            |                                   |                                            |

Tabela 25. Analiza ilościowa i jakościowa grzybów zasiedlających korzenie gryki w zależności od zastosowanych zabiegów ochronnych

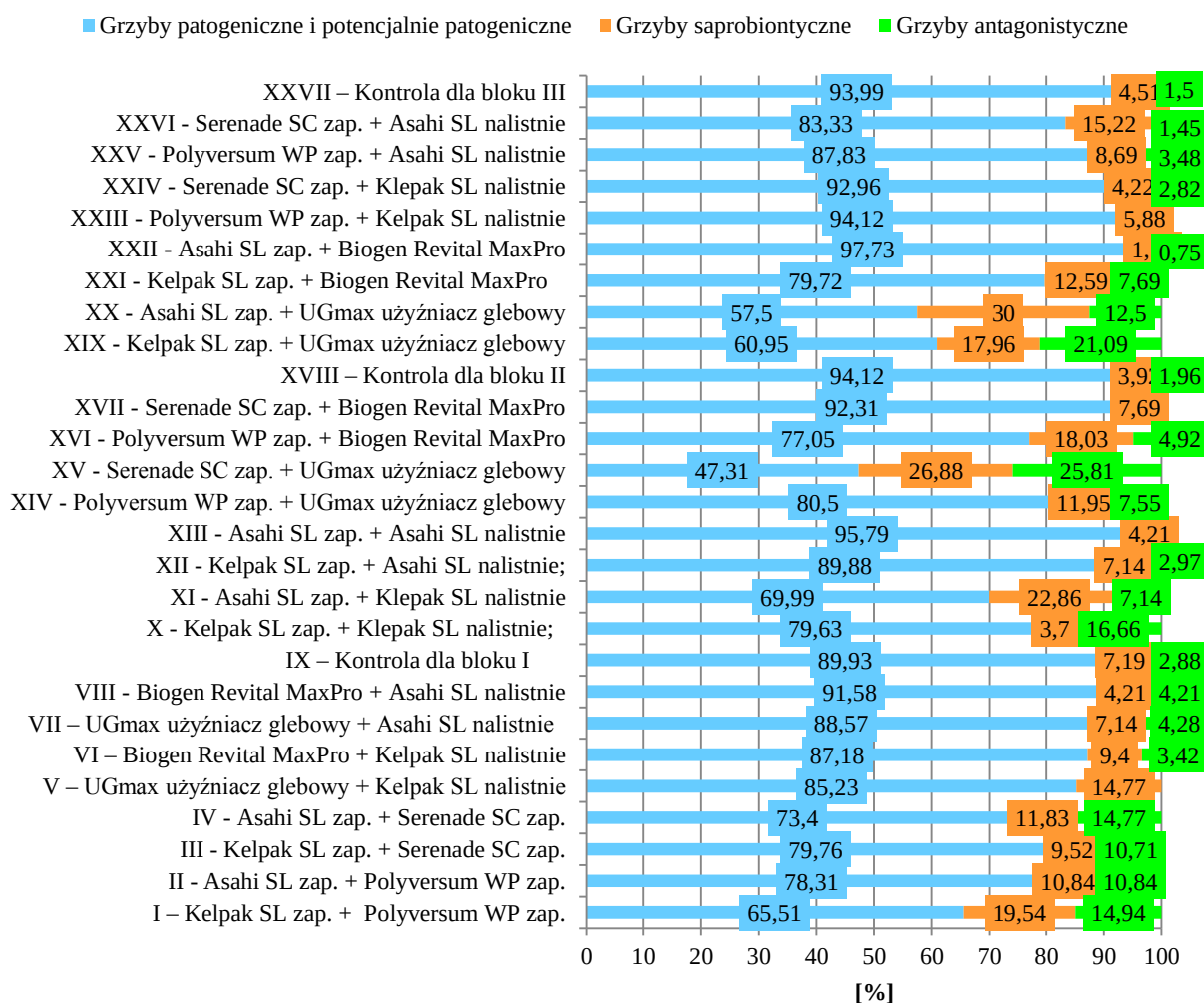
| Gatunek grzyba                  | Kombinacje |    |     |    |    |    |     |      |    |    |    |     |      |     |    |     |          |           |     |    |     |          |           |          |         |          |           |  |
|---------------------------------|------------|----|-----|----|----|----|-----|------|----|----|----|-----|------|-----|----|-----|----------|-----------|-----|----|-----|----------|-----------|----------|---------|----------|-----------|--|
|                                 | I          | II | III | IV | V  | VI | VII | VIII | IX | X  | XI | XII | XIII | XIV | XV | XVI | XVI<br>I | XVI<br>II | XIX | XX | XXI | XXI<br>I | XXI<br>II | XXI<br>V | XX<br>V | XX<br>VI | XX<br>VII |  |
| <i>Alternaria alternata</i>     | 17         | 21 | 14  | 18 | 16 | 24 | 9   | 19   | 25 | 16 | 11 | 52  | 30   | 26  | 5  | 38  | 12       | 43        | 13  | 9  | 51  | 23       | 35        | 28       | 28      | 35       | 41        |  |
| <i>Aureobasidium pullulans</i>  | 3          | 3  |     | 1  | 9  | 4  | 7   | 2    |    |    | 7  | 9   | 2    | 5   | 1  | 2   |          |           | 10  | 3  | 7   |          |           |          | 9       |          | 2         |  |
| <i>Aspergillus niger</i>        | 4          |    |     |    |    | 2  |     |      | 1  |    |    |     |      |     | 2  | 5   | 7        | 1         | 4   |    |     |          | 1         |          |         | 1        |           |  |
| <i>Aspergillus versicolor</i>   |            | 1  |     |    |    |    |     |      |    | 2  |    |     | 2    |     |    |     |          |           |     | 1  |     |          |           | 3        |         |          | 1         |  |
| <i>Bipolaris sorokiniana</i>    | 9          | 14 | 2   | 7  | 7  | 10 | 13  | 20   | 21 | 18 | 6  | 12  | 8    | 10  | 13 | 22  | 21       | 24        | 20  | 7  | 19  | 8        | 10        | 13       | 9       | 17       | 22        |  |
| <i>Botrytis cinerea</i>         | 3          | 1  | 4   |    | 1  | 5  |     | 3    | 6  | 2  |    | 5   | 3    |     | 1  |     | 7        | 10        | 2   | 2  |     | 3        | 1         | 3        |         | 2        | 3         |  |
| <i>Candida duobushaemulonii</i> |            |    |     |    |    |    |     |      |    |    |    |     |      |     |    |     |          |           | 5   |    |     |          |           |          |         |          |           |  |
| <i>Chaetomium globosum</i>      | 1          | 2  | 2   | 2  | 5  | 1  | 3   | 1    | 7  |    | 1  | 3   | 2    | 2   | 5  | 9   | 1        | 3         | 6   | 8  | 11  | 2        | 2         |          |         |          | 1         |  |
| <i>Cladosporium herbarum</i>    | 1          |    |     |    |    |    |     |      |    |    | 2  |     |      | 1   | 2  | 4   |          |           | 2   | 1  |     |          |           |          |         |          |           |  |
| <i>Colletotrichum spp.</i>      |            | 2  |     | 3  | 1  | 1  | 4   | 2    | 5  |    |    |     |      | 5   | 1  | 1   | 5        | 4         |     |    |     | 7        |           |          | 2       |          | 1         |  |
| <i>Curvularia spp.</i>          | 7          | 2  | 9   | 1  | 2  | 2  | 7   | 10   | 8  |    |    |     |      | 11  | 3  | 13  | 10       | 6         | 1   | 3  | 3   | 5        |           |          | 6       |          | 5         |  |
| <i>Epicoccum nigrum</i>         | 10         | 6  | 5   | 2  | 3  | 8  |     |      | 2  |    | 13 | 9   |      | 13  | 15 | 14  | 2        |           | 11  | 8  | 7   |          |           |          | 10      | 6        | 4         |  |
| <i>Fusarium culmorum</i>        | 1          | 3  |     |    | 2  | 1  | 1   | 2    |    |    | 1  |     |      |     | 1  |     |          |           | 5   | 4  |     | 13       | 1         |          | 2       |          |           |  |
| <i>Fusarium equiseti</i>        |            | 1  |     |    | 1  | 2  | 2   | 5    | 1  |    |    |     |      | 5   | 1  | 4   |          | 2         | 1   | 1  |     | 5        |           |          | 2       | 2        | 3         |  |
| <i>Fusarium incarnatum</i>      |            | 1  | 2   |    | 1  | 3  | 1   | 2    |    |    |    |     |      | 10  | 8  | 15  |          |           |     | 2  |     |          |           | 3        |         |          |           |  |
| <i>Fusarium oxysporum</i>       | 3          | 6  | 11  | 7  | 3  | 6  | 2   | 7    | 23 | 4  | 1  | 10  | 5    | 12  | 3  | 4   | 11       | 9         | 5   | 3  | 10  | 9        | 2         | 6        | 17      | 11       | 8         |  |
| <i>Fusarium proliferatum</i>    | 7          | 5  |     | 13 | 21 | 5  | 1   | 8    | 21 |    | 2  | 30  | 26   | 31  |    | 30  | 12       | 27        | 14  | 7  | 15  | 24       | 6         |          |         | 21       | 20        |  |

cd. Tabela 25

|                                 |    |    |    |    |    |     |    |    |     |    |    |     |    |     |    |     |     |     |     |    |     |     |    |    |     |     |     |
|---------------------------------|----|----|----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|----|-----|----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|
| <i>Fusarium solani</i>          |    |    | 3  |    | 1  |     | 3  | 2  | 2   |    |    |     |    | 2   | 1  |     |     | 4   |     | 1  |     | 5   |    |    |     | 2   |     |
| <i>F. sporotrichoides</i>       | 1  | 1  |    |    |    | 4   | 1  |    |     |    |    |     |    |     | 5  |     |     | 1   | 1   |    | 5   |     | 1  | 1  |     | 3   |     |
| <i>Geotrichum candidum</i>      |    |    |    |    |    | 1   | 3  |    |     |    |    | 2   | 5  |     |    |     |     |     |     |    | 2   |     |    | 3  | 1   | 1   |     |
| <i>Gliocladium roseum</i>       | 5  |    | 9  |    |    | 4   |    |    | 4   |    | 4  |     |    | 6   | 10 | 9   |     | 3   | 7   | 5  |     | 1   |    | 2  | 2   | 2   |     |
| <i>Microsporium equinum</i>     | 1  | 1  |    | 16 | 9  | 15  | 3  | 1  |     | 3  | 21 | 17  |    | 10  | 6  | 2   | 20  |     | 1   | 4  |     | 17  |    | 1  |     | 1   |     |
| <i>Mucor spp.</i>               | 1  |    |    |    | 2  |     | 2  | 1  |     |    |    |     |    | 1   | 1  |     |     |     |     |    |     |     |    |    |     |     |     |
| <i>Penicillium daleae</i>       |    |    | 1  | 5  | 1  |     |    |    |     |    |    |     |    |     |    |     |     | 2   |     | 2  |     |     | 1  |    |     | 8   |     |
| <i>Penicillium rugulosum</i>    |    |    |    | 2  | 1  |     |    | 2  |     |    |    |     |    |     |    |     |     |     |     | 3  |     |     |    |    |     | 6   |     |
| <i>Phoma glomerata</i>          | 2  |    | 3  |    |    |     |    |    | 5   |    |    | 5   | 9  |     |    |     | 3   |     |     |    |     | 5   |    |    |     | 2   |     |
| <i>Phoma sorghiana</i>          |    | 2  |    |    |    |     |    |    |     |    |    |     |    |     |    |     |     |     |     |    |     |     |    |    |     |     |     |
| <i>Rhizopus microsporus</i>     |    |    |    |    | 1  |     |    |    |     |    |    |     |    | 2   |    | 1   |     |     |     | 1  |     |     |    |    |     |     |     |
| <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> | 3  | 2  | 1  | 4  | 1  |     |    |    | 4   |    |    | 9   | 3  | 1   |    |     | 5   | 3   |     |    |     | 3   | 8  | 2  |     | 5   |     |
| <i>Thanatephorus cucumeris</i>  |    |    | 18 | 6  |    | 19  | 5  | 8  | 4   |    |    |     |    |     |    | 5   | 14  | 11  |     |    | 2   | 5   | 5  |    | 23  | 17  | 6   |
| <i>Trichoderma koningii</i>     | 5  | 1  |    |    |    |     |    |    |     | 7  |    | 5   |    | 6   | 11 |     |     |     | 7   |    | 10  |     |    | 2  |     |     |     |
| <i>Trichoderma viride</i>       | 3  | 8  |    |    |    |     | 3  |    |     | 2  | 1  |     |    |     | 3  |     |     |     | 13  | 5  | 1   |     |    |    |     | 2   |     |
| Łącznie                         | 87 | 83 | 84 | 93 | 88 | 117 | 70 | 95 | 139 | 54 | 70 | 168 | 95 | 159 | 93 | 183 | 130 | 153 | 128 | 80 | 143 | 132 | 68 | 71 | 115 | 138 | 133 |



Rysunek 82. Wpływ zabiegów wykonywanych biopreparatami i biostymulatorami na liczebność grzybów izolowanych z korzeni gryki w odniesieniu do ogółu wyosobnień



Rysunek 83. Struktura społeczności grzybów wyizolowanych z korzeni gryki w zależności od zastosowanych biopreparatów i biostymulatorów

### Skład chemiczny liści gryki

Większość ziół po zerwaniu szybko więdną. Aby zachować ich wysoką jakość należy poddać je utrwaleniu. Najstarszym sposobem utrwalania ziół jest ich suszenie, co wiąże się z odprowadzeniem wody i unieczynnieniem enzymów. Suszenie rozpoczyna się jak najszybciej po zbiorze. Prawidłowo wysuszone zioła nie fermentują i nie pleśnieją, a poziom zawartych w nich substancji czynnych nie zmienia się przez długi czas. Część zielną gryki po zebraniu wysuszono w temperaturze otoczenia, przy ograniczonym dostępie promieniowania rozproszonego. Przy oznaczeniu suchej masy zastosowano suszenie dwustopniowe, w temperaturze 60°C, a następnie do stałej masy w 105°C.

Zawartość suchej masy była modyfikowana przez istotny wpływ biostymulatora stosowanego w formie zaprawy. Koncentracja suchej masy w liściach gryki po zaprawieniu

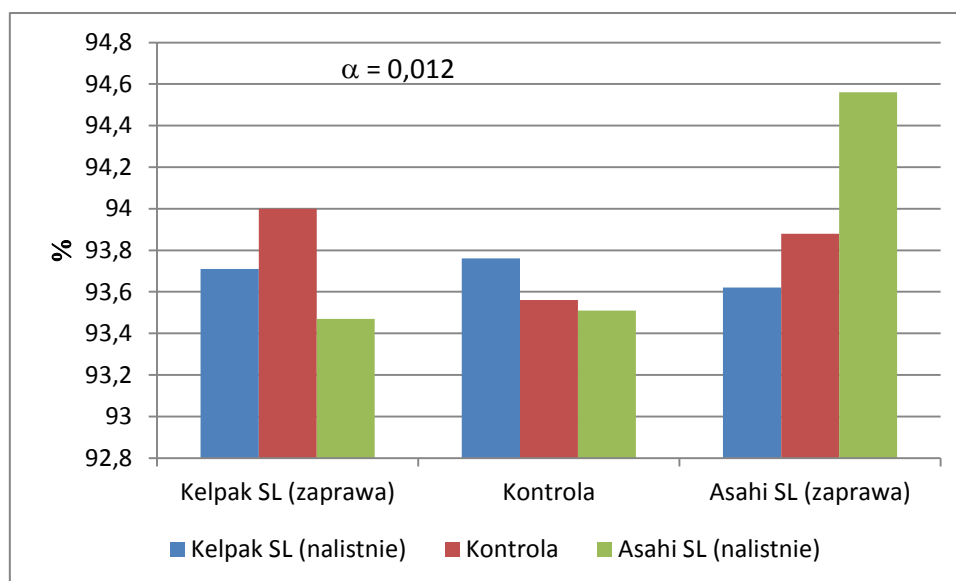


nasion zarówno fitohormonami (Kelpak SL), jak i nitrofenolami (Asahi SL) zwiększyła się w odniesieniu do obiektu kontrolnego o 0,3 % (Tabela 26). Zastosowanie użyźniaczy gleby UG Max i Biogen Revital Max Pro przyczyniło się do istotnego zwiększenia poziomu popiołu surowego, tłuszczu surowego oraz węglowodanów ogółem w analizowanych liściach. Mianem tendencji można określić wpływ użyźniacza gleby Biogen Revital na wzrost poziomu popiołu surowego (o 0,5%) w porównaniu do preparatu UG Max. Wpływ zastosowania biostymulatora nalistnie (Kelpak SL i Asahi SL) skutkował istotnie wyższymi zawartościami tłuszczu surowego, włókna surowego oraz węglowodanów ogółem w liściach gryki w porównaniu do obiektu kontrolnego. Największy poziom włókna surowego zaobserwowano po zastosowaniu nalistnym fitohormonów pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL). Warto również podkreślić wpływ zapraw biologicznych (tendencja) na koncentrację zawartości tłuszczu surowego w liściach gryki. W efekcie zaprawiania nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) stwierdzono wzrost koncentracji tłuszczu surowego w liściach gryki w porównaniu do liści roślin wyrosłych z nasion zaprawionych *Bacillus subtilis* o 0,1%.

Tabela 26. Wpływ badanych czynników na skład podstawowy liści gryki

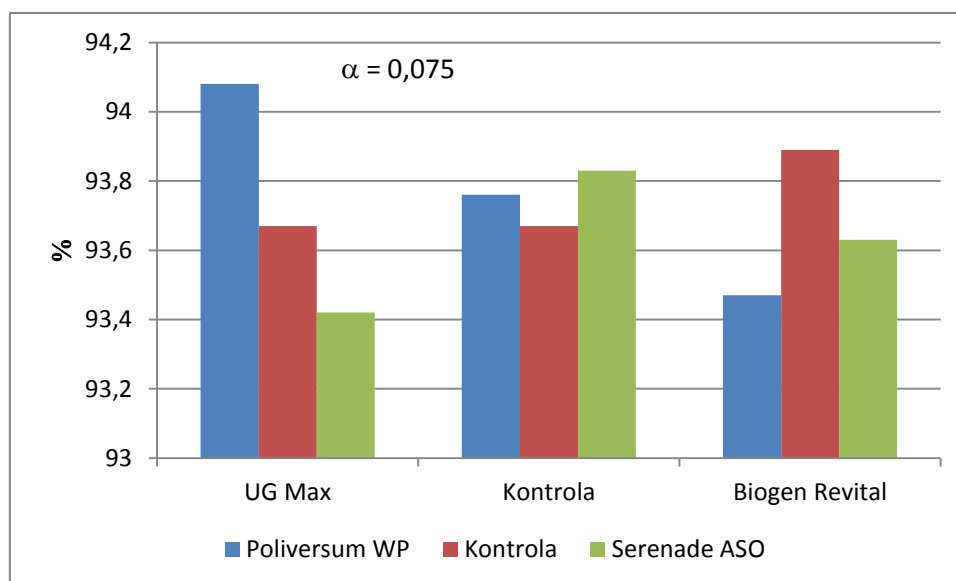
| Czynnik                   | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                           | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Sucha masa [%]            |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 93,86           | 93,60  | 93,95  | 0,512                        | 0,001        |
| Zaprawa biologiczna       | 93,76           | 93,73  | 93,73  | 0,779                        | 0,211        |
| Użyźniacz glebowy         | 93,69           | 93,74  | 93,78  | 0,525                        | 0,281        |
| Biostymulator (nalistnie) | 93,73           | 93,76  | 93,68  | 0,698                        | 0,536        |
| Popiół [%]                |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 17,69           | 17,61  | 17,62  | 0,851                        | 0,391        |
| Zaprawa biologiczna       | 17,81           | 17,56  | 17,62  | 0,555                        | 0,226        |
| Użyźniacz glebowy         | 17,55           | 17,47  | 18,10  | 0,102                        | 0,064        |
| Biostymulator (nalistnie) | 17,68           | 17,68  | 17,46  | 0,522                        | 0,712        |
| Białko [%]                |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 19,82           | 19,66  | 19,57  | 0,643                        | 0,861        |
| Zaprawa biologiczna       | 19,83           | 19,63  | 19,63  | 0,723                        | 0,751        |
| Użyźniacz glebowy         | 19,95           | 19,59  | 19,59  | 0,510                        | 0,639        |
| Biostymulator (nalistnie) | 19,12           | 19,77  | 19,99  | 0,114                        | 0,748        |
| Tłuszcz [%]               |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 4,914           | 4,937  | 4,894  | 0,807                        | 0,653        |
| Zaprawa biologiczna       | 4,968           | 4,941  | 4,831  | 0,102                        | 0,743        |
| Użyźniacz glebowy         | 5,023           | 4,861  | 4,975  | 0,556                        | 0,008        |
| Biostymulator (nalistnie) | 5,019           | 4,891  | 4,904  | 0,166                        | 0,070        |
| Włókno surowe [%]         |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 6,871           | 7,350  | 7,565  | 0,061                        | 0,374        |
| Zaprawa biologiczna       | 7,198           | 7,259  | 7,466  | 0,460                        | 0,791        |
| Użyźniacz glebowy         | 7,282           | 7,171  | 7,602  | 0,379                        | 0,732        |
| Biostymulator (nalistnie) | 7,521           | 7,527  | 6,473  | 0,006                        | 0,040        |
| Węglowodany ogółem [%]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 44,57           | 44,04  | 44,30  | 0,358                        | 0,194        |
| Zaprawa biologiczna       | 43,96           | 44,34  | 44,18  | 0,450                        | 0,243        |
| Użyźniacz glebowy         | 43,89           | 44,64  | 43,50  | 0,198                        | 0,001        |
| Biostymulator (nalistnie) | 44,39           | 43,90  | 44,84  | 0,135                        | 0,015        |

Koncentracja suchej masy w liściach gryki modyfikowana była przez istotną statystycznie interakcję biostymulator w formie zaprawy x biostymulator stosowany nalistnie. W rezultacie zaprawiania nasion fitohormonami (Kelpak SL) zaobserwowano spadek zawartości suchej masy w liściach po zastosowaniu biostymulatorów nalistnie (Kelpak SL i Asahi SL) w porównaniu do obiektu kontrolnego. Jednak na uwagę zasługuje fakt, że największą koncentrację suchej masy zaobserwowano po równoczesnym zaprawieniu nasion i nalistnym zastosowaniu nitrofenoli roślinnych (Asahi SL). Natomiast na obiekcie bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion stwierdzono wzrost zawartości suchej masy po nalistnym zastosowaniu auksyn i cytokinin pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) (Rysunek 84).



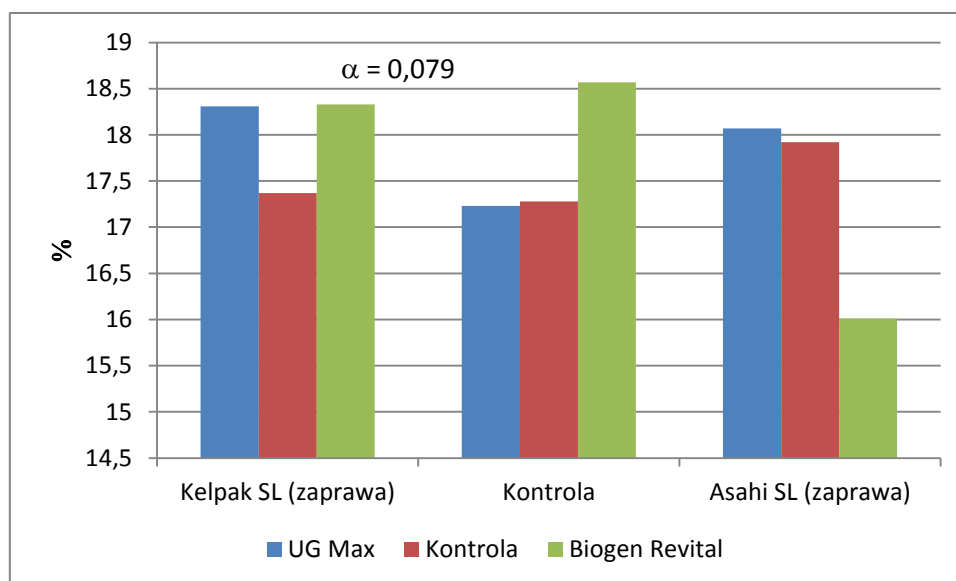
Rysunek 84. Kształtowanie się zawartości suchej masy w liściach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

Mianem tendencji można opisać wpływ interakcji czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby na koncentrację suchej masy w liściach gryki. Najwyższą koncentrację suchej masy stwierdzono w liściach po zaprawieniu nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* i po zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max. Na obiektach gdzie zastosowano użyźniacz gleby Biogen Revital zastosowanie zapraw biologicznych skutkowało redukcją koncentracji suchej masy w liściach. Podobnie mniejszą zawartością suchej masy cechowały się rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych preparatem Asahi SL w obecności użyźniacza UG Max (Rysunek 85).



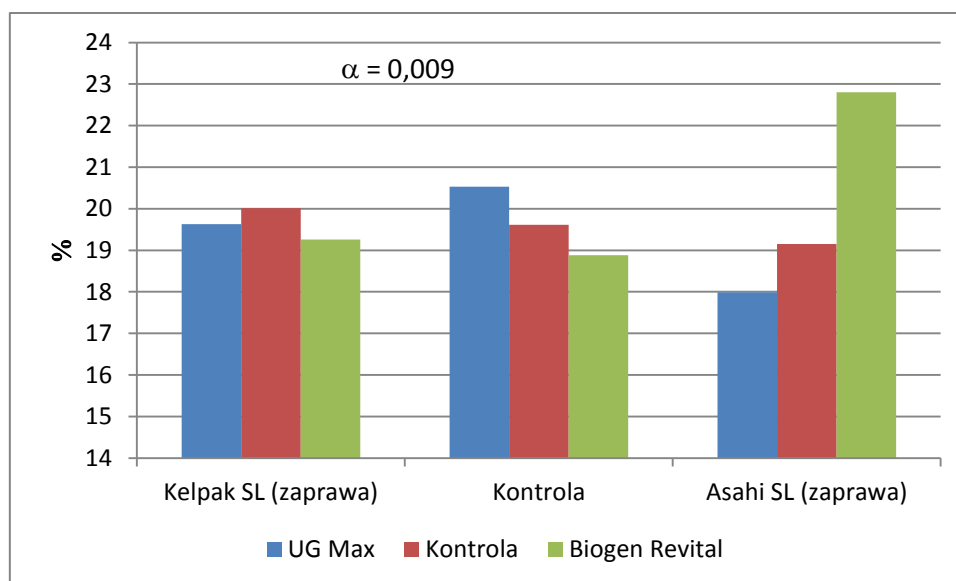
Rysunek 85. Kształtowanie się zawartości suchej masy w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Również mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby na koncentrację popiołu w liściach gryki. Zaprawianie nasion fitohormonami pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) oraz zastosowanie użyźniaczy gleby wpłynęło na wzrost zawartości popiołu w liściach gryki w porównaniu do obiektu kontrolnego. Natomiast najwyższą koncentrację popiołu w liściach gryki zaobserwowano na obiekcie bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion i po zastosowaniu preparatu Biogen Revital. Na uwagę zasługuje także zmniejszenie zawartości popiołu w liściach gryki po zaprawieniu nasion nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) w obecności użyźniacza gleby Biogen Revital (Rysunek 86).



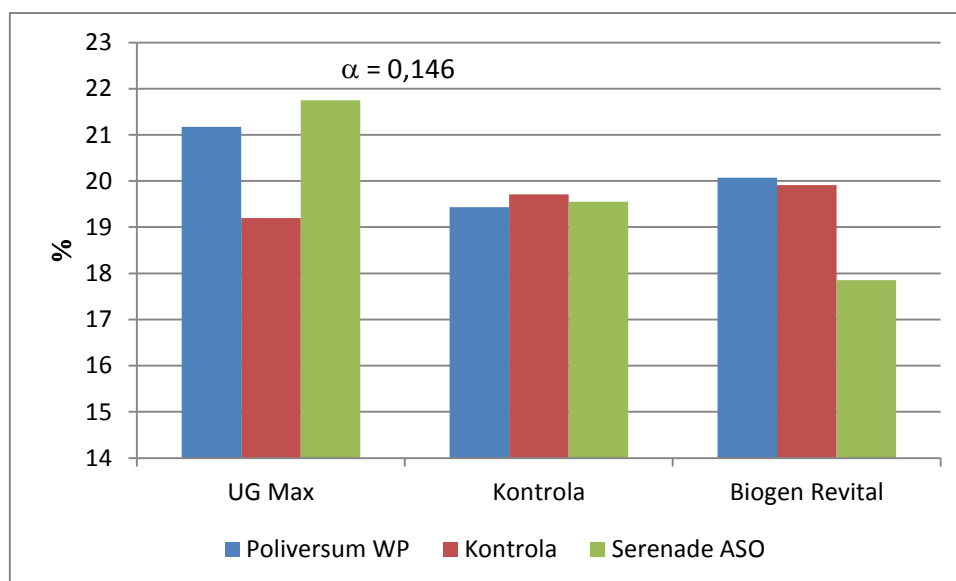
Rysunek 86. Kształtowanie się zawartości popiołu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

Zawartość białka podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby. Liście roślin wyrosłych z nasion zaprawionych auksynami i cytokininami pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) nie zmieniały koncentracji białka po zastosowaniu użyźniaczy gleby. Natomiast zastosowanie preparatu UG Max wpłynęło na wzrost zawartości białka w liściach gryki roślin wyrosłych z nasion zaprawionych preparatem Asahi SL. Najmniejszą koncentrację białka stwierdzono po zaprawieniu nasion nitrofenolami roślinnymi w obecności użyźniacza gleby UG Max (Rysunek 87).



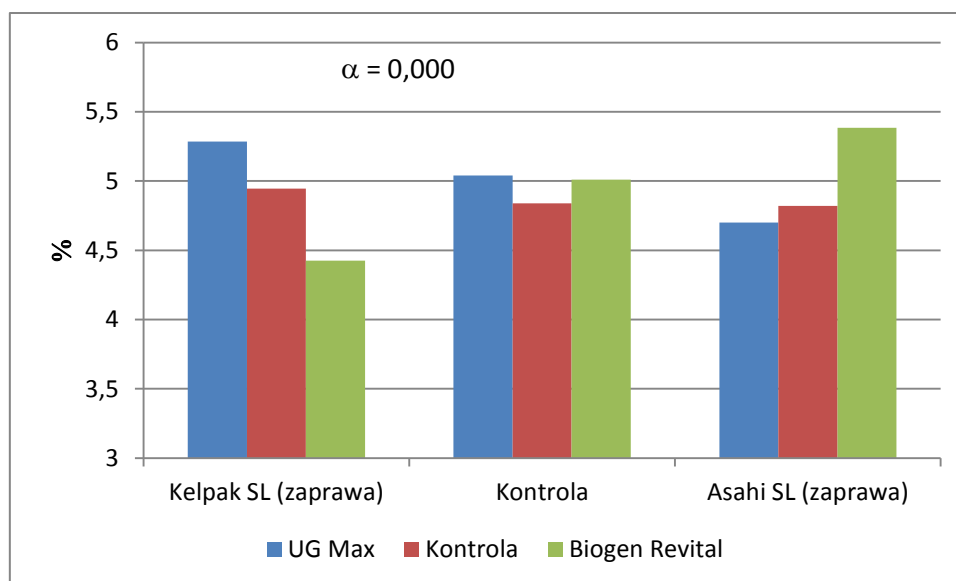
Rysunek 87. Kształtowanie się zawartości białka w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

Wpływ interakcji czynników użyźniacz gleby x zaprawa biologiczna na zawartość białka w liściach gryki, można określić mianem tendencji. Zaprawienie nasion mikroorganizmami *Pythium oligandrum* i *Bacillus subtilis* po zastosowaniu użyźniacza glebowego UG Max zwiększyło zawartość białka w liściach gryki. Natomiast nie zaobserwowano reakcji na zmianę koncentracji białka w liściach roślin wyrosłych po zaprawieniu tylko w/w mikroorganizmami. Zaprawienie nasion szczepem *Bacillus subtilis* w obecności użyźniacza gleby Biogen Revital wpłynęło na spadek koncentracji białka w liściach (Rysunek 88).



Rysunek 88. Kształtowanie się zawartości białka w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

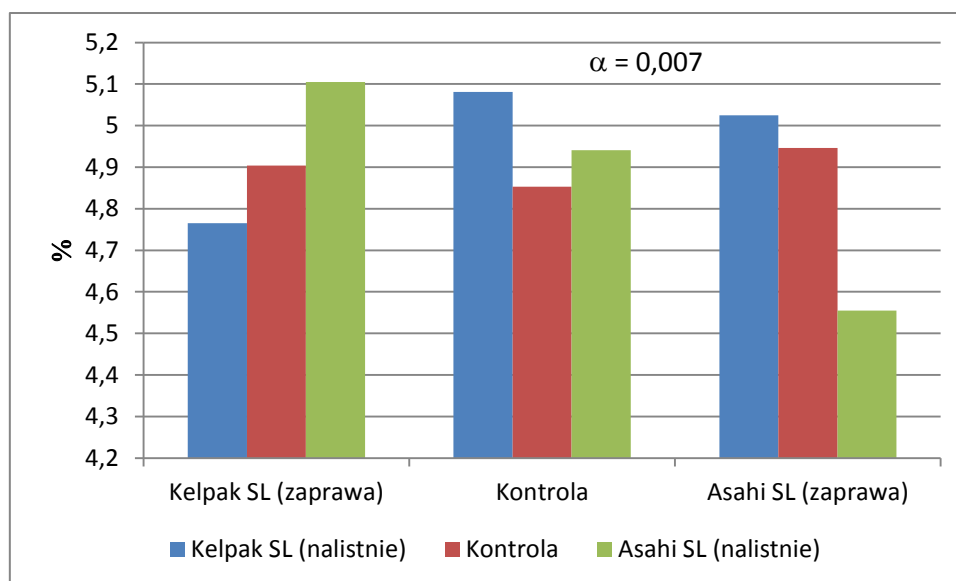
Zawartość tłuszczu w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby. Największą zawartość tego składnika odżywczego stwierdzono w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych nitrofenolami roślinnymi po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital. Na obiektach bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion po zastosowaniu użyźniacza gleby nie zaobserwowano wzrostu koncentracji tłuszczu w liściach gryki. Natomiast zaobserwowano wzrost koncentracji tłuszczu w liściach gryki po zaprawieniu nasion fitohormonami roślinnymi w obecności użyźniacza gleby Biogen Revital. Najmniejszą koncentrację tłuszczu stwierdzono w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych preparatem Asahi SL w obecności użyźniacza UG Max (rys. 6).



Rysunek 89. Kształtowanie się zawartości tłuszczu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

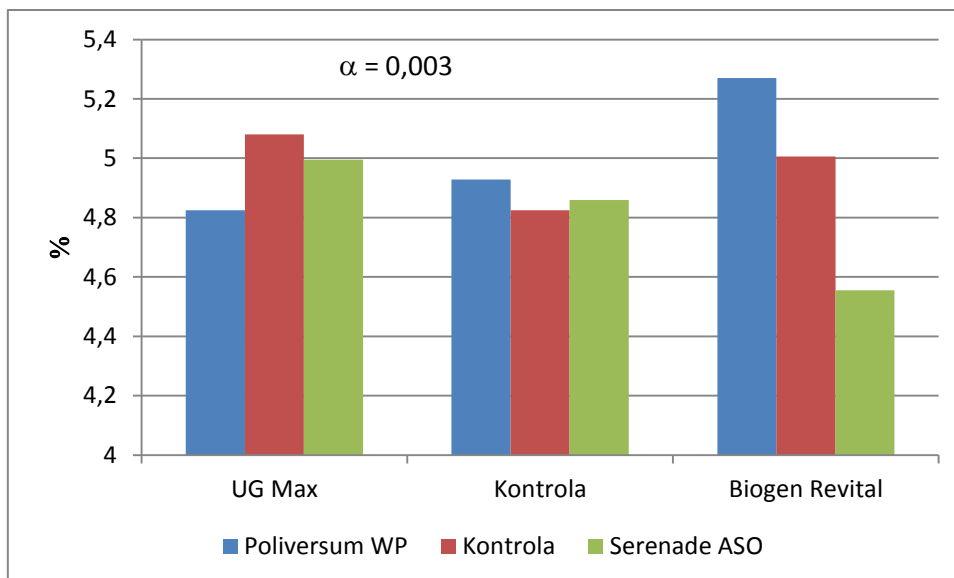
Koncentracja tłuszczu w liściach gryki modyfikowana była także przez istotną statystycznie interakcję czynników biostymulator w formie zaprawy x biostymulator stosowany nalistnie. Zaobserwowano wyraźny wzrost zawartość tłuszczu w liściach gryki po zaprawieniu nasion fitohormonami (Kelpak SL) i po zastosowaniu nalistnie nitrofenoli roślinnych (Asahi SL). Zastosowanie wyłącznie biostymulatorów nalistnie wpłynęło również na wzrost zawartości tłuszczu w liściach w porównaniu do obiektu kontrolnego. Potwierdzono redukcję koncentracji tłuszczu w liściach gryki w wyniku dwukrotnego zastosowania biostymulatorów, zarówno w formie zaprawy, jak i nalistnie (Rysunek 90).





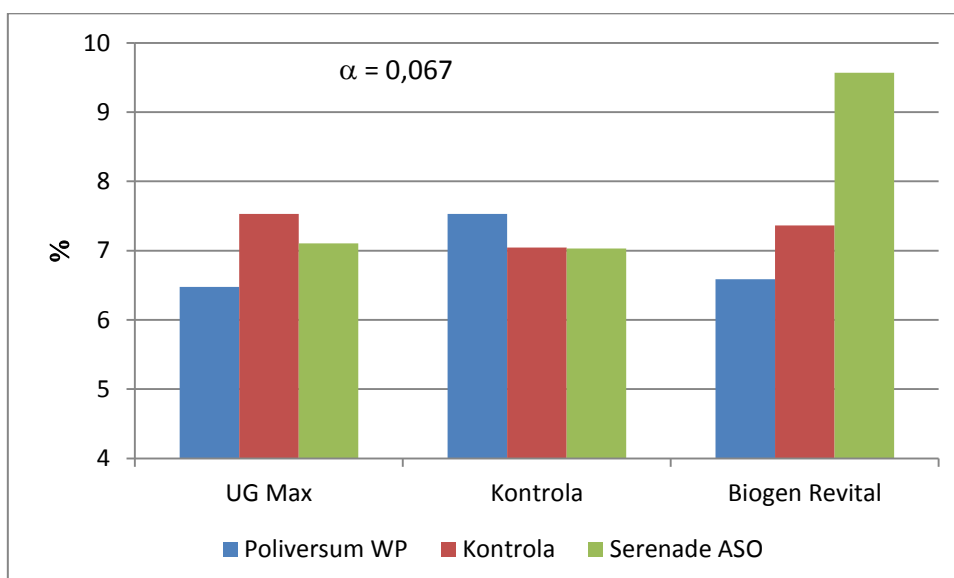
Rysunek 90. Kształtowanie się zawartości tłuszczu w liściach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

Koncentracja tłuszczu w liściach gryki podlegała także istotnemu wpływowi interakcji czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby. Najwyższą koncentrację tłuszczu stwierdzono w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych oosporami *Pythium oligandrum* w obecności użyźniacza gleby Biogen Revital. Natomiast zaprawienie nasion preparatami Serenade ASO oraz Polyversum WP po zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max wpłynęło na zmniejszenie zawartości tłuszczu w liściach. Na obiektach, na których zaprawiono nasiona tylko oosporami grzyba *Pythium oligandrum* lub szczepem *Bacillus subtilis* stwierdzono niewielki wzrost koncentracji tłuszczu w liściach gryki (Rysunek 91).



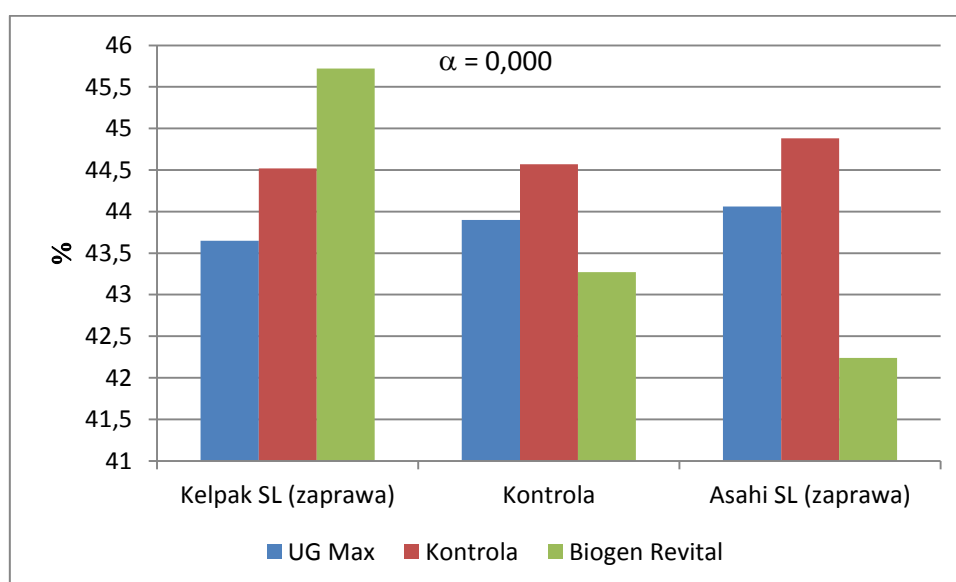
Rysunek 91. Kształtowanie się zawartości tłuszczu w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby na zawartość włókna surowego w liściach gryki. Zaprawianie nasion mikroorganizmami *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) oraz *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) w obecności użyźniacza UG Max wpłynęło na redukcję koncentracji włókna w liściach, w odniesieniu do obiektu kontrolnego. Jednak najwyższą koncentrację włókna surowego zaobserwowano w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych szczepem bakterii *Bacillus subtilis* w obecności użyźniacza gleby Biogen Revital (Rysunek 92).



Rysunek 92. Kształtowanie się zawartości włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

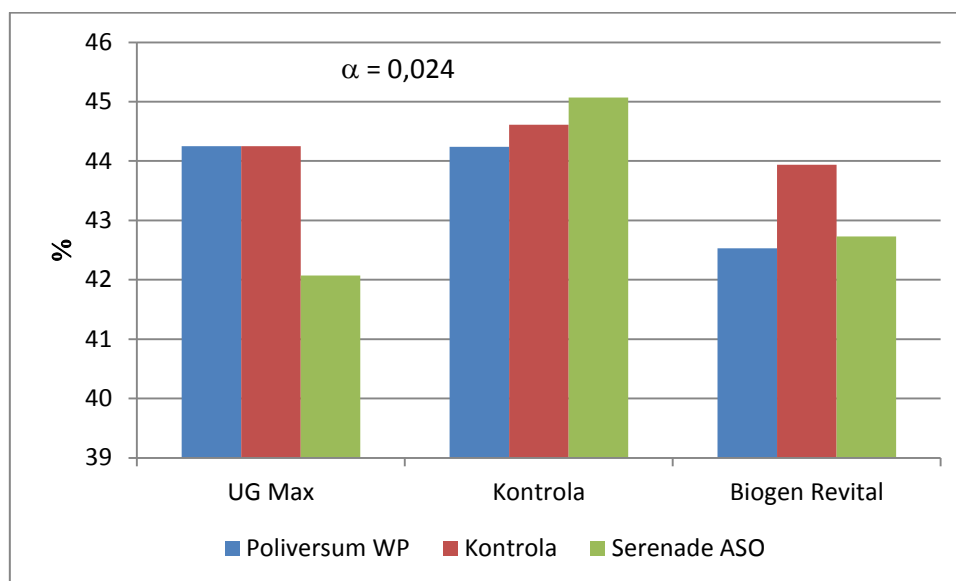
Zawartość bezazotowych związków wyciągowych podlegała istotnemu wpływowi interakcji biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby. Najwyższą koncentrację węglowodanów ogółem zaobserwowano w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych fitohormonami (Kelpak SL) po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital. Natomiast rośliny z obiektów na których stosowano tylko użyźniacze gleby cechowała mniejsza zawartość węglowodanów ogółem. Podobną reakcję zaobserwowano po zaprawieniu nasion nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) i zastosowaniu użyźniacza gleby. Liście roślin wyrosłych na tych obiektach charakteryzowały się mniejszą koncentracją bezazotowych związków wyciągowych (Rysunek 93).



Rysunek 93. Kształtowanie się zawartości bezazotowych związków wyciągowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

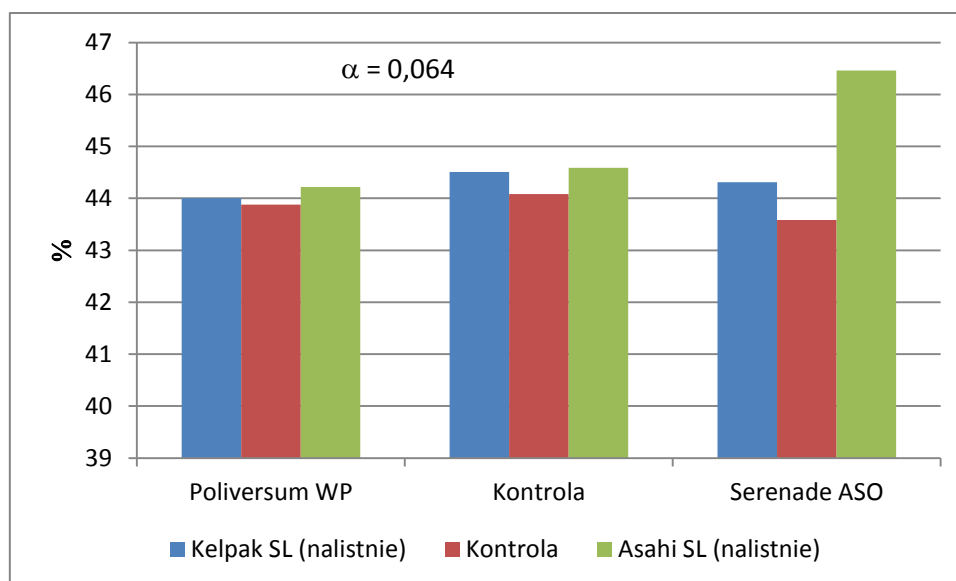
Na uwagę zasługuje również wpływ statystycznie istotnej interakcji czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby na koncentrację bezazotowych związków wyciągowych w liściach gryki. Najwyższą zawartość węglowodanów ogółem zaobserwowano w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych tylko szczepem bakterii *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) i braku stosowania użyźniacza gleby. Natomiast na obiektach po zaprawieniu nasion preparatami Serenade ASO i Polyversum WP w obecności użyźniacza Biogen Revital zaobserwowano spadek zawartości węglowodanów ogółem w liściach gryki. Zaobserwowano także wyraźny spadek koncentracji bezazotowych związków

wyciągowych w liściach po zaprawieniu nasion szczepem *Bacillus subtilis* i po zastosowaniu preparatu UG Max (Rysunek 94).



Rysunek 94. Kształtowanie się zawartości bezazotowych związków wyciągowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników zaprawa biologiczna x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość bezazotowych związków wyciągowych w liściach gryki. Największą zawartość węglowodanów ogółem stwierdzono w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych szczepem *Bacillus subtilis* i po zastosowaniu nalistnie nitrofenoli roślinnych. Natomiast nie zaobserwowano zmian w koncentracji węglowodanów ogółem po zaprawieniu nasion oosporami *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) i zastosowaniu nalistnym nitrofenoli (Asahi SL) oraz przy braku stosowania zapraw biologicznych i fitohormonów (Kelpak SL, Asahi SL) (Rysunek 95).



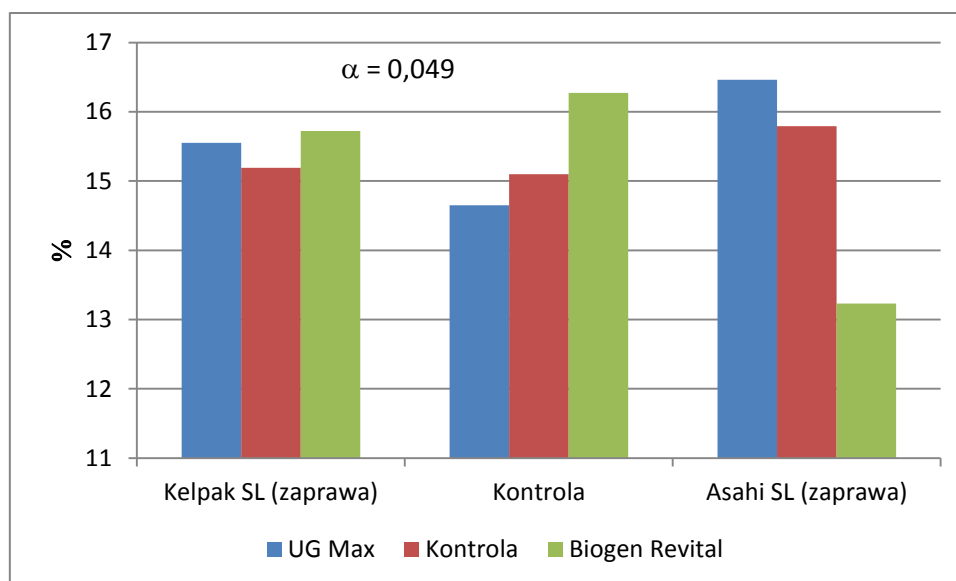
Rysunek 95. Kształtowanie się zawartości bezazotowych związków wyciągowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

Nie stwierdzono wpływu badanych czynników eksperymentalnych na zawartość frakcji włókna NDF, ADF i celulozy (Tabela 27). Natomiast zawartość frakcji włókna ADL była różnicowana przez zastosowanie zapraw biologicznych i biostymulatorów w formie zaprawy. Wraz z wzrostem poziomu czynnika biostymulator spadała zawartość frakcji ADL włókna. Taka sama zmiana poziomów czynnika zaprawa biologiczna powodowała zmniejszenie zawartości frakcji ADL włókna. Istotny efekt kwadratowy dla tego źródła zmienności pozwala stwierdzić wyraźny spadek zawartości frakcji ADL włókna surowego pod wpływem zapraw biologicznych. Poziom koncentracji hemiceluloz wyraźnie zwiększa się pod wpływ stosowania zapraw biologicznych. Wysoka koncentracja hemiceluloz jest zjawiskiem bardzo korzystnym, gdyż mają one pozytywne znaczenie fizjologiczne, związane ze zdolnością tych składników do pęcznienia i wiązania wody w świetle przewodu pokarmowego człowieka.

Tabela 27. Wpływ badanych czynników na zawartość włókna i jego frakcji w liściach gryki

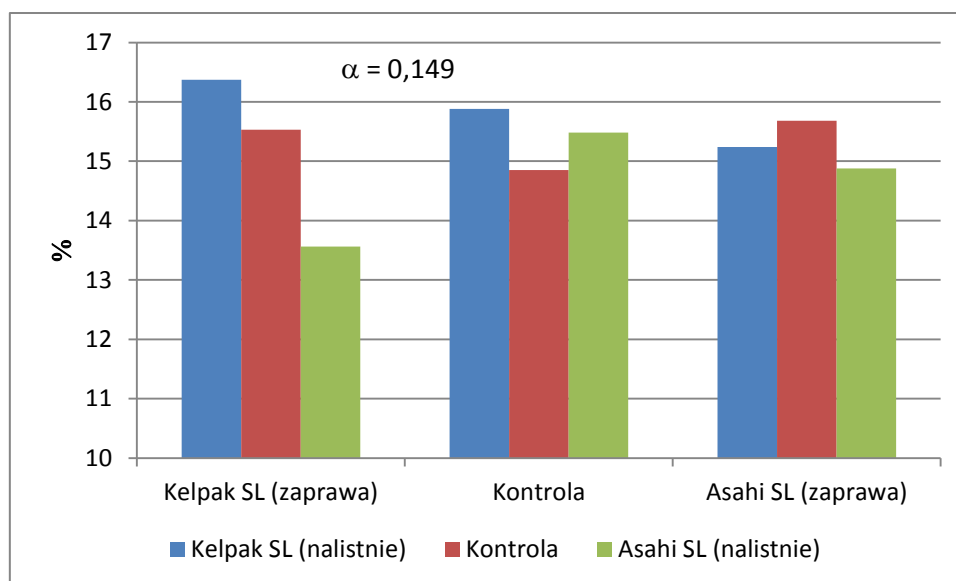
| Czynnik                   | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                           | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| NDF [%]                   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 15,34           | 15,29  | 15,47  | 0,788                        | 0,339        |
| Zaprawa biologiczna       | 15,32           | 15,25  | 15,60  | 0,558                        | 0,242        |
| Użyźniacz glebowy         | 15,10           | 15,31  | 15,67  | 0,242                        | 0,380        |
| Biostymulator (nalistnie) | 15,86           | 15,25  | 15,06  | 0,104                        | 0,245        |
| ADF [%]                   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 12,56           | 12,47  | 12,56  | 0,988                        | 0,815        |
| Zaprawa biologiczna       | 12,29           | 12,56  | 12,62  | 0,388                        | 0,748        |
| Użyźniacz glebowy         | 12,50           | 12,53  | 12,47  | 0,943                        | 0,859        |
| Biostymulator (nalistnie) | 12,81           | 12,49  | 12,26  | 0,153                        | 0,922        |
| ADL [%]                   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 2,600           | 2,538  | 2,283  | 0,003                        | 0,084        |
| Zaprawa biologiczna       | 2,535           | 2,572  | 2,263  | 0,009                        | 0,012        |
| Użyźniacz glebowy         | 2,593           | 2,420  | 2,587  | 0,953                        | 0,225        |
| Biostymulator (nalistnie) | 2,481           | 2,505  | 2,485  | 0,966                        | 0,356        |
| HCEL [%]                  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 2,778           | 2,821  | 2,913  | 0,697                        | 0,284        |
| Zaprawa biologiczna       | 3,028           | 2,694  | 2,981  | 0,894                        | 0,053        |
| Użyźniacz glebowy         | 2,605           | 2,774  | 3,203  | 0,093                        | 0,162        |
| Biostymulator (nalistnie) | 3,046           | 2,759  | 2,798  | 0,480                        | 0,135        |
| CEL [%]                   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 9,963           | 9,933  | 10,274 | 0,332                        | 0,409        |
| Zaprawa biologiczna       | 9,754           | 9,983  | 10,357 | 0,064                        | 0,667        |
| Użyźniacz glebowy         | 9,903           | 10,114 | 9,882  | 0,946                        | 0,554        |
| Biostymulator (nalistnie) | 10,330          | 9,986  | 9,773  | 0,086                        | 0,684        |

Koncentracja frakcji NDF włókna podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby. Największą zawartością frakcji NDF włókna zaobserwowano w liściach gryki roślin wyrosłych z nasion zaprawionych nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) i po zastosowaniu preparatu UG Max. Wzrost frakcji NDF włókna miał miejsce po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital na obiekcie bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion w porównaniu do obiektu kontrolnego i obiektu gdzie tylko stosowano preparat UG Max. Natomiast po zaprawieniu nasion fitohormonami roślinnymi zasadniczo nie stwierdzono wzrostu zawartości frakcji tego typu włókna po zastosowaniu użyźniaczy glebowych (Rysunek 96).



Rysunek 96. Kształtowanie się zawartości frakcji NDF włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

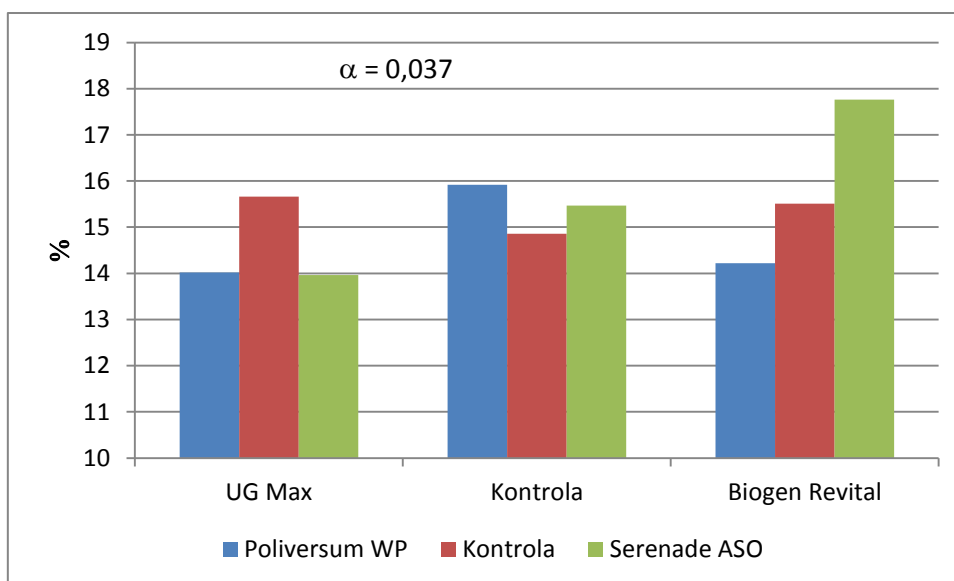
Mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników biostymulator jako zaprawa x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość frakcji NDF włókna w liściach gryki. Największą koncentrację włókna NDF zaobserwowano po równoczesnym zaprawieniu nasion i nalistnym zastosowaniu fitohormonów pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL). Wyraźny wzrost koncentracji tego typu włókna w liściach roślin wyrosłych z nasion niezaprawianych zaobserwowano również po zastosowaniu nalistnym biostymulatorów w porównaniu do obiektu kontrolnego. Odmienną reakcję na zawartość frakcji NDF włókna w liściach gryki zaobserwowano na obiektach, na których materiał siewny zaprawiono nitrofenolami roślinnymi. W tym przypadku zastosowanie nalistne biostymulatorów powodowało nieznaczny spadek zawartości frakcji NDF włókna w liściach gryki (Rysunek 97).



Rysunek 97. Kształtowanie się zawartości frakcji NDF włókna w liściach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

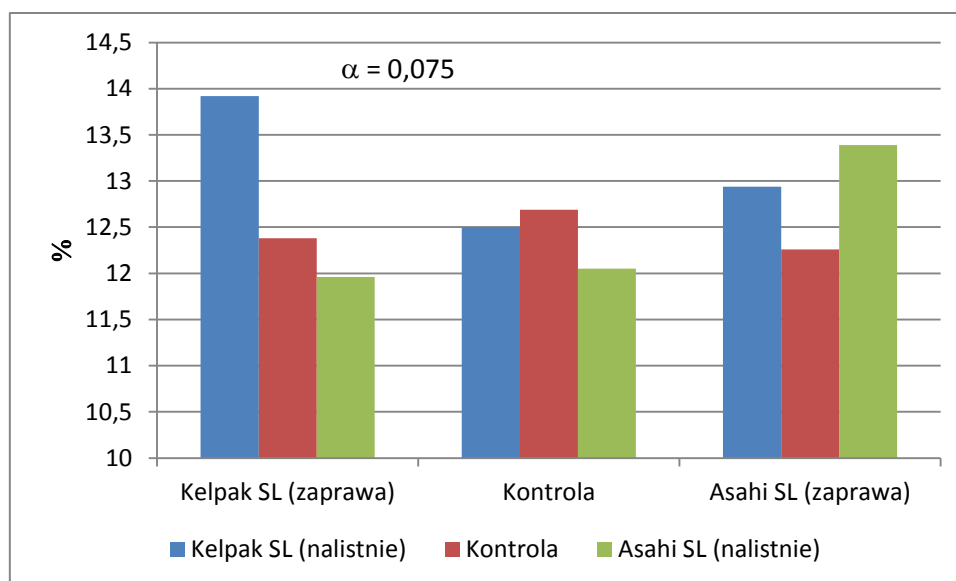
Koncentracja frakcji NDF włókna w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby. Największą koncentrację frakcji włókna NDF w liściach gryki zaobserwowano po zaprawieniu nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* i po zastosowaniu preparatu Biogen Revital. Na obiektach bez stosowania użyźniaczy gleby stwierdzono wzrost zawartości włókna neutralnodetergentowego w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych preparatami Serenade ASO i Polyversum WP. Odmienną reakcję w koncentracji włókna zaobserwowano po zaprawieniu nasion szczepem *Bacillus subtilis* i oosporami grzyba *Pythium oligandrum* w obecności użyźniacza UG Max. Liście roślin wyrosłych na tych obiektach zredukowały koncentrację frakcji włókna NDF (Rysunek 98).





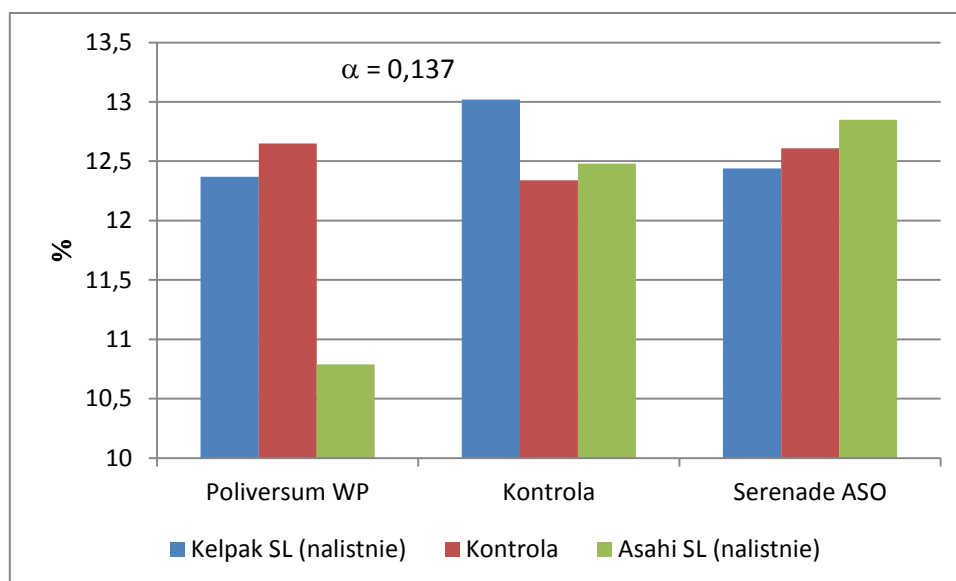
Rysunek 98. Kształtowanie się zawartości frakcji NDF włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x biostymulator stosowany nalistnie. Zaprawianie nasion nitrofenolami wpłynęło na wzrost zawartości frakcji włókna ADF po zastosowaniu biostymulatorów w porównaniu do obiektu kontrolnego. Jednak najwyższą koncentrację frakcji włókna detergentowego kwaśnego zaobserwowano po zaprawieniu nasion i nalistnym zastosowaniu auksyn i cytokinin pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL). Natomiast stosowanie nalistne biostymulatorów przy braku ich stosowania jako zaprawy zasadniczo nie wpłynęło na koncentrację frakcji ADF włókna w liściach gryki (Rysunek 99).



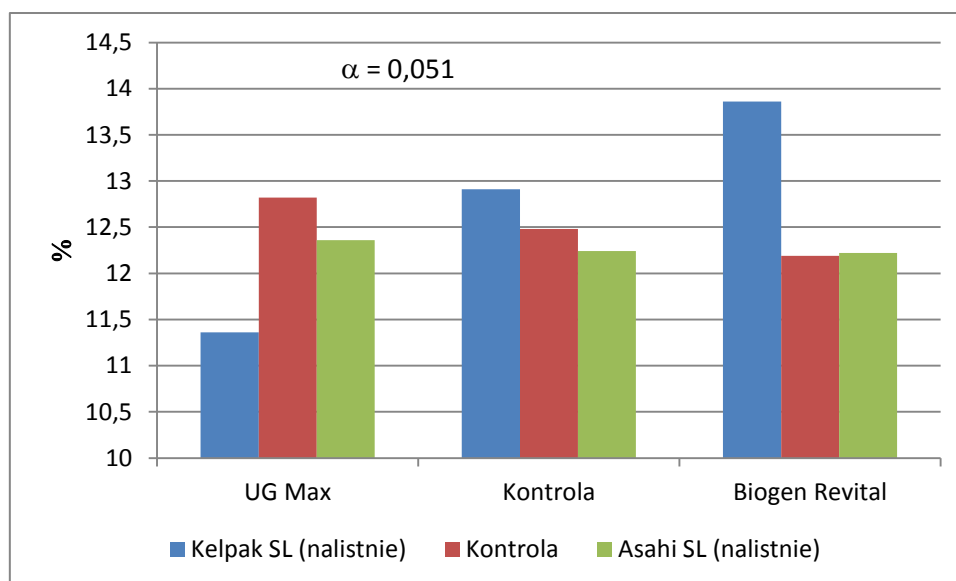
Rysunek 99. Kształtowanie się zawartości frakcji ADF włókna w liściach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

Wpływ interakcji czynników zaprawa biologiczna x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość frakcji włókna ADF w liściach gryki, można określić także mianem tendencji. Zaprawienie nasion oosporami *Pythium oligandrum* wpłynęło na spadek koncentracji frakcji ADF włókna w liściach gryki po zastosowaniu nalistnie biostymulatorów, szczególnie Asahi SL. Natomiast najwyższą koncentrację frakcji ADF włókna w liściach gryki na obiekcie bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion zaobserwowano po zastosowaniu nalistnym fitohormonów (Kelpak SL). Warto również zaznaczyć wzrost koncentracji tego rodzaju włókna po zaprawieniu nasion szczepem *Bacillus subtilis* i po zastosowaniu nalistnym biostymulatora Asahi (Rysunek 100).



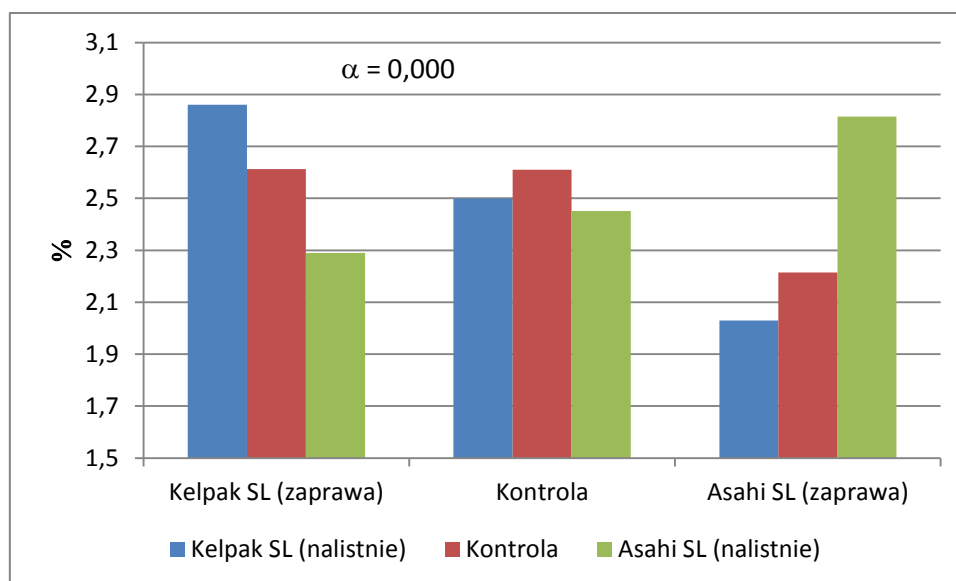
Rysunek 100. Kształtowanie się zawartości frakcji ADF włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Zawartość frakcji ADF włókna w liściach gryki modyfikowana była również istotną statystycznie interakcją czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie. Zastosowanie użyźniacza gleby UG Max w połączeniu z nalistnym zastosowaniem biostymulatorów wpłynęło na zmniejszenie zawartości frakcji ADF włókna w liściach. Natomiast na obiekcie z wyłącznym stosowaniem nalistnie preparatu Kelpak zaobserwowano wzrost zawartości frakcji ADF włókna w liściach. Jednak największą zawartość frakcji ADF włókna stwierdzono po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital i nalistnej aplikacji auksyn i cytokinin pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) (Rysunek 101).



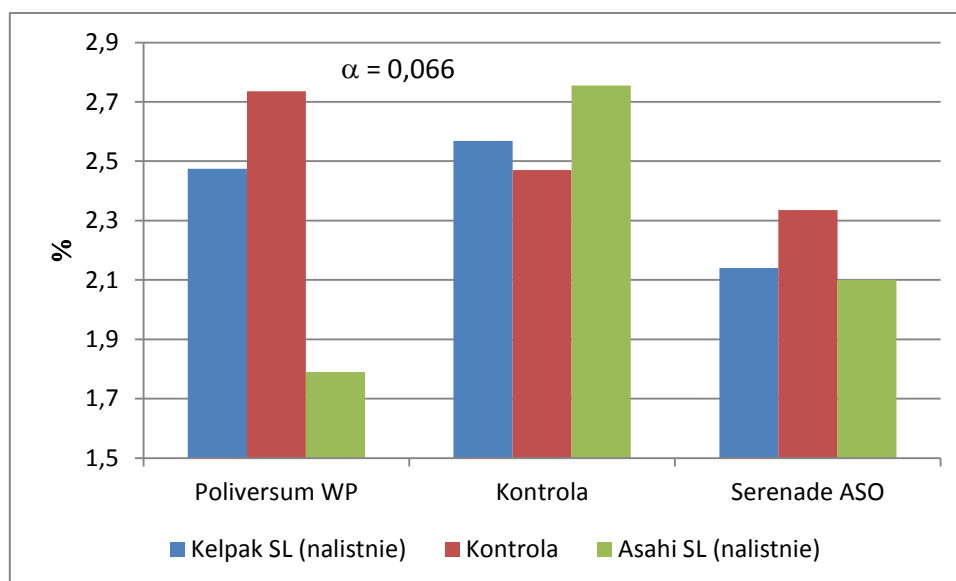
Rysunek 101. Kształtowanie się zawartości frakcji ADF włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

Również warto podkreślić istotny wpływ interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość frakcji ADL włókna w liściach gryki. Największą zawartością frakcji ADL włókna stwierdzono po dwukrotnym zastosowaniu fitohormonów (Kelpak SL) zarówno w formie zaprawy, jak i nalistnie. Podobną reakcję stwierdzono po zastosowaniu nitrofenoli roślinnych zarówno w formie zaprawy i nalistnie. Natomiast odmienną reakcję zaobserwowano na obiektach wyrosłych z nasion niezaprawianych. W tym przypadku nalistne zastosowanie biostymulatorów nieznacznie zmniejszyło koncentrację frakcji ADL włókna w liściach gryki (Rysunek 102).



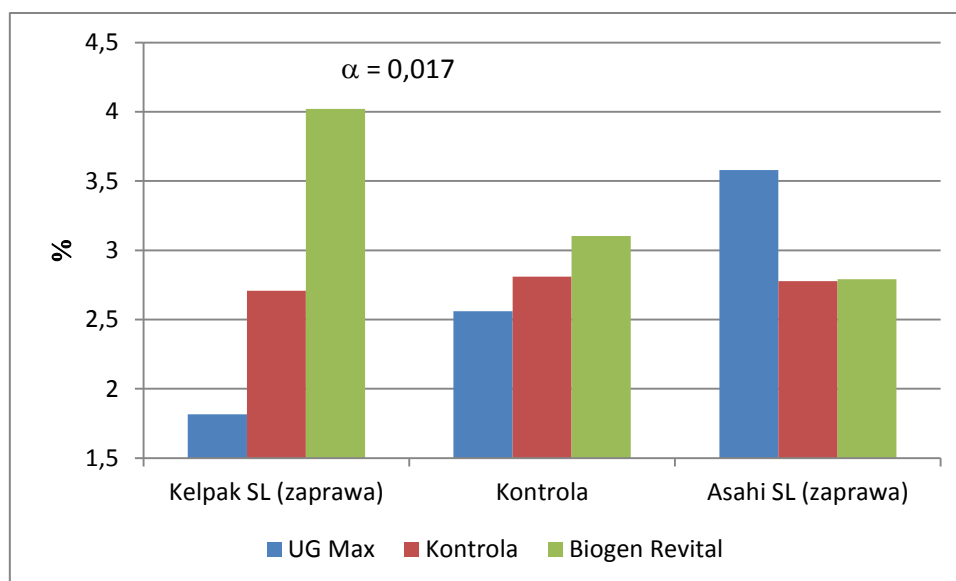
Rysunek 102. Kształtowanie się zawartości frakcji ADL włókna w liściach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

Mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników zaprawa biologiczna x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość frakcji ADL włókna w liściach gryki. Wobec braku zapraw biologicznych nalistne zastosowanie nitrofenoli wpłynęło na wzrost koncentracji frakcji ADF włókna w porównaniu do obiektu kontrolnego i obiektu na którym nalistnie zastosowano fitohormony. Natomiast zaprawienie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* i nalistne stosowanie biostymulatorów wpłynęło na spadek zawartości frakcji ADL włókna w liściach gryki w porównaniu do obiektu kontrolnego. Podobną reakcję obserwowano po zaprawieniu nasion szczepem *Bacillus subtilis* i nalistnym zastosowaniu biostymulatorów, szczególnie Asahi SL (Rysunek 103).



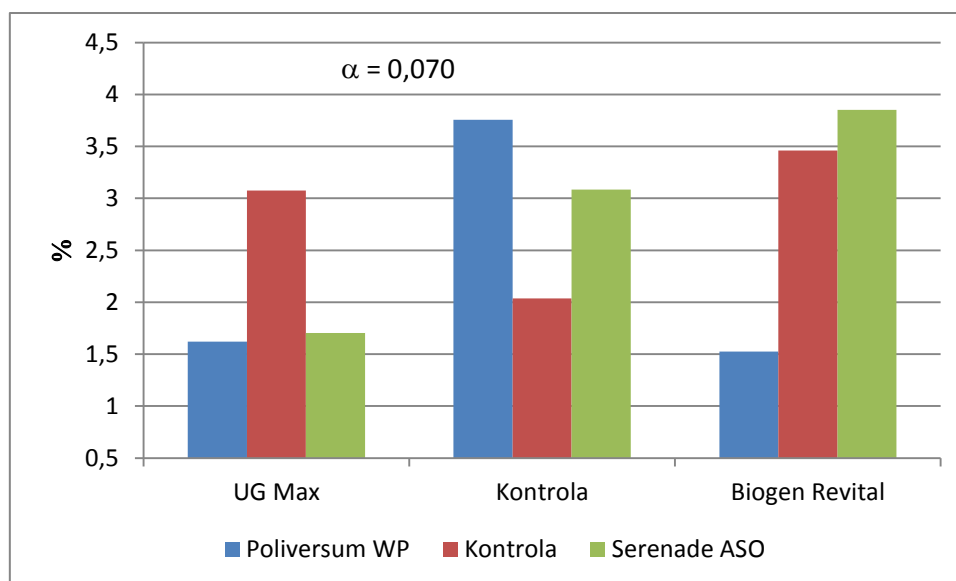
Rysunek 103. Kształtowanie się zawartości frakcji ADL włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Zawartość hemiceluloz w liściach gryki modyfikowana była istotnym wpływem interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby. Największą zawartość hemiceluloz stwierdzono w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych fitohormonami pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) i po zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max. Na obiektach bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion biostymulatorami po zastosowaniu preparatu Biogen Revital zaobserwowano niewielki wzrost koncentracji hemiceluloz w liściach, w porównaniu do obiektu kontrolnego. Na uwagę zasługuje również wzrost zawartości tego związku po zaprawieniu nasion nitrofenolami i zastosowaniu preparatu UG Max (Rysunek 104).



Rysunek 104. Kształtowanie się zawartości frakcji HCEL włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

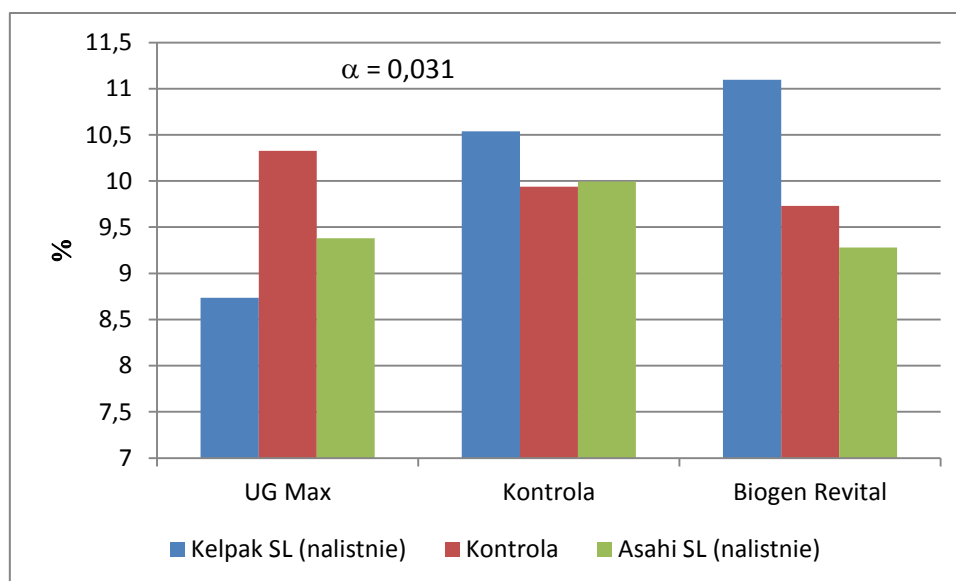
Mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby na koncentrację hemiceluloz w liściach gryki. Zaobserwowano wyraźny wzrost koncentracji hemiceluloz w liściach gryki po zaprawieniu nasion szczepem *Bacillus subtilis* i po zastosowaniu preparatu Biogen Revital. Natomiast na obiektach po zaprawieniu nasion tylko preparatami Serenade ASO i Polyversum WP stwierdzono wzrost zawartości hemiceluloz w liściach gryki. Odmienną reakcję w zawartości hemiceluloz stwierdzono po zaprawieniu nasion oosporami *Pythium oligandrum* i *Bacillus subtilis* w obecności użyźniacza gleby UG Max (Rysunek 105).



Rysunek 105. Kształtowanie się zawartości frakcji HCEL włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Warto również podkreślić wpływ interakcji czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość frakcji CEL włókna w liściach gryki. Najwyższą koncentrację celulozy stwierdzono po zastosowaniu fitohormonów pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) i użyźniacza gleby Biogen Revital. Wyłączne zastosowanie nalistne fitohormonów pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) wpłynęło na wzrost zawartości frakcji CEL włókna w liściach gryki w porównaniu do obiektu kontrolnego. Odmienną reakcję stwierdzono na zastosowanie użyźniacza gleby UG Max w kombinacji z biostymulatorami. W tym przypadku zastosowanie biostymulatorów zmniejszyło zawartość celulozy w liściach gryki w porównaniu do obiektu kontrolnego (Rysunek 106).





Rysunek 106. Kształtowanie się zawartości frakcji CEL włókna w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

Oceniając jakość surowca roślinnego należy podkreślić wzrost walorów pokarmowych wraz ze wzrostem zawartości wielu makro i mikroelementów. W ramach realizowanego ekologicznego eksperymentu polowego analizowano wpływ wielu czynników na poziom zawartości składników mineralnych w liściach gryki (Tabela 28). Stwierdzono istotny wpływ biostymulatorów, bez względu na sposób aplikacji, na zawartość fosforu w liściach gryki. Zaprawianie nasion nitrofenolami (Asahi SL) zwiększyło koncentrację tego składnika mineralnego w liściach gryki w porównaniu do liści roślin wyrosłych z nasion zaprawionych fitohormonami (Kelpak SL). Wpływ biostymulatorów w formie nalistnej i użyźniaczy gleby na koncentrację potasu w liściach gryki można określić mianem trendu. Koncentracja wapnia, manganu magnezu i sodu w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi wszystkich analizowanych źródeł zmienności. Zawartość wapnia w liściach po zaprawieniu nasion biostymulatorami wzrosła w odniesieniu do obiektu kontrolnego o  $0,46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Również stwierdzono wzrost tego składnika mineralnego w wyniku zastosowania użyźniaczy gleby o  $0,27 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Zaprawianie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* zwiększyło zawartość wapnia w liściach gryki w porównaniu do liści roślin wyrosłych z nasion zaprawionych szczepem *Bacillus subtilis* o  $1,337 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Największą koncentrację tego składnika mineralnego w liściach gryki ( $9,519 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) zaobserwowano po zastosowaniu nalistnym fitohormonów pozyskanych alg *Ecklonia maxima*. Koncentracja sodu, magnezu i manganu podlegała istotnemu wpływowi wszystkich badanych czynników, co potwierdzają ich istotne efekty kwadratowe. Największe zawartości magnezu stwierdzono na poziomie wysokim

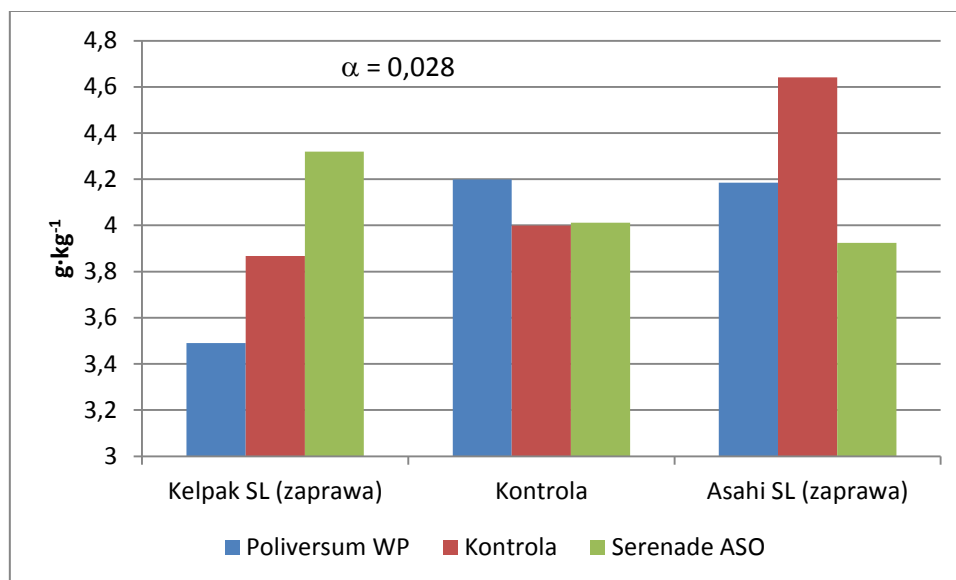
analizowanych źródeł zmienności. Również zastosowanie biostymulatorów roślinnych wpłynęło istotnie na wzrost zawartości żelaza oraz molibdenu w stosunku do obiektu kontrolnego. Zastosowanie użyźniaczy gleby istotnie zwiększyło zawartość sodu. Zaprawienie nasion preparatami Kelpak SL i Asahi SL spowodowało istotny wzrost zawartości cynku, żelaza i miedzi. Natomiast zaprawianie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* i szczepem *Bacillus subtilis* przyczyniło się do wzrostu zawartości w liściach sodu i miedzi w stosunku do obiektu kontrolnego.

Tabela 28. Wpływ badanych czynników na zawartość składników mineralnych w liściach gryki

| Czynnik                                       | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|-----------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                               | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Fosfor [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 3,880           | 4,056  | 4,446  | 0,000                        | 0,132        |
| Zaprawa biologiczna                           | 4,078           | 4,135  | 4,049  | 0,831                        | 0,919        |
| Użyźniacz glebowy                             | 3,971           | 4,150  | 4,119  | 0,289                        | 0,868        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 4,269           | 3,997  | 4,206  | 0,634                        | 0,013        |
| Potas [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 31,24           | 29,71  | 30,25  | 0,315                        | 0,155        |
| Zaprawa biologiczna                           | 28,85           | 30,79  | 29,94  | 0,269                        | 0,194        |
| Użyźniacz glebowy                             | 30,76           | 29,60  | 31,02  | 0,786                        | 0,087        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 30,66           | 30,38  | 29,16  | 0,131                        | 0,794        |
| Wapń [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]      |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 9,667           | 9,050  | 9,353  | 0,214                        | 0,004        |
| Zaprawa biologiczna                           | 9,951           | 9,232  | 8,614  | 0,000                        | 0,212        |
| Użyźniacz glebowy                             | 9,635           | 9,131  | 9,182  | 0,077                        | 0,028        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 9,519           | 9,396  | 8,634  | 0,001                        | 0,705        |
| Sód [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]      |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 86,49           | 83,09  | 86,74  | 0,877                        | 0,014        |
| Zaprawa biologiczna                           | 82,57           | 86,00  | 83,38  | 0,607                        | 0,049        |
| Użyźniacz glebowy                             | 88,10           | 82,39  | 86,88  | 0,442                        | 0,001        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 81,57           | 87,01  | 81,85  | 0,861                        | 0,001        |
| Magnez [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 13,63           | 15,02  | 13,24  | 0,617                        | 0,000        |
| Zaprawa biologiczna                           | 13,88           | 14,68  | 13,83  | 0,955                        | 0,001        |
| Użyźniacz glebowy                             | 14,03           | 14,61  | 13,86  | 0,828                        | 0,003        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 14,49           | 14,40  | 13,92  | 0,470                        | 0,014        |
| Cynk [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 68,18           | 61,12  | 66,38  | 0,600                        | 0,005        |
| Zaprawa biologiczna                           | 63,09           | 64,13  | 63,96  | 0,799                        | 0,425        |
| Użyźniacz glebowy                             | 62,38           | 64,93  | 62,66  | 0,936                        | 0,830        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 69,17           | 62,52  | 61,90  | 0,040                        | 0,054        |
| Żelazo [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 156,1           | 136,0  | 143,1  | 0,012                        | 0,001        |
| Zaprawa biologiczna                           | 142,3           | 146,1  | 131,7  | 0,037                        | 0,103        |
| Użyźniacz glebowy                             | 135,8           | 146,6  | 137,0  | 0,800                        | 0,064        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 159,0           | 137,9  | 135,3  | 0,000                        | 0,017        |
| Miedź [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 3,098           | 2,550  | 3,398  | 0,091                        | 0,000        |
| Zaprawa biologiczna                           | 2,984           | 2,604  | 3,380  | 0,029                        | 0,000        |
| Użyźniacz glebowy                             | 2,391           | 3,095  | 2,740  | 0,051                        | 0,190        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 2,912           | 2,904  | 2,697  | 0,222                        | 0,160        |
| Molibden [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 17,23           | 16,93  | 17,50  | 0,674                        | 0,095        |
| Zaprawa biologiczna                           | 17,13           | 16,96  | 17,54  | 0,523                        | 0,115        |
| Użyźniacz glebowy                             | 16,06           | 17,34  | 17,64  | 0,017                        | 0,930        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 16,70           | 16,78  | 18,41  | 0,010                        | 0,026        |
| Mangan [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 106,33          | 99,09  | 103,49 | 0,336                        | 0,000        |
| Zaprawa biologiczna                           | 102,05          | 101,07 | 102,83 | 0,790                        | 0,006        |
| Użyźniacz glebowy                             | 103,11          | 101,13 | 101,61 | 0,609                        | 0,007        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 106,97          | 99,89  | 100,85 | 0,043                        | 0,000        |

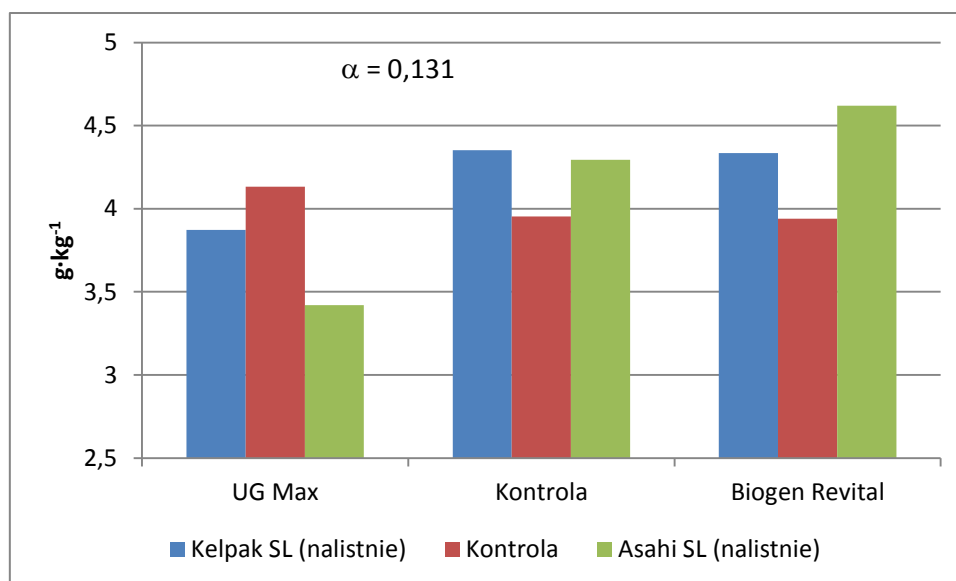
Zawartość fosforu w liściach gryki modyfikowana była istotną interakcją czynników zaprawa biologiczna x biostymulator w formie zaprawy. Największą koncentrację tego

pierwiastka stwierdzono w liściach gryki roślin wyrosłych z nasion potraktowanych tylko nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL). Natomiast zaprawienie nasion fitohormonami (Kelpak SL) i szczepem bakterii *Bacillus subtilis* także wpłynęło na wzrost zawartości fosforu w liściach w porównaniu do obiektu kontrolnego. Zaprawienie nasion wyłącznie oosporami grzyba *Pythium oligandrum* bez wcześniejszego zaprawiania biostymulatorami również wpłynęło na wzrost tego związku w liściach gryki (Rysunek 107).



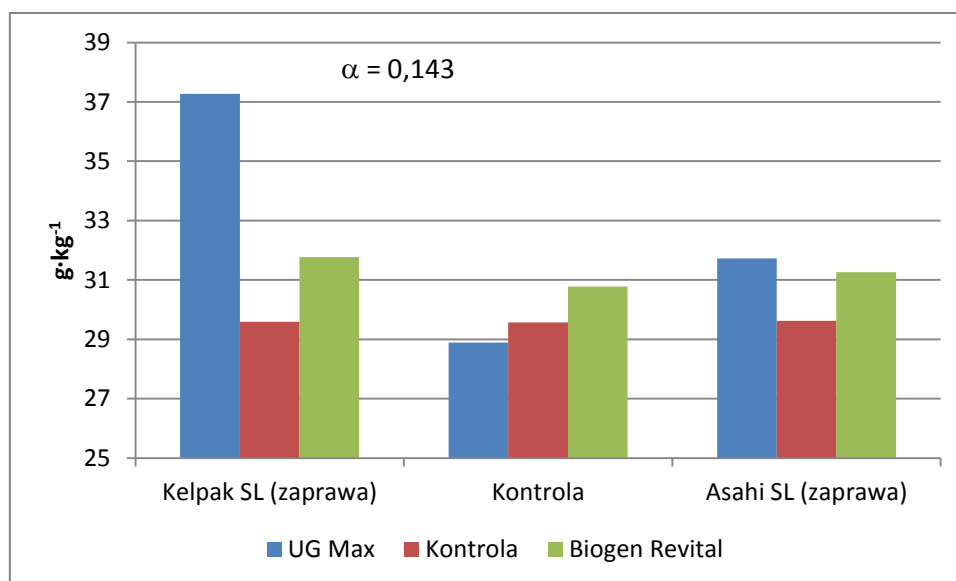
Rysunek 107. Kształtowanie się zawartości fosforu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość fosforu w liściach gryki. Stwierdzono wyraźny spadek zawartości fosforu w liściach po zastosowaniu użyźniacza glebowego UG Max i po nalistnym stosowaniu biostymulatorów w porównaniu do obiektu kontrolnego. Na obiektach na których nie stosowano użyźniacza gleby stwierdzono wzrost koncentracji tego składnika mineralnego w liściach po zastosowaniu nalistnie biostymulatorów. Podobną reakcję zaobserwowano na obiektach na których zastosowano użyźniacz Biogen Revital (Rysunek 108).



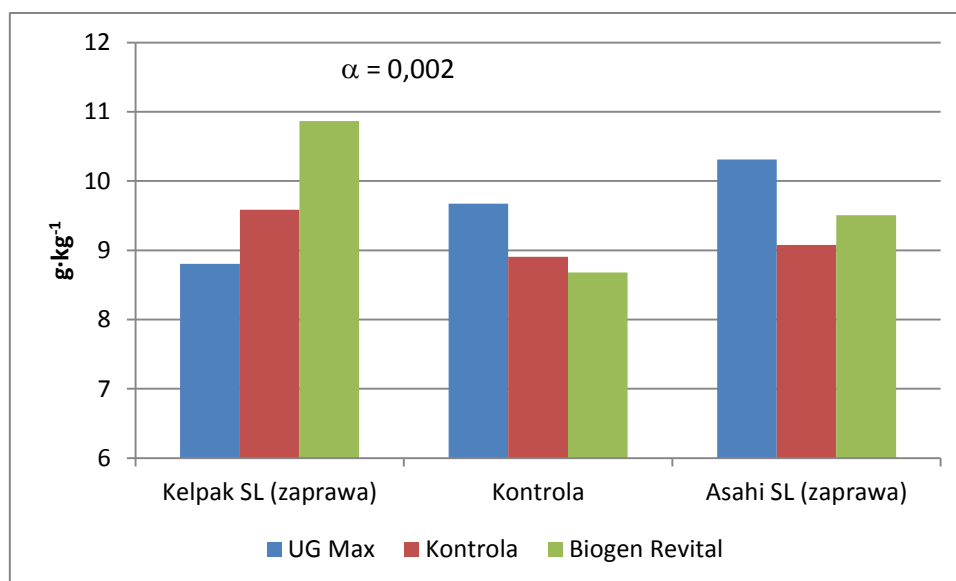
Rysunek 108. Kształtowanie się zawartości fosforu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

Również mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby na zawartość potasu w liściach gryki. Największą koncentrację tego związku zaobserwowano po zaprawieniu nasion fitohormonami (Kelpak SL) i po zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max. Zaprawienie nasion nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) wpłynęło na wzrost zawartość potasu w liściach po zastosowaniu użyźniaczy gleby w porównaniu do obiektu kontrolnego. Natomiast zastosowanie użyźniacza gleby Biogen Revital skutkowało wzrostem zawartości tego związku w liściach gryki w odniesieniu do preparatu UG Max, ale przy braku stosowania biostymulatorów jako zapraw (Rysunek 109).



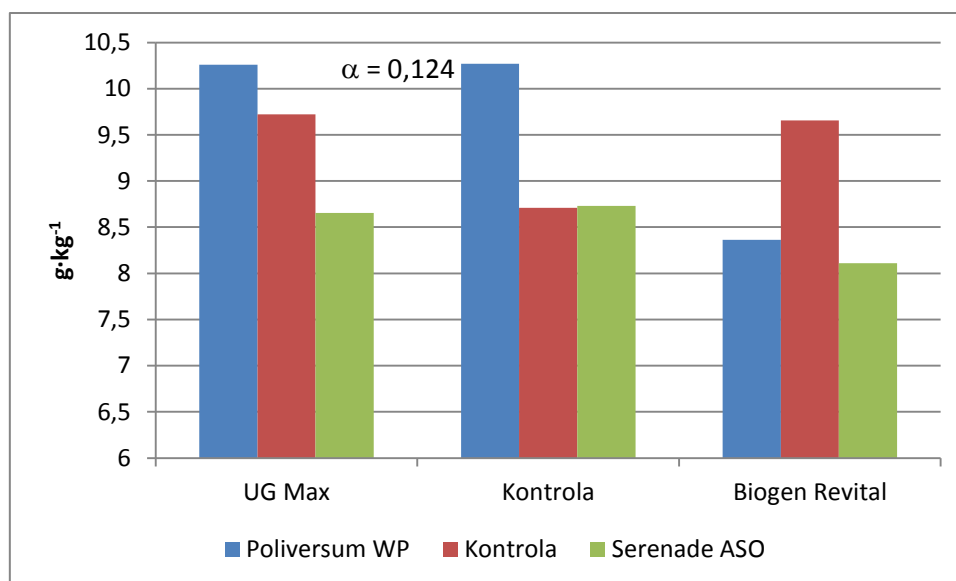
Rysunek 109. Kształtowanie się zawartości potasu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i użyźniaczy gleby

Koncentracja wapnia w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby. Najwyższą zawartość tego składnika mineralnego stwierdzono po zaprawieniu nasion fitohormonami i po zastosowaniu użyźniacza Biogen Revital. Zastosowanie użyźniacza gleby UG Max wpłynęło na wzrost zawartości wapnia w liściach w porównaniu do zawartości w liściach roślin wyrosłych na obiektach na których zastosowano preparat Biogen Revital (bez biostymulatorów jako zapraw). Na uwagę zasługuje wzrost zawartości wapnia w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) w obecności użyźniaczy gleby w porównaniu do obiektu kontrolnego (Rysunek 110).



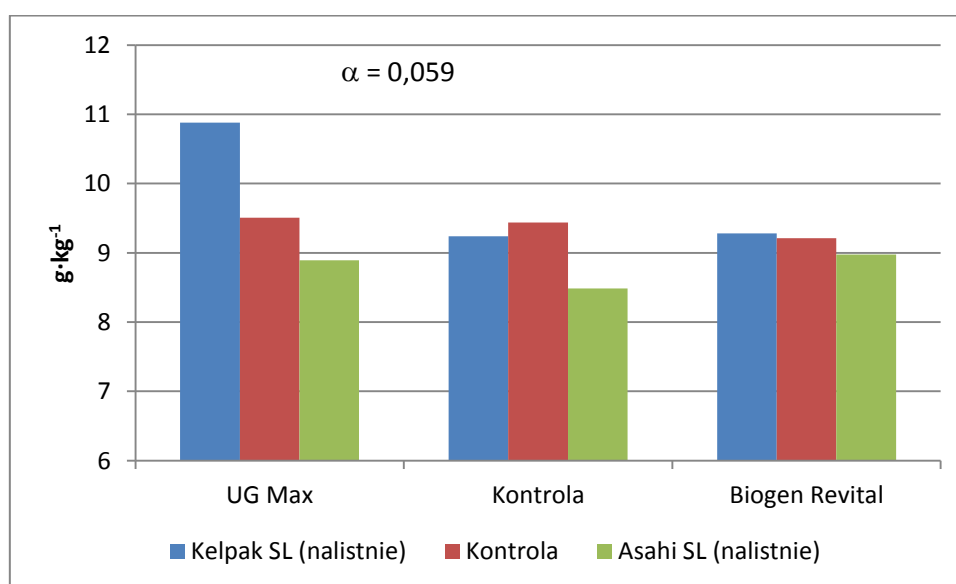
Rysunek 110. Kształtowanie się zawartości wapnia w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów jako zapraw i użyźniaczy gleby

Mianem trendu można określić wpływ interakcji czynników zaprawa biologiczna x użyźniacz gleby na zawartość wapnia w liściach gryki. Zaprawienie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* wpłynęło na wzrost zawartości tego składnika mineralnego w obecności użyźniacza gleby UG Max. Podobną zależność stwierdzono po zaprawieniu nasion wyżej wymienionym mikroorganizmem, na obiektach bez stosowania użyźniacza gleby w porównaniu do obiektu kontrolnego i obiektu na którym zaprawiono nasiona preparatem Serenade ASO. Odminną reakcję zaobserwowano natomiast po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital. W tym przypadku zaprawienie nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* czy też oosporami grzyba *Pythium oligandrum* powodowało zmniejszenie zawartości wapnia w liściach gryki (Rysunek 111).



Rysunek 111. Kształtowanie się zawartości wapnia w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

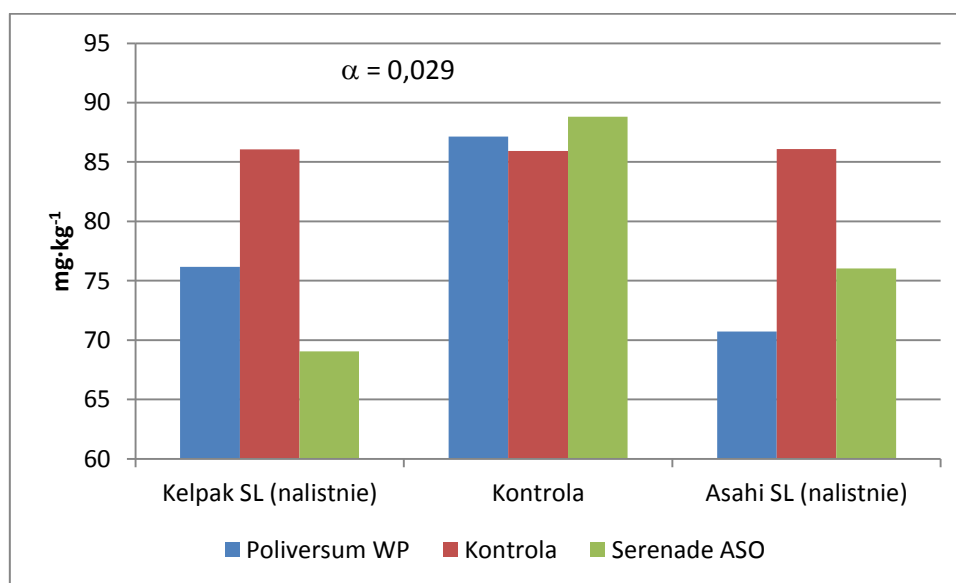
Również mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość wapnia w liściach gryki. Największą zawartość wapnia w liściach stwierdzono w liściach roślin wyrosłych nasion po zastosowaniu użyźniacza gleby UG Max i po aplikacji nalistnej fitohormonów (Kelpak SL). Indywidualne zastosowanie biostymulatorów nalistnie wpłynęło na obniżenie koncentracji tego składnika mineralnego w liściach gryki w porównaniu do obiektu kontrolnego (Rysunek 112).



Rysunek 112. Kształtowanie się zawartości wapnia w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci nalistnej i użyźniaczy gleby

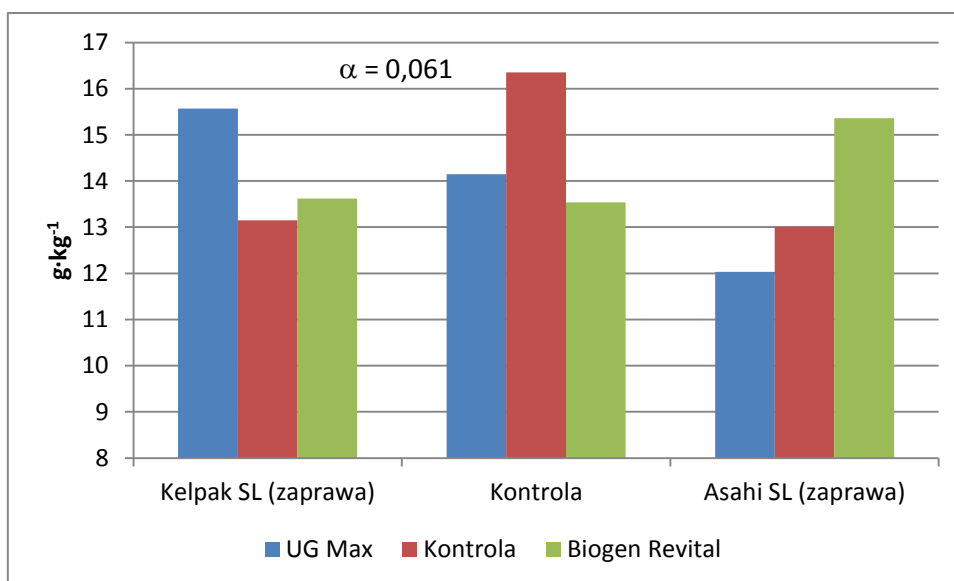


Koncentracja sodu w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników zaprawa biologiczna x biostymulator stosowany nalistnie. Zaprawienie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* lub szczepem bakterii *Bacillus subtilis* wpłynęło na spadek zawartości tego pierwiastka po nalistnej aplikacji fitohormonów (Kelpak SL). Podobną reakcję stwierdzono na obiektach na których zastosowano nitrofenole roślinne. Natomiast zaprawienie nasion tylko preparatami Serenade ASO i Polyversum WP nie skutkowało zmianą zawartości sodu w liściach gryki (Rysunek 113).



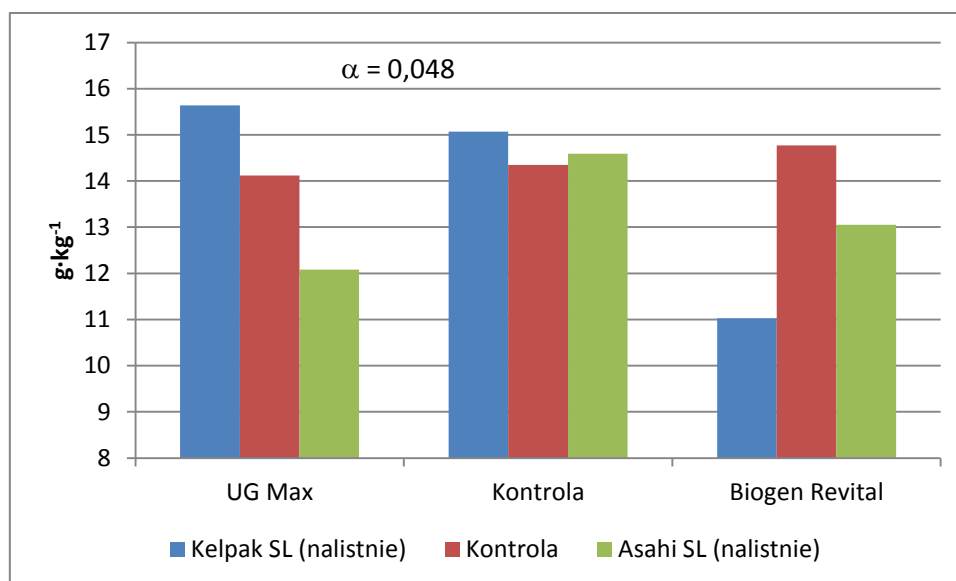
Rysunek 113. Kształtowanie się zawartości sodu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Zaobserwowano bliski statystycznej istotności wpływ interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby na zawartość magnezu w liściach gryki. Najwyższą koncentrację tego składnika stwierdzono na obiekcie kontrolnym (bez stosowania użyźniaczy i zapraw biologicznych). Natomiast zaprawienie nasion fitohormonami (Kelpak SL) w obecności użyźniacza gleby wpłynęło na wzrost zawartości magnezu, szczególnie w obecności użyźniacza UG Max. Na uwagę zasługują również wpływ zaprawiania nasion na zawartość tego składnika mineralnego w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL). Po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital zawartość magnezu w liściach gryki wyraźnie się zwiększyła (Rysunek 114).



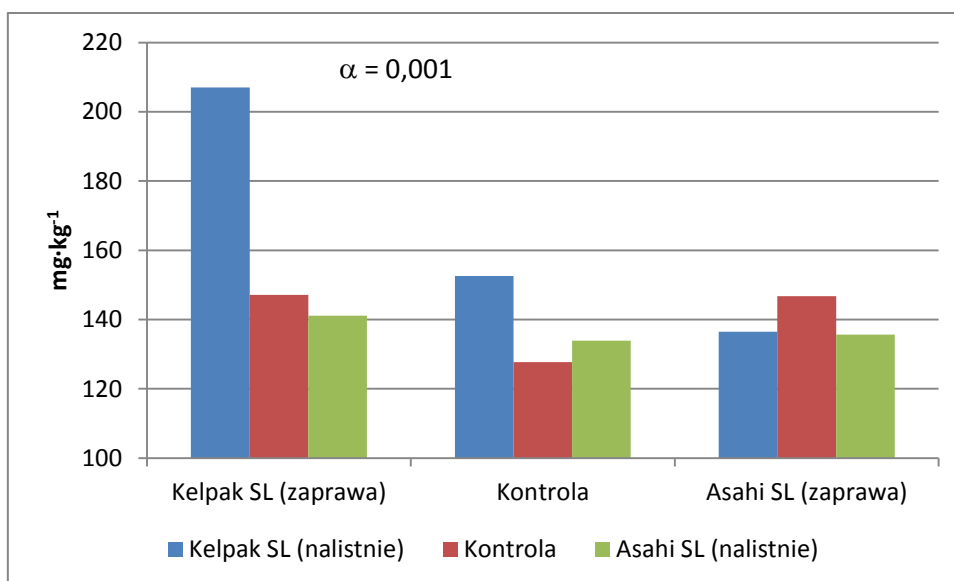
Rysunek 114. Kształtowanie się zawartości magnezu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci zaprawy i użyźniaczy gleby

Zawartość magnezu w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie. Największą koncentrację tego makroelementu stwierdzono w liściach roślin wyrosłych po nalistnym zastosowaniu fitohormonów (Kelpak SL) w obecności użyźniacza gleby UG Max. Obecność użyźniacza Biogen Revital wpłynęła na obniżenie zawartości magnezu w liściach po nalistnym zastosowaniu biostymulatorów. Natomiast biostymulatory stosowane indywidualnie (brak stosowania użyźniaczy) spowodowały niewielki wzrost koncentracji sodu w liściach gryki (Rysunek 115).



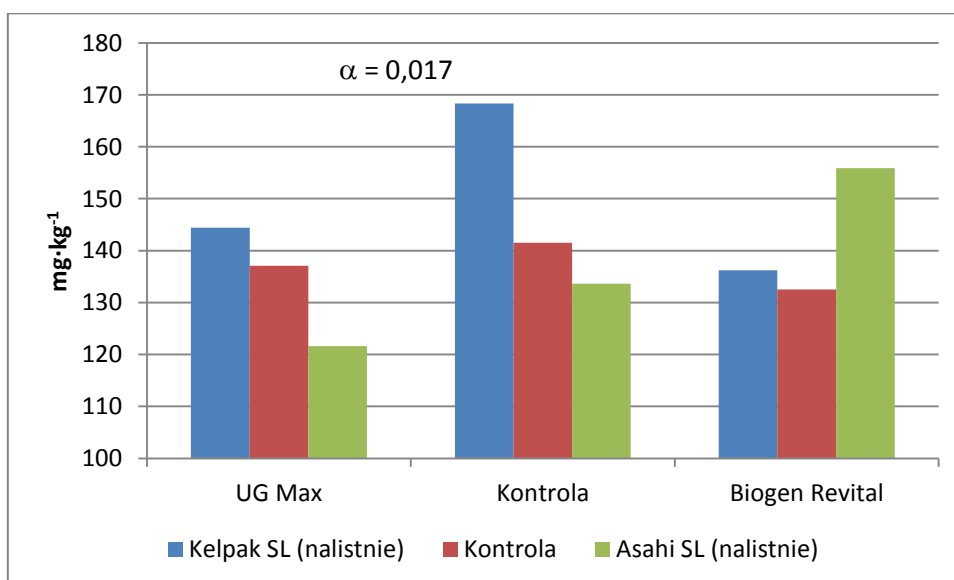
Rysunek 115. Kształtowanie się zawartości magnezu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci nalistnej i użyźniaczy gleby

Zawartość żelaza w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x biostymulator stosowany nalistnie. Największą zawartość tego mikroelementu stwierdzono po zastosowaniu auksyn i cytokinin pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) zarówno w formie zaprawy, jak i nalistnie. Liście roślin wyrosłych z nasion zaprawionych nitrofenolami (Asahi SL) po nalistnym zastosowaniu biostymulatorów zawierały mniej omawianego pierwiastka. Natomiast wyłączone zastosowanie biostymulatorów nalistnie spowodowało wzrost zawartości żelaza w liściach gryki w stosunku do obiektu kontrolnego (Rysunek 116).



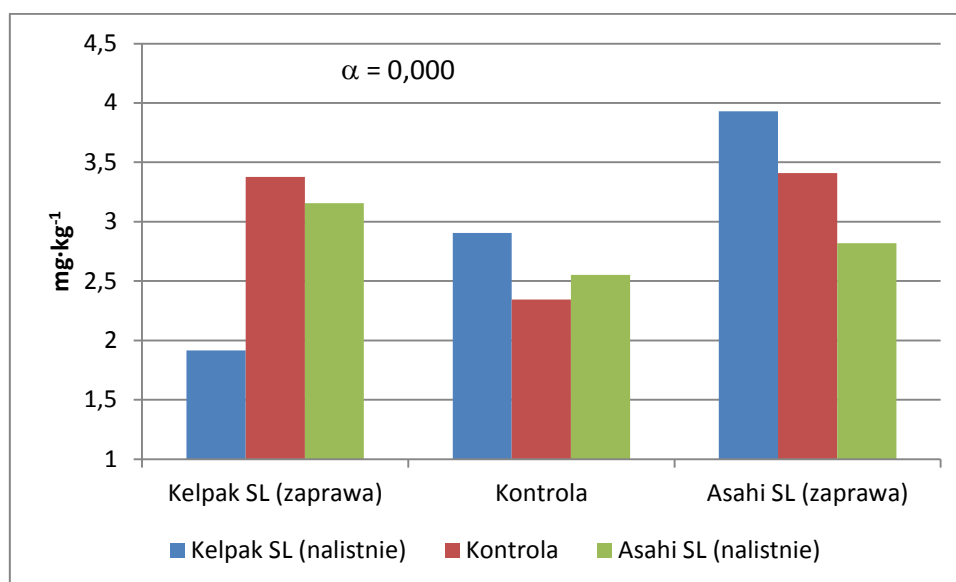
Rysunek 116. Kształtowanie się zawartości żelaza w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci zaprawy i oprysku

Również stwierdzono istotny wpływ interakcji czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość żelaza w liściach gryki. Największą zawartość tego mikroelementu stwierdzono w liściach roślin wyrosłych na obiektach tylko po aplikacji nalistnej biostymulatora Kelpak SL. W obecności użyźniacza gleby Biogen Revital aplikacja biostymulatorów w formie oprysku spowodowała wzrost zawartości. W obecności użyźniacza gleby UG Max tylko aplikacja nalistna preparatu Kelpak SL powodowała wzrost zawartości omawianego pierwiastka w liściach (Rysunek 117).



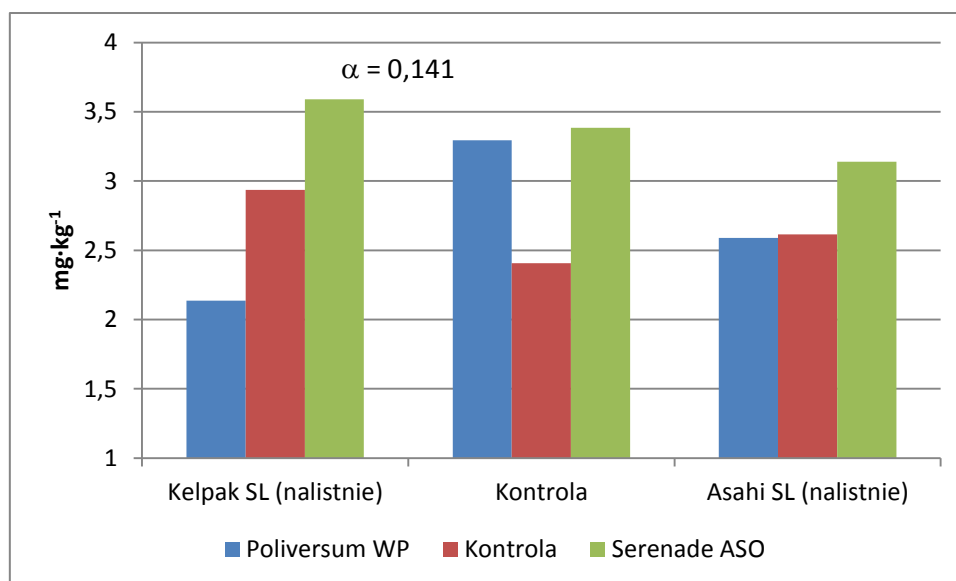
Rysunek 117. Kształtowanie się zawartości żelaza w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci nalistnej i użyźniaczy gleby

Zawartość miedzi w liściach gryki modyfikowana była istotną interakcją czynników biostymulator w formie zaprawy x biostymulator w formie oprysku. Największą zawartość tego pierwiastka stwierdzono w liściach gryki wyrosłej z nasion zaprawionych nitrofenolami (Asahi SL) i po nalistnej aplikacji fitohormonów (Kelpak SL). Natomiast zaprawienie nasion fitohormonami i zastosowanie biostymulatorów nalistnie wpłynęło na obniżenie zawartości miedzi w liściach gryki, szczególnie po zastosowaniu preparatu Kelpak SL. Odminną reakcję zaobserwowano na obiektach bez przedsięwzięcia zaprawiania nasion biostymulatorami. W tych warunkach aplikacja nalistna biostymulatorów skutkowała niewielkim wzrostem koncentracji tego mikroelementu w liściach gryki (Rysunek 115).



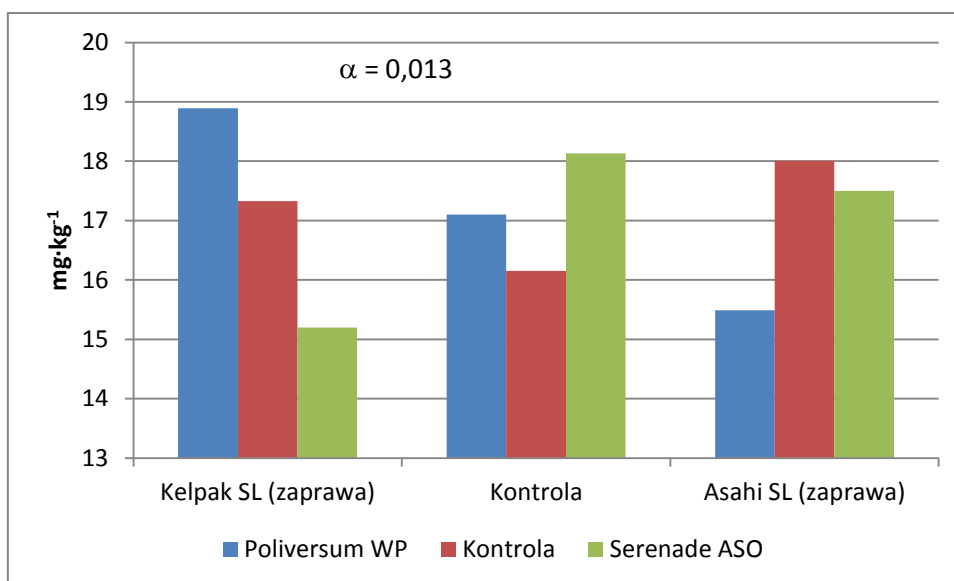
Rysunek 118. Kształtowanie się zawartości miedzi w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci zaprawy i oprysku

Mianem tendencji można opisać wpływ interakcji czynników zaprawa biologiczna x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość miedzi w liściach gryki. Największą zawartość tego mikroelementu stwierdzono w liściach gryki wyrosłej z nasion zaprawionych szczepem *Bacillus subtilis* po zastosowaniu nalistnym fitohormonów (Kelpak SL). Natomiast zaprawienie nasion wyłącznie preparatem Serenade ASO lub Polyversum WP powodowało wzrost zawartości miedzi w liściach w porównaniu do obiektu kontrolnego. Zaobserwowano również wyraźny wzrost zawartości tego pierwiastka w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych *Bacillus subtilis* i zarazem po aplikacji, w formie oprysku, preparatu Asahi SL (Rysunek 119).



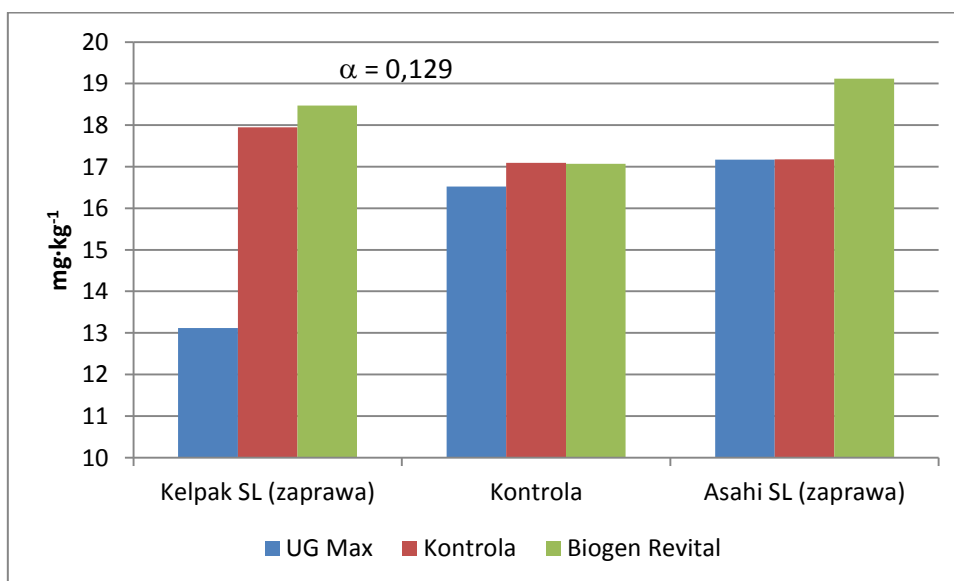
Rysunek 119. Kształtowanie się zawartości miedzi w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Koncentracja molibdenu w liściach gryki podlegała istotnemu wpływowi interakcji czynników zaprawa biologiczna x biostymulator stosowany w formie zaprawy. Największą zawartość tego mikroelementu stwierdzono w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych oosporami *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) i zarazem fitohormonami pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL). Zaprawienie nasion tylko preparatami Serenade ASO i Polyversum WP wpłynęło na wzrost zawartości molibdenu w liściach gryki w porównaniu do obiektu kontrolnego. Odmienną reakcję stwierdzono po zaprawieniu nasion preparatami Serenade ASO i Polyversum WP w obecności nitrofenoli roślinnych (Asahi SL) na koncentrację tego pierwiastka w liściach gryki. W takich warunkach stwierdzono zmniejszenie zawartości molibdenu w liściach gryki (Rysunek 120).



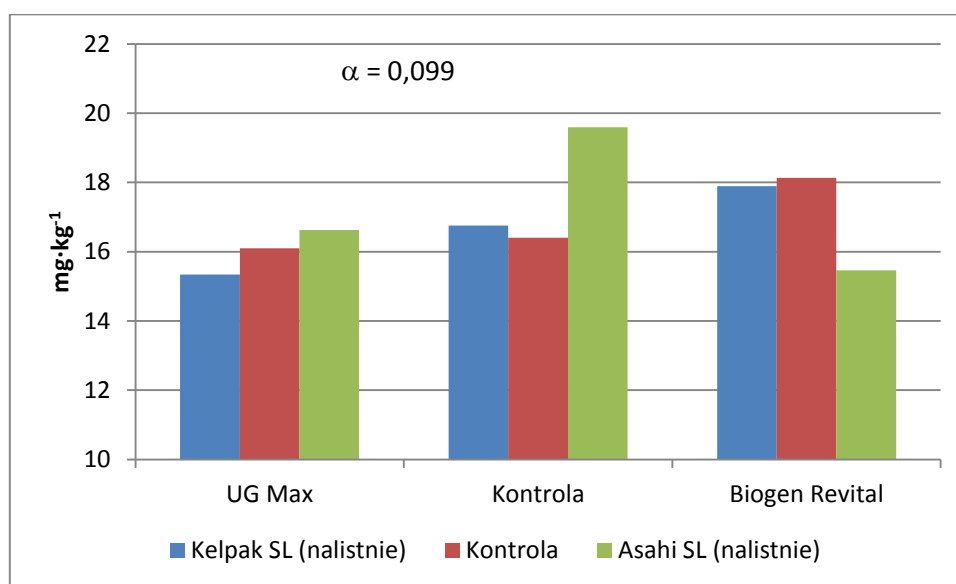
Rysunek 120. Kształtowanie się zawartości molibdenu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Mianem tendencji można opisać wpływ interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x użyźniacz gleby na zawartość molibdenu w liściach gryki. Największą koncentrację tego pierwiastka stwierdzono w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL) w obecności użyźniacza gleby Biogen Revital. Natomiast zaprawianie nasion preparatem Kelpak SL spowodowało wzrost zawartości molibdenu w liściach po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital (Rysunek 121).



Rysunek 121. Kształtowanie się zawartości molibdenu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci nalistnej i użyźniaczy gleby

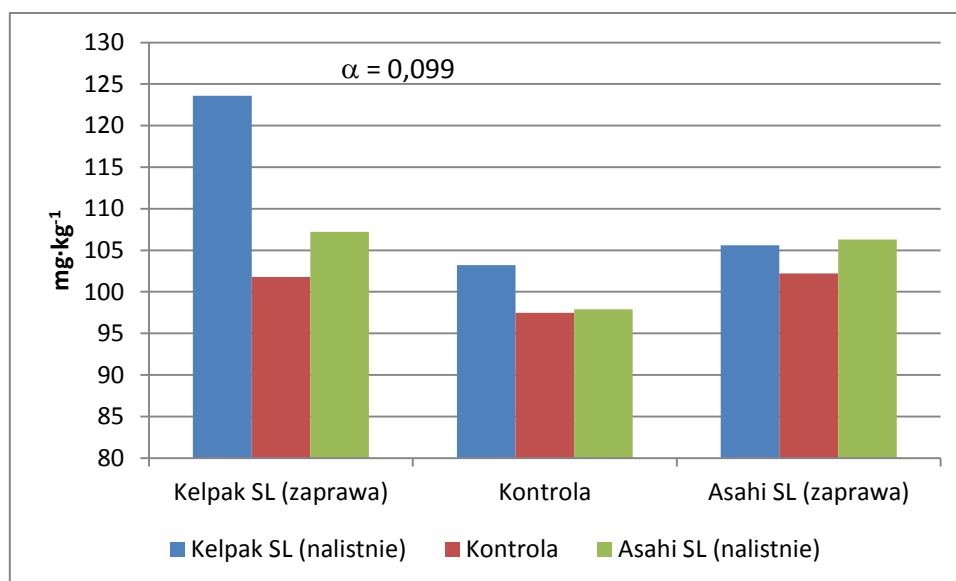
Również mianem tendencji można określić wpływ interakcji czynników użyźniacza gleby x biostymulator w formie oprysku na zawartość molibdenu w liściach gryki. Największą zawartość molibdenu zaobserwowano w liściach po zastosowaniu nalistnego oprysku tylko i wyłącznie nitrofenolami (Asahi SL). W obecności użyźniacza gleby Biogen Revital zastosowanie preparatu Asahi SL spowodowało obniżenie zawartość molibdenu w liściach gryki. W obecności użyźniacza gleby UG Max zastosowanie nalistne biostymulatorów w niewielkim stopniu zmieniło zawartość molibdenu w liściach gryki (Rysunek 122).



Rysunek 122. Kształtowanie się zawartości molibdenu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci nalistnej i użyźniaczy gleby

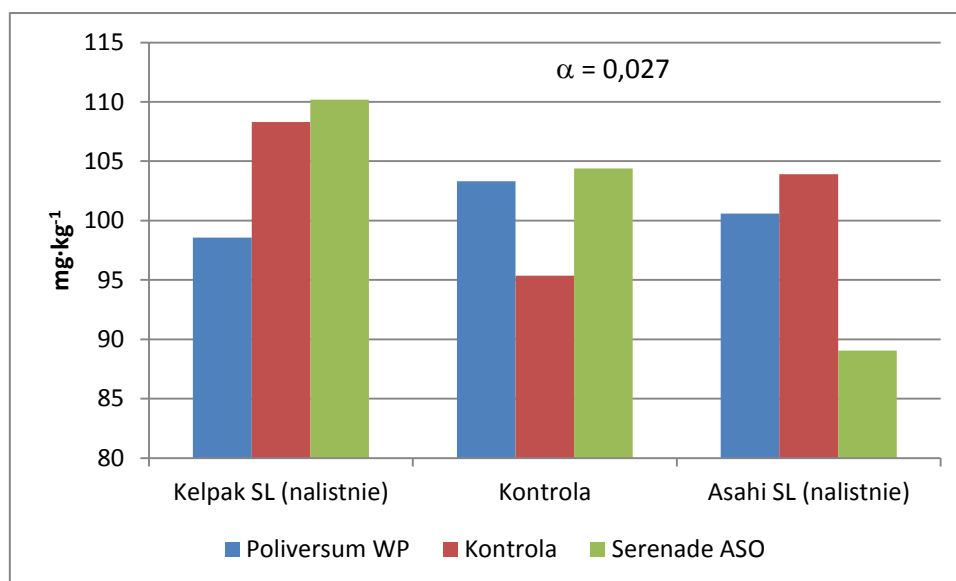
Wpływ interakcji czynników biostymulator w formie zaprawy x biostymulator stosowany nalistnie na zawartość manganu w liściach gryki można co najwyżej opisać mianem tendencji statystycznej. Największą koncentrację tego pierwiastka zaobserwowano po zaprawieniu nasion i nalistnym oprysku preparatem Kelpak SL. Natomiast zaprawienie nasion nitrofenolami roślinnymi wpłynęło na wzrost zawartości manganu w liściach po nalistnej aplikacji biostymulatorów. Odnotowano także wzrost koncentracji tego mikroelementu w liściach wyłącznie po nalistnym zastosowaniu fitohormonów roślinnych w porównaniu do obiektu kontrolnego (Rysunek 123).





Rysunek 123. Kształtowanie się zawartości manganu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci zaprawy i oprysku

Zawartość manganu w liściach gryki modyfikowana była przez istotną statystycznie interakcję czynników zaprawa biologiczna x biostymulator w formie oprysku. Zaprawienie nasion preparatem Serenade ASO wpłynęło na wzrost koncentracji tego pierwiastka w liściach gryki po zastosowaniu nalistnym fitohormonów pozyskanych z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL). Natomiast zaprawienie nasion preparatem Polyversum WP i następnie oprysk nalistny preparatem Kelpak SL spowodowało zmniejszenie zawartości manganu w liściach gryki. Na obiektach bez nalistnej aplikacji biostymulatorów stwierdzono wzrost zawartości tego mikroelementu w liściach po zaprawieniu nasion mikroorganizmami *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) i *Bacillus subtilis* (Serenade ASO). Natomiast odmienną reakcję zaobserwowano po zaprawieniu nasion wyżej wymienionymi drobnoustrojami i nalistnym oprysku nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL). Gryka rosnąca na tych obiektach obniżyła koncentrację manganu w liściach (Rysunek 124).



Rysunek 124. Kształtowanie się zawartości manganu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Aktywności antyoksydacyjne mierzone zarówno metodą FRAP jak i DPPH były wyraźnie statystycznie istotnie modyfikowane przez badane czynniki eksperymentalne. Aktywność antyoksydacyjna zmierzona metodą FRAP, bez względu na czas odczytu, zmniejsza się po zastosowaniu biostymulatorów jako zapraw. Natomiast metoda DPPH wskazuje na wyraźne zróżnicowanie aktywności antyoksydacyjnej liści wyrosłych z nasion zaprawionych różnymi biostymulatorami (istotny efekt liniowy). Zaprawianie nasion zaprawami biologicznymi bez względu na metodę oznaczania aktywności antyoksydacyjnej zawsze prowadziło do jej ograniczenia, również całkowitej zawartości związków polifenolowych. Różnice w ocenie aktywności antyoksydacyjnej liści wykonane w/w metodami utrzymują się również w ocenie wpływu na ten parametr stosowania biostymulatorów nalistnie (Tabela 29).

Liście gryki mają mniejsze znaczenie żywieniowe dla ludzi niż orzeszki gryki, które przerabia się na różne rodzaje kasz gryczanych. Liście gryki można by stosować jako składnik sałatek, jednak ten zwyczaj nie jest rozpowszechniony. Aktywność antyoksydacyjna liści gryki zmieniała się istotnie po stosowaniu zapraw biologicznych i biostymulatora Asahi SL. W takich okolicznościach zaprawy powodowały wyraźne obniżenie aktywności antyoksydacyjnej liści gryki (Rysunek 125). Natomiast kombinacja użyźniacza glebowego z zaprawą Kelpak SL, a nawet z Asahi SL, spowodowała istotny statystycznie wzrost aktywności antyoksydacyjnej liści gryki (Rysunek 126). Podobnie jak w przypadku

orzeszków gryki preparat Polyversum WP w obecności użyźniacza UG Max wyraźnie, statystycznie istotnie zwiększył aktywności antyoksydacyjną liści gryki (Rysunek 127).

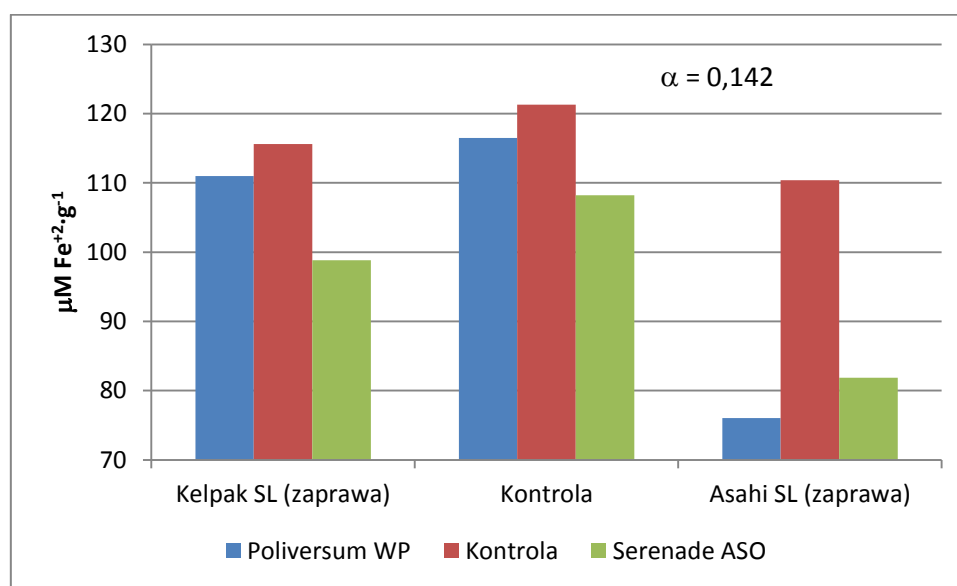
Przeciwnie niż w orzeszkach gryki podanie nalistne preparatu Asahi SL, na rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych zaprawą Serenade ASO spowodowało ogromną, korzystną (czyli zwiększenia aktywności antyoksydacyjnej) zmianę w liściach gryki. (Rysunek 128). Podając Asahi SL nalistnie zaobserwowano większą zmianę w aktywności antyoksydacyjnej liści gryki, niż podanie nalistne Kelpaku SL, podobne efekty uzyskano stosując te dwa preparaty jako zaprawę. (Rysunek 129 - Rysunek 130). Zastosowanie Polyversum WP w kombinacji z UG Max spowodowało wzrost aktywności antyoksydacyjnej liści gryki, podobnie jak podanie nalistne kombinacji preparatów Asahi SL i Serenade ASO (Rysunek 131 - Rysunek 133). Badanie siły antyoksydacyjnej ekstraktów z liści gryki metodą DPPH wykazało, że zastosowanie Kelpaku SL jako zaprawy wraz z Biogenem Revital oraz podanie nalistne samego Kelpaku SL wywołało najsilniejszy efekt zwiększający właściwości antyoksydacyjne liści gryki (Rysunek 134 - Rysunek 136).

W przypadku wartości odżywczych liści gryki i działania antyutleniającego najważniejszym parametrem jest całkowita zawartość związków polifenolowych. Zastosowanie zapraw Kelpak SL i Asahi, nie spowodowało większej zmiany w całkowitej ilości polifenoli w liściach gryki, natomiast zastosowanie użyźniaczy i biostymulatorów wzrostu miało większy wpływ na ten parametr. Podanie nalistne zarówno preparatu Kelpak SL jak i Asahi wpłynęło na zwiększenie frakcji związków o budowie fenolowej w analizowanych liściach gryki (Rysunek 137 - Rysunek 139).

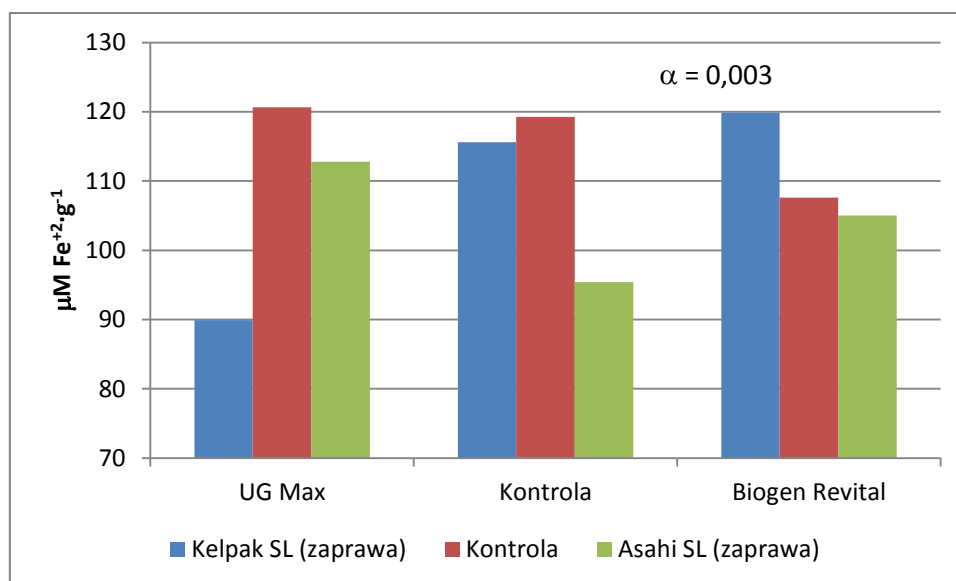
Kombinacja UG Max z Polyversum WP wpłynęła w znacznym stopniu na akumulację polifenoli w liściach gryki. (Rysunek 140). Podanie nalistne preparatu Asahi SL w kombinacji z preparatem Kelpak SL zwiększało ilość składników o budowie fenolowej w liściach gryki w porównaniu do kontroli, podobne działanie wykazywała kombinacja podania nalistnego Asahi SL i UG Max (Rysunek 140 - Rysunek 142).

Tabela 29. Wpływ biostymulatorów i zapraw biologicznych na potencjał antyoksydacyjny (mierzony metodą FRAP po 4 i 60 minutach, metodą DPPH po 60 minutach) oraz całkowita zawartość związków polifenolowych w liściach gryki

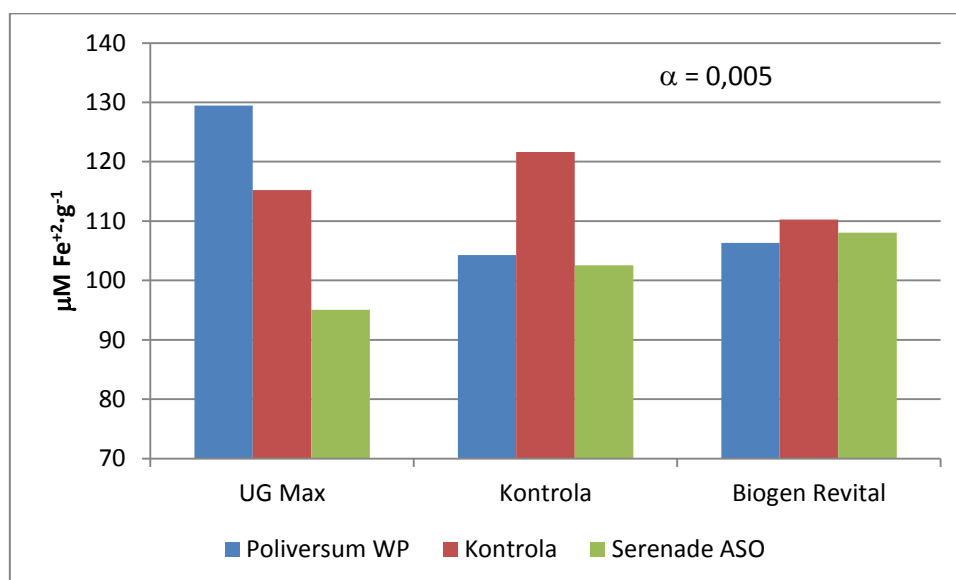
| Czynnik                                               | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|-------------------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                                       | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| FRAP 4 [ $\mu\text{M Fe}^{+2} \cdot \text{g}^{-1}$ ]  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                               | 112,0           | 116,5  | 99,9   | 0,002                        | 0,000        |
| Zaprawa biologiczna                                   | 108,8           | 116,9  | 102,2  | 0,728                        | 0,000        |
| Użyźniacz glebowy                                     | 114,2           | 111,9  | 109,2  | 0,000                        | 0,057        |
| Biostymulator (nalistnie)                             | 107,3           | 112,2  | 122,9  | 0,007                        | 0,039        |
| FRAP 60 [ $\mu\text{M Fe}^{+2} \cdot \text{g}^{-1}$ ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                               | 246,6           | 254,1  | 221,1  | 0,002                        | 0,000        |
| Zaprawa biologiczna                                   | 239,9           | 253,5  | 229,3  | 0,927                        | 0,000        |
| Użyźniacz glebowy                                     | 247,0           | 245,5  | 242,2  | 0,004                        | 0,083        |
| Biostymulator (nalistnie)                             | 237,0           | 245,8  | 264,6  | 0,023                        | 0,079        |
| TP [ $\mu\text{M GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ ]          |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                               | 125,5           | 131,8  | 119,9  | 0,047                        | 0,000        |
| Zaprawa biologiczna                                   | 124,8           | 132,7  | 118,4  | 0,025                        | 0,000        |
| Użyźniacz glebowy                                     | 132,9           | 126,4  | 126,1  | 0,020                        | 0,638        |
| Biostymulator (nalistnie)                             | 127,4           | 124,0  | 137,7  | 0,000                        | 0,093        |
| DPPH 60 [ $\mu\text{M TRX} \cdot \text{g}^{-1}$ ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                               | 95,01           | 89,40  | 74,87  | 0,013                        | 0,236        |
| Zaprawa biologiczna                                   | 90,65           | 93,43  | 69,14  | 0,009                        | 0,017        |
| Użyźniacz glebowy                                     | 84,97           | 84,94  | 96,06  | 0,161                        | 0,816        |
| Biostymulator (nalistnie)                             | 97,11           | 85,39  | 82,78  | 0,073                        | 0,930        |



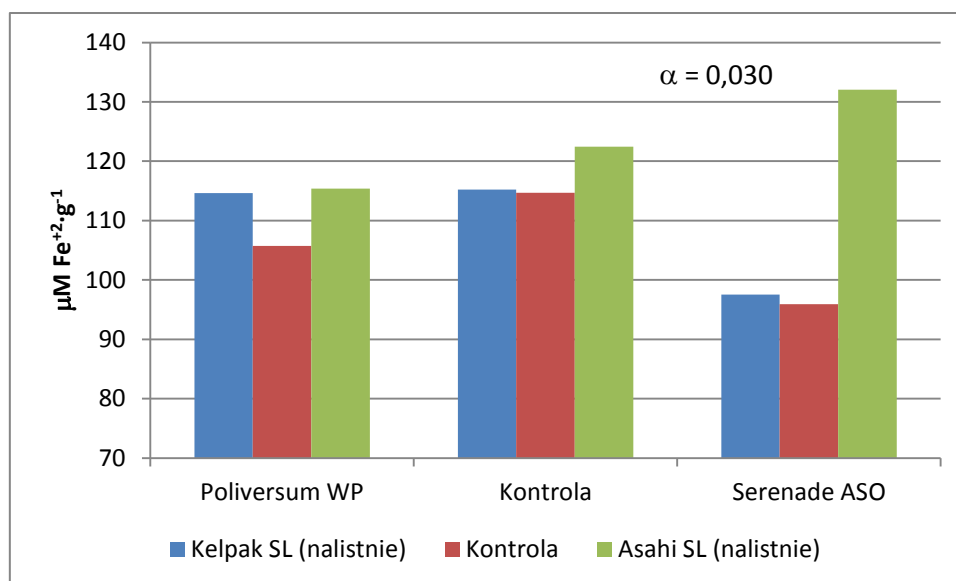
Rysunek 125. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 4 (po czterech minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i biostymulatorów (jako zapraw)



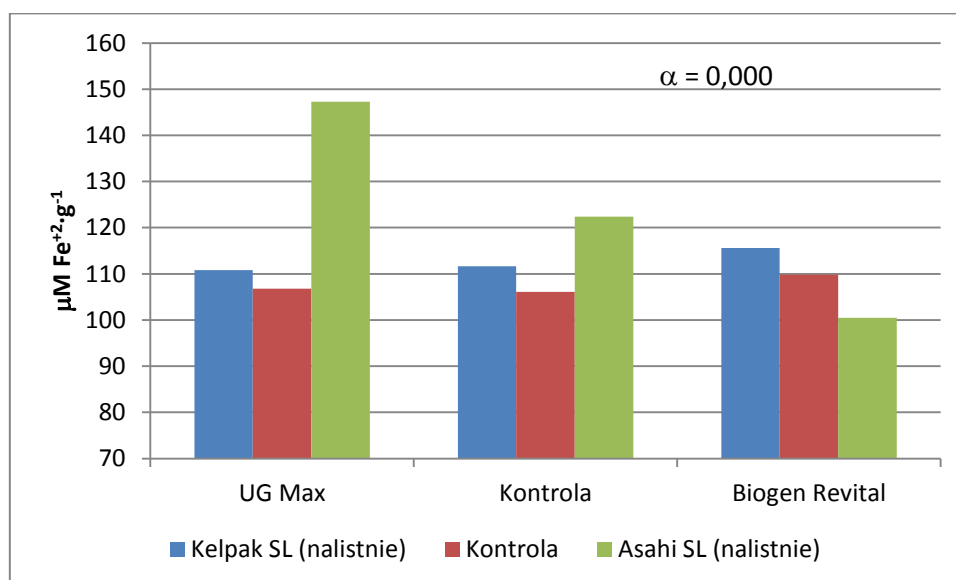
Rysunek 126. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 4 (po czterech minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (jako zapraw)



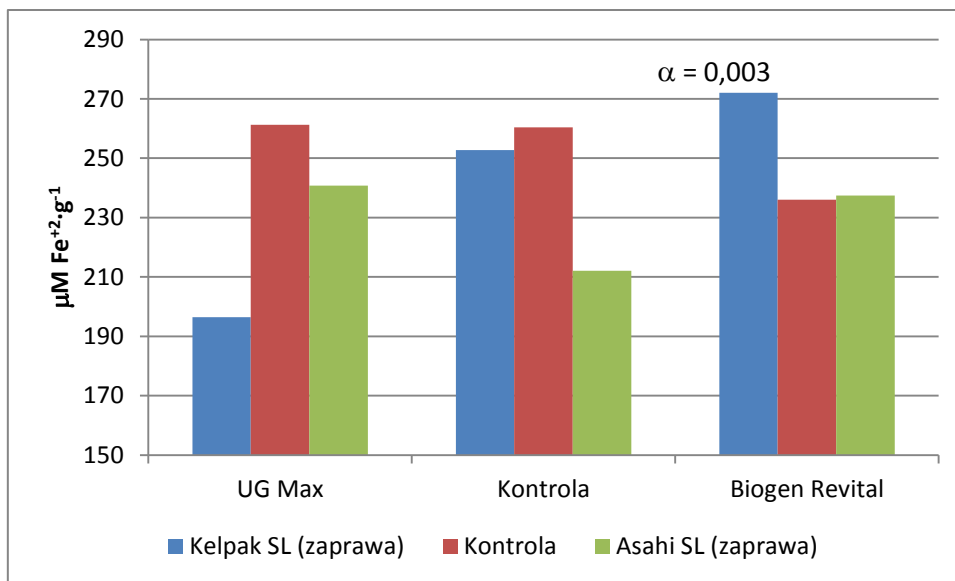
Rysunek 127. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 4 (po czterech minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i zapraw biologicznych



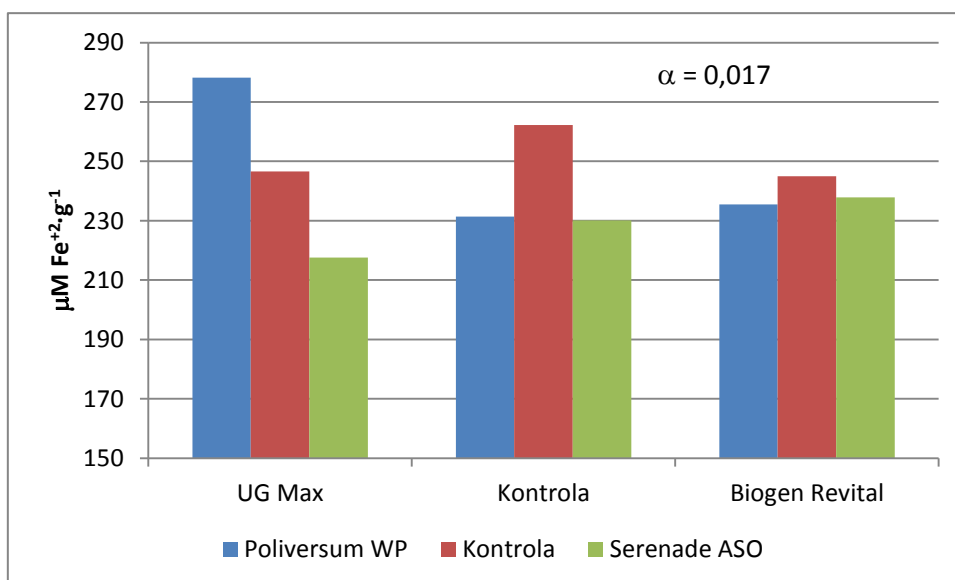
Rysunek 128. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 4 (po czterech minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i biostymulatorów (nalistnie)



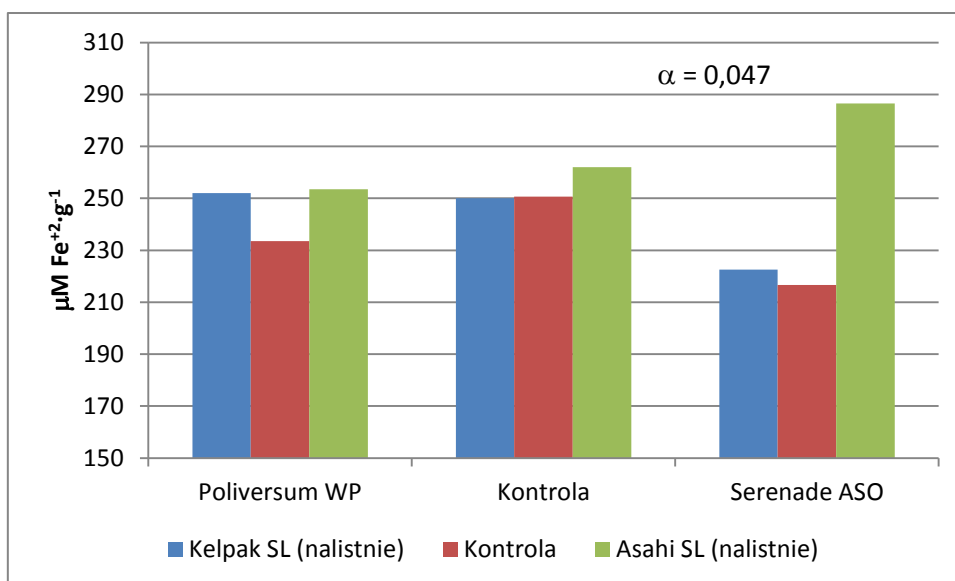
Rysunek 129. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 4 (po czterech minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (nalistnie)



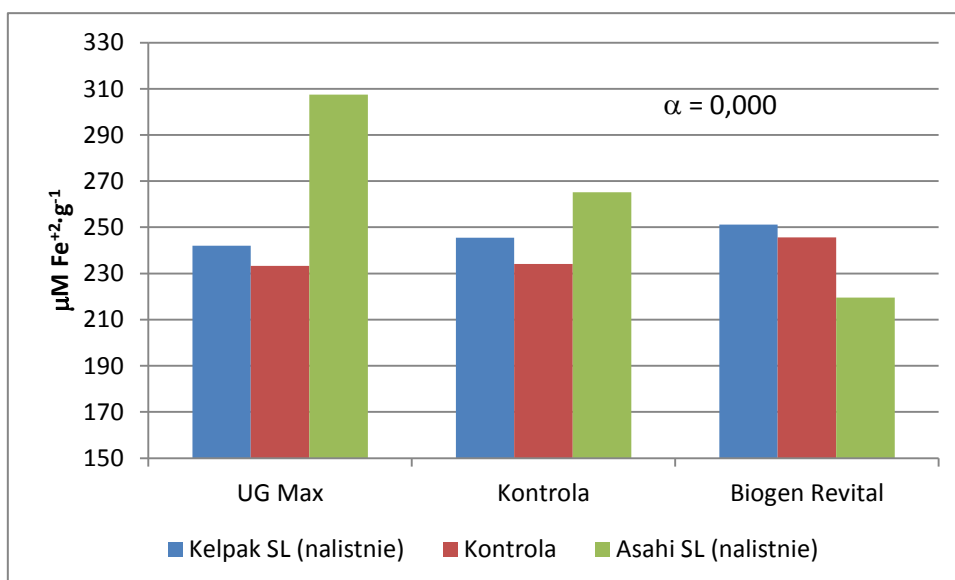
Rysunek 130. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 60 (po sześćdziesięciu minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (jako zapraw)



Rysunek 131. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 60 (po sześćdziesięciu minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i zapraw biologicznych

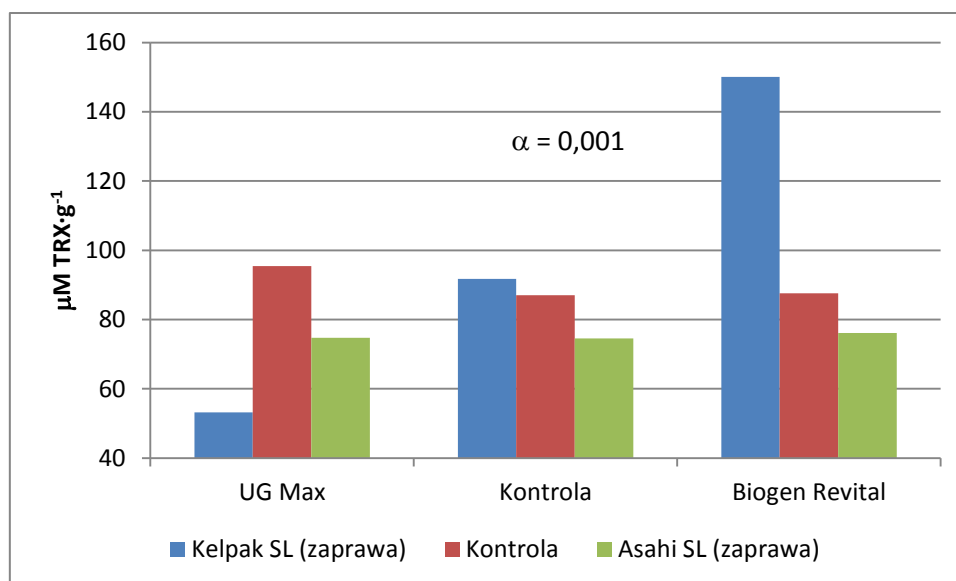


Rysunek 132. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 60 (po sześćdziesięciu minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i biostymulatorów (nalistnie)

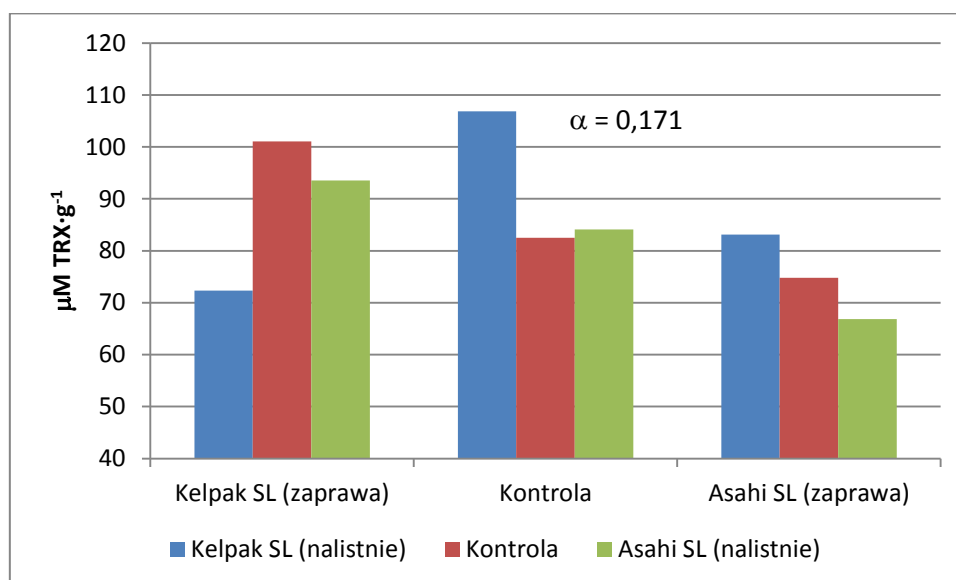


Rysunek 133. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 60 (po sześćdziesięciu minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (nalistnie)

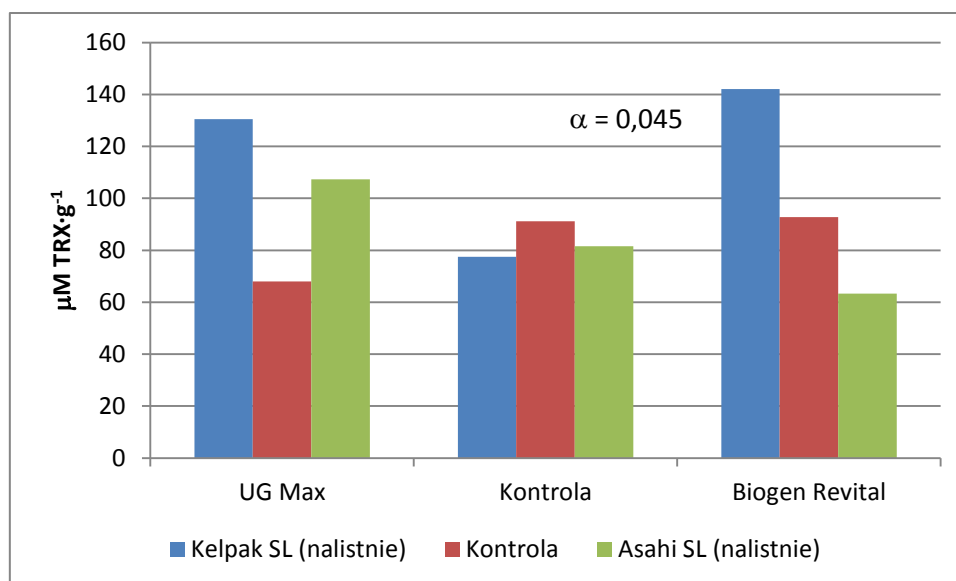




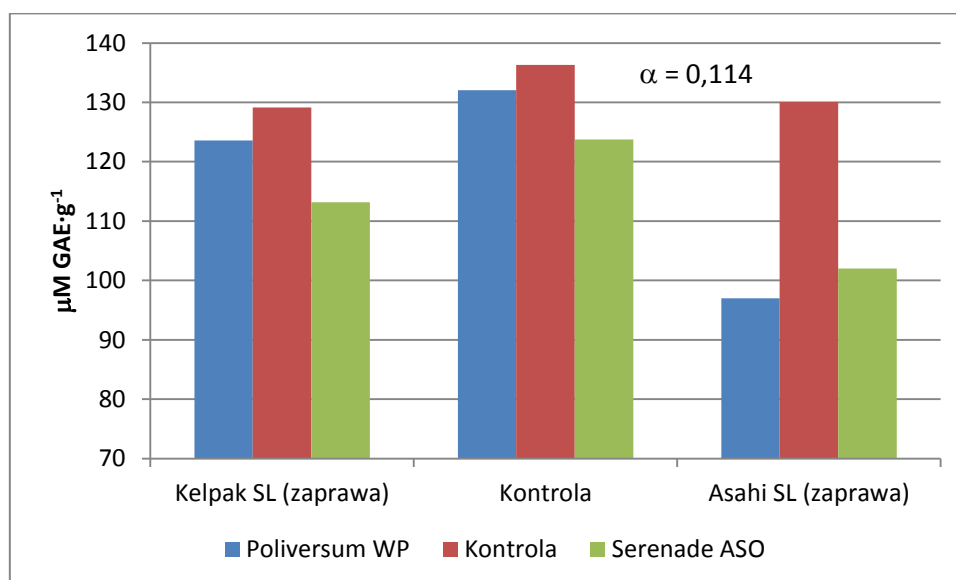
Rysunek 134. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą DPPH (po sześćdziesięciu minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (jako zapraw)



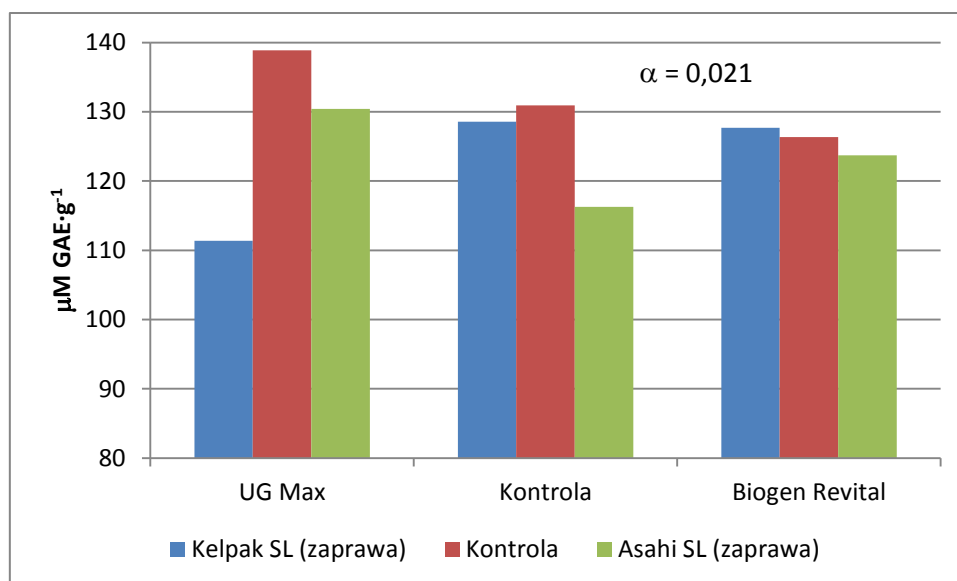
Rysunek 135. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą DPPH (po sześćdziesięciu minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów (jako zapraw i nalistnie)



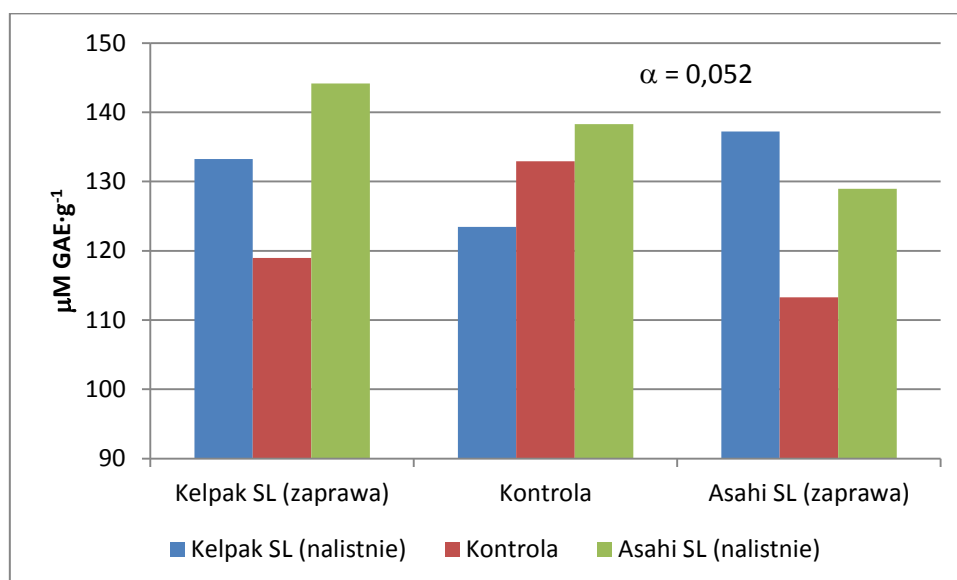
Rysunek 136. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą DPPH (po sześćdziesięciu minutach) liści gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (nalistnie)



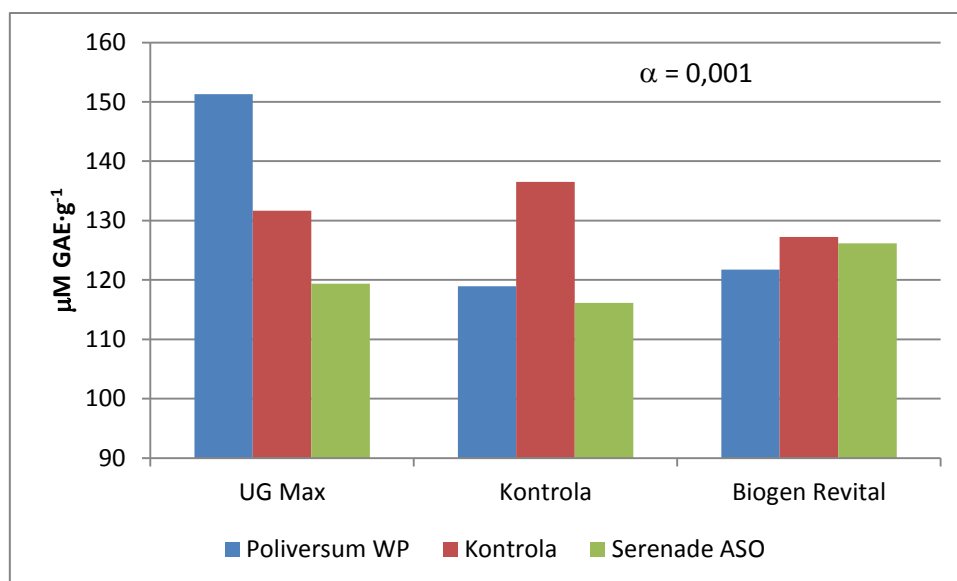
Rysunek 137. Całkowita zawartości związków fenolowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i biostymulatorów (jako zaprawa)



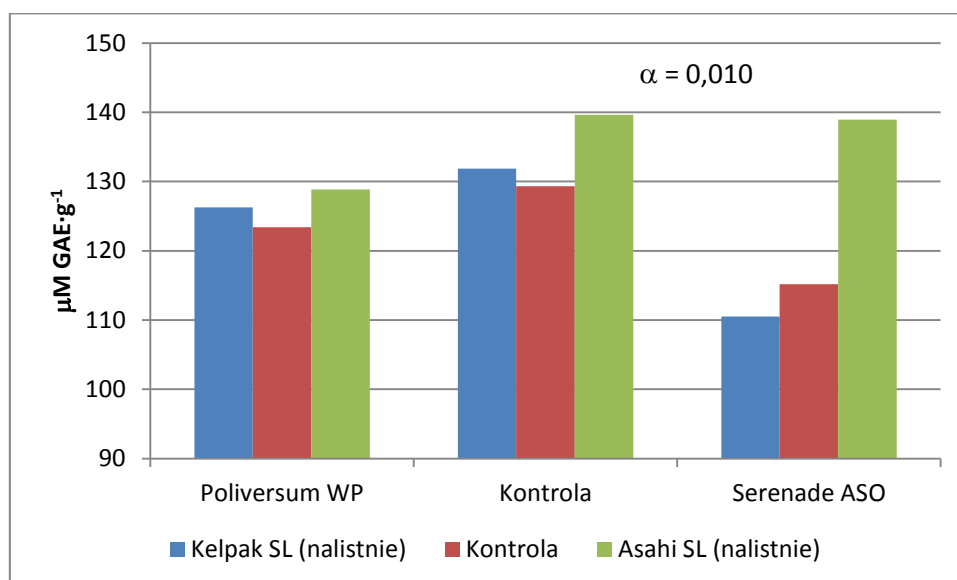
Rysunek 138. Całkowita zawartości związków fenolowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (jako zaprawa)



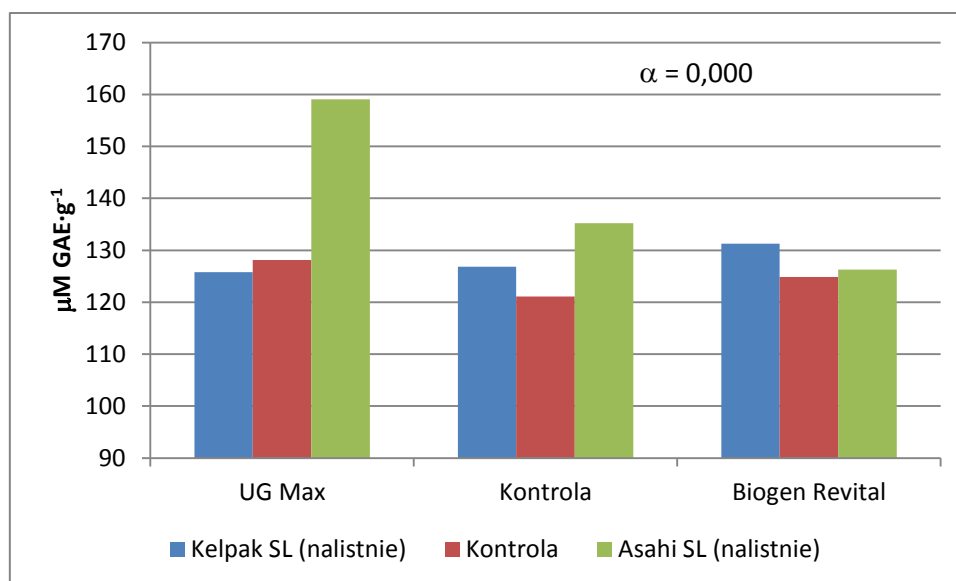
Rysunek 139. Całkowita zawartości związków fenolowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów (jako zaprawa i nalistnie)



Rysunek 140. Całkowita zawartości związków fenolowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby



Rysunek 141. Całkowita zawartości związków fenolowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i biostymulatorów (nalistnie)



Rysunek 142. Całkowita zawartości związków fenolowych w liściach gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (nalistnie)

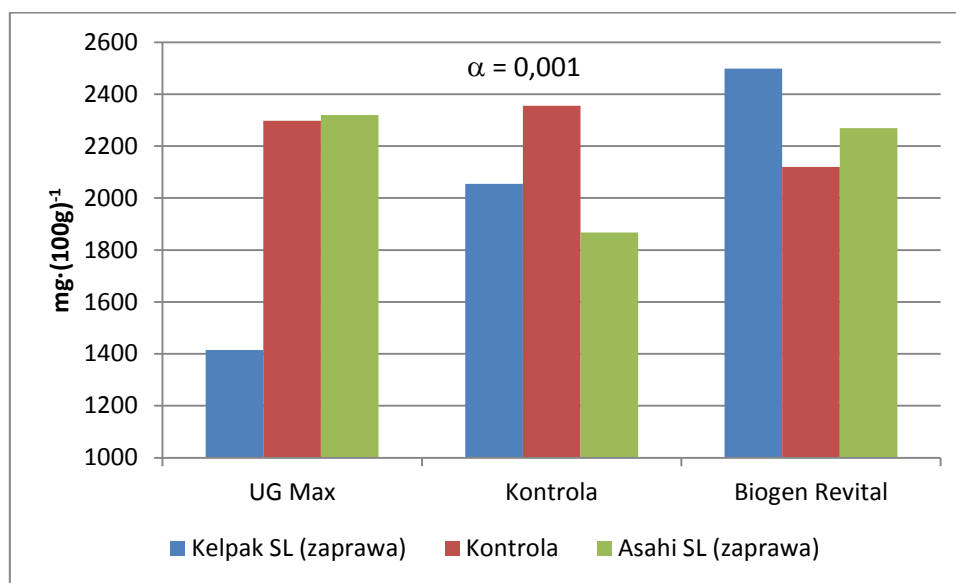
Zawartość rutozydu w liściach gryki stwierdzona w roku 2017 była znacząco większa od stwierdzonej w roku poprzednim o około  $500 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ . Tylko czynnik jakim był użyźniacz gleby nie wykazał wpływu na zawartość tego związku w liściach gryki. Istotność efektów kwadratowych dla czynników takich jak biostymulator stosowany w formie zaprawy i zaprawa biologiczna jednoznacznie dowodzi negatywnego wpływu tych preparatów biologicznych na zawartość rutozydu w liściach gryki. Zastosowanie preparatów Kelpak SL, Asahi SL, Polyversum WP czy też Serenade ASO skutkuje znaczącym spadkiem zawartości rutozydu w liściach (o około  $200 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ). Natomiast biostymulatory stosowane nalistnie wydają się zwiększać zawartość rutozydu w liściach, a szczególnie preparat Asahi SL (Tabela 30).

Tabela 30. Zawartość rutozydu [ $\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ] w liściach gryki w zależności od badanych czynników

| Czynnik                   | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                           | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Biostymulator (zaprawa)   | 2022            | 2277   | 2009   | 0,888                        | 0,000        |
| Zaprawa biologiczna       | 2078            | 2254   | 2012   | 0,450                        | 0,000        |
| Użyźniacz glebowy         | 2155            | 2145   | 2208   | 0,545                        | 0,237        |
| Biostymulator (nalistnie) | 2148            | 2085   | 2364   | 0,018                        | 0,610        |

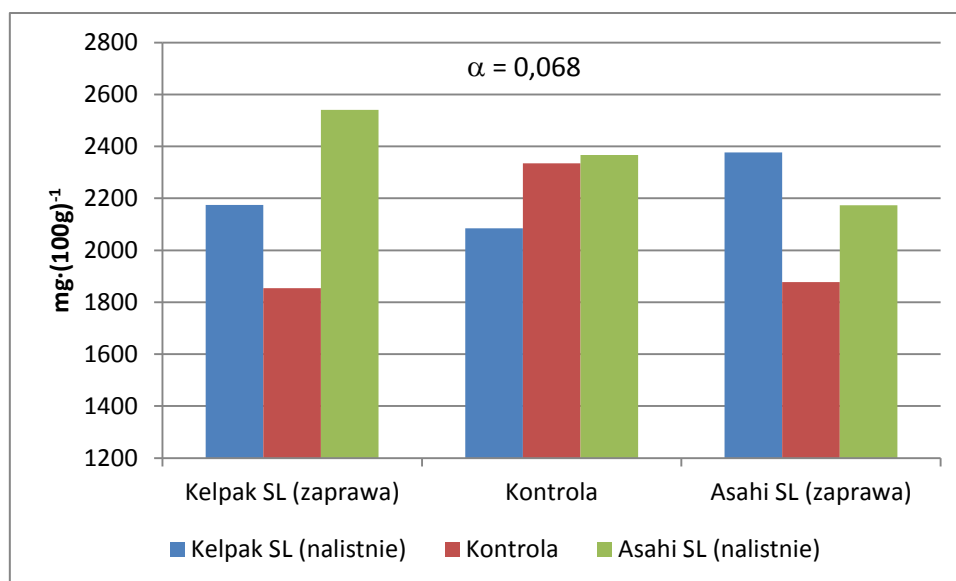
Zawartość rutozydu w liściach była też modyfikowana przez współdziałanie użyźniaczy gleby i biostymulatorów stosowanych jako zaprawy. Zaprawienie nasion preparatem Kelpak SL zawierającym wyciąg z alg *Ecklonia maxima*, a następnie ich wysiew na obiekcie na którym zastosowano użyźniacz gleby UG Max spowodowało bardzo znaczne

zmniejszenie zawartości rutozydu w liściach gryki. W tych warunkach (UG max jako użyźniacz) zastosowanie jako zaprawy preparatu Asahi SL nie modyfikowało zawartości analizowanego flawonoidu. W warunkach wzrostu bez użyźniacza gleby zaprawienie nasion skutkowało również zmniejszeniem zawartości rutozydu w liściach. Natomiast obecność użyźniacza gleby Biogen Revital wykazywała synergizm działania z biostymulatorami stosowanymi jako zaprawy (Rysunek 143).



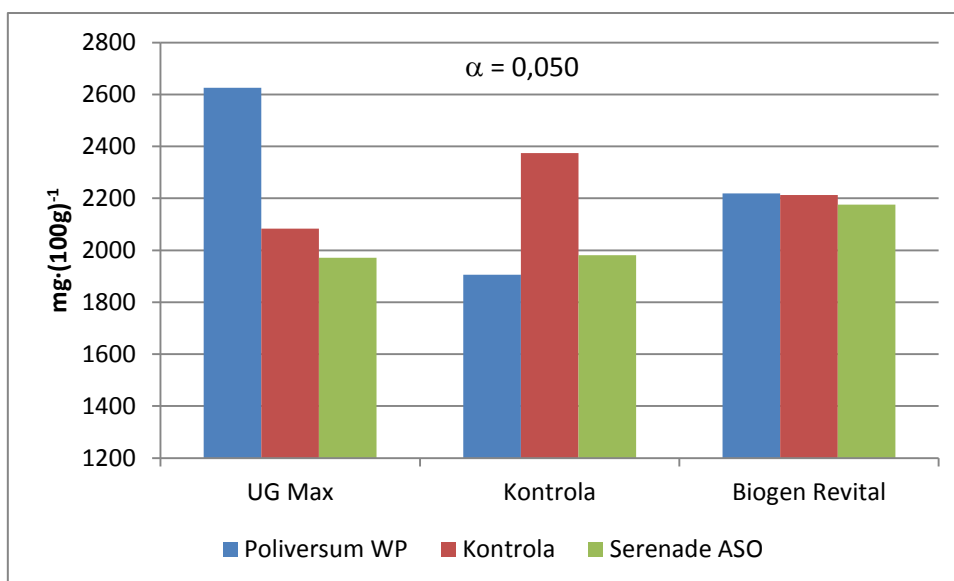
Rysunek 143. Kształtowanie się zawartości rutozydu w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Zawartość rutozydu w liściach zależała również od interakcji sposobów stosowania biostymulatorów. Po zaprawieniu nasion biostymulatorami, zarówno preparatem Kelpak SL jak i Asahi SL, ich ponowne zastosowanie w postaci oprysku nalistnego skutkowało wzrostem zawartości rutozydu, w odniesieniu do zawartości stwierdzonych w liściach pochodzących z odpowiednich obiektów kontrolnych. W przypadku wysiewu nasion niezaprawionych oprysk preparatem Kelpak SL nieznacznie zmniejsza, a preparatem Asahi SL nieznacznie zwiększa zawartość rutozydu w liściach gryki (Rysunek 144).



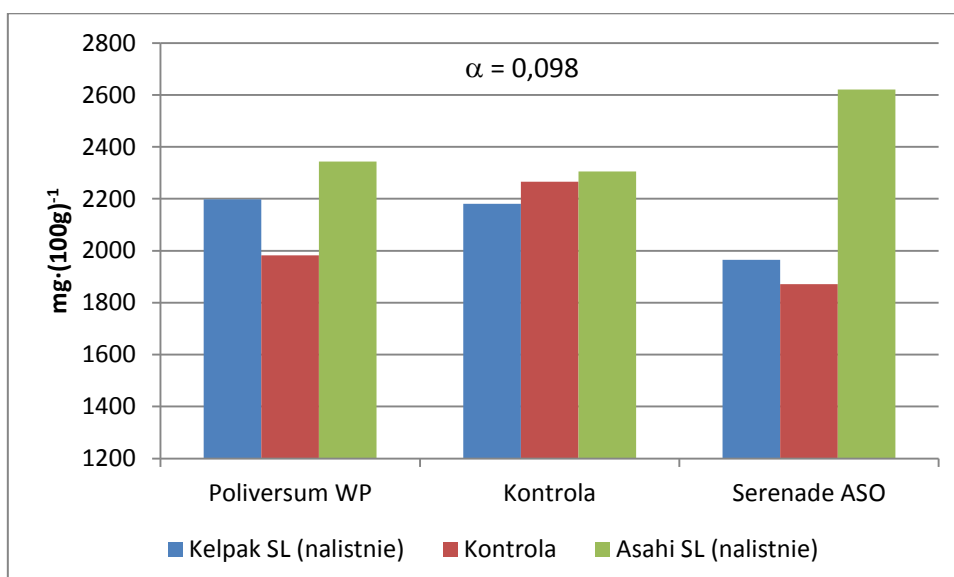
Rysunek 144. Kształtowanie się zawartości rutozydu w liściach gryki w zależności od sposobów stosowania biostymulatorów

Kolejną interakcją statystycznie modyfikującą zawartość rutozydu w liściach gryki jest interakcja użyźniaczy gleby z zaprawami biologicznymi. Na obiektach, na których zastosowano użyźniacz Biogen Revital liście roślin wyrosłych z nasion zaprawionych biostymulatorami (Kelpak SL i Asahi SL) nie różniły się zawartością tego związku. Na obiektach, na których nie stosowano użyźniaczy gleby zawartość rutozydu w liściach roślin wyrosłych z nasion zaprawionych biostymulatorami była znacząco mniejsza. Natomiast rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych oosporami grzyba *Pythium oligandrum* w obecności użyźniacza UG Max zawierały wyraźnie więcej rutozydu w liściach (Rysunek 145).



Rysunek 145. Kształtowanie się zawartości rutozydu w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

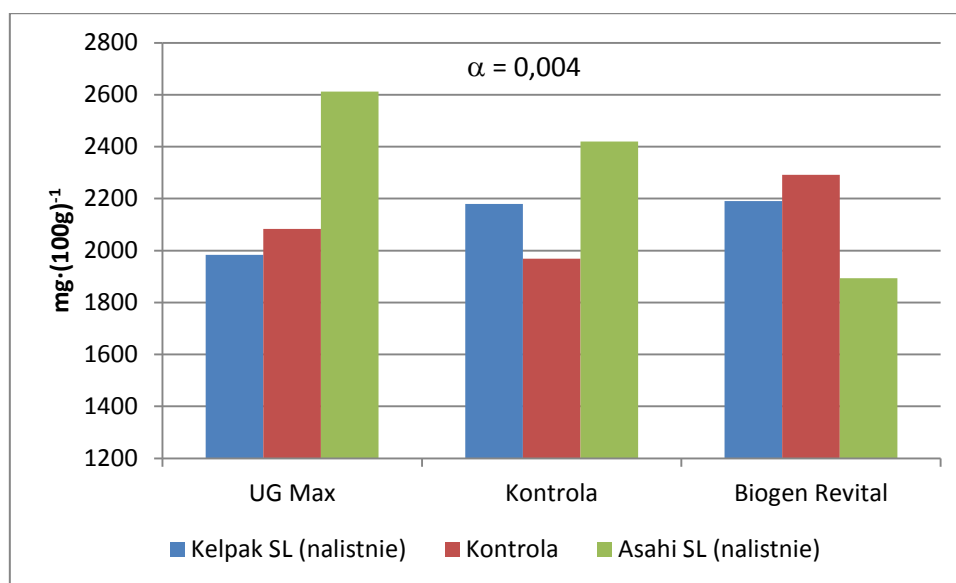
Bliska statystycznemu wpływowi na zawartość rutozydu w liściach była interakcja czynników zaprawa biologiczna x biostymulator stosowany nalistnie. Obserwacje potwierdzają synergizm w kształtowaniu przez w/w czynniki zawartości rutozydu w liściach gryki. Rośliny wyrosłe z nasion niezaprawionych nie reagowały zmianą zawartości rutozydu w liściach po zastosowaniu nalistnie biostymulatorów (Rysunek 146).



Rysunek 146. Kształtowanie się zawartości rutozydu w liściach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i biostymulatorów (nalistnie)

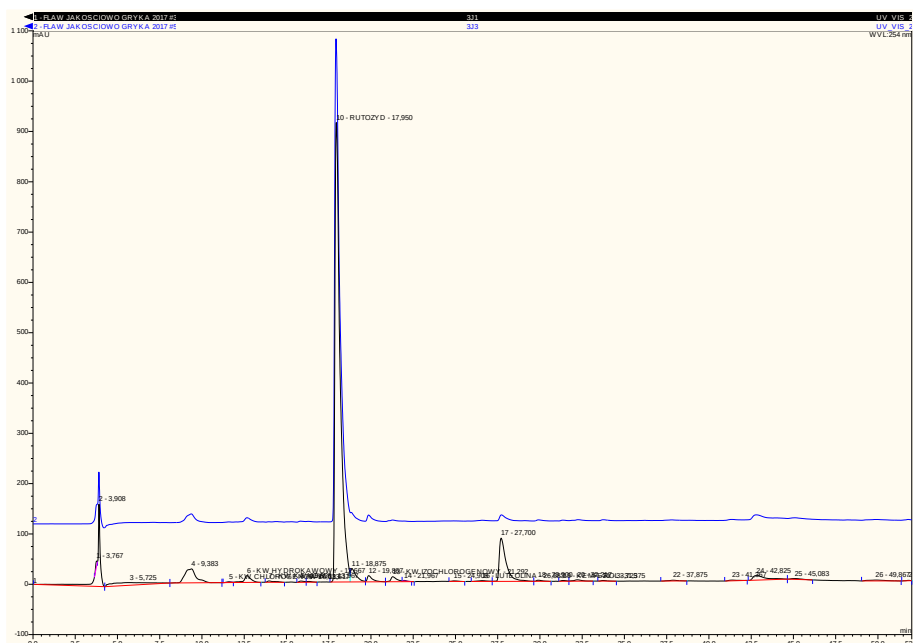


Ostatnią interakcją statystycznie modyfikującą zawartość rutozydu w liściach jest interakcja czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie. Obserwacje wskazują na antagonizm niektórych preparatów, bowiem zawartość rutozydu w liściach zmniejsza się gdy rośliny rosnące w obecności użyźniacza Biogen Revital zostaną opryskane preparatem Asahi SL. Preparat ten (Asahi SL) zastosowany na obiekcie z użyźniaczem UG Max lub kontrolnym (brak użyźniacza) powoduje wyraźny wzrost zawartości badanego flawonoidu w liściach gryki (Rysunek 147).

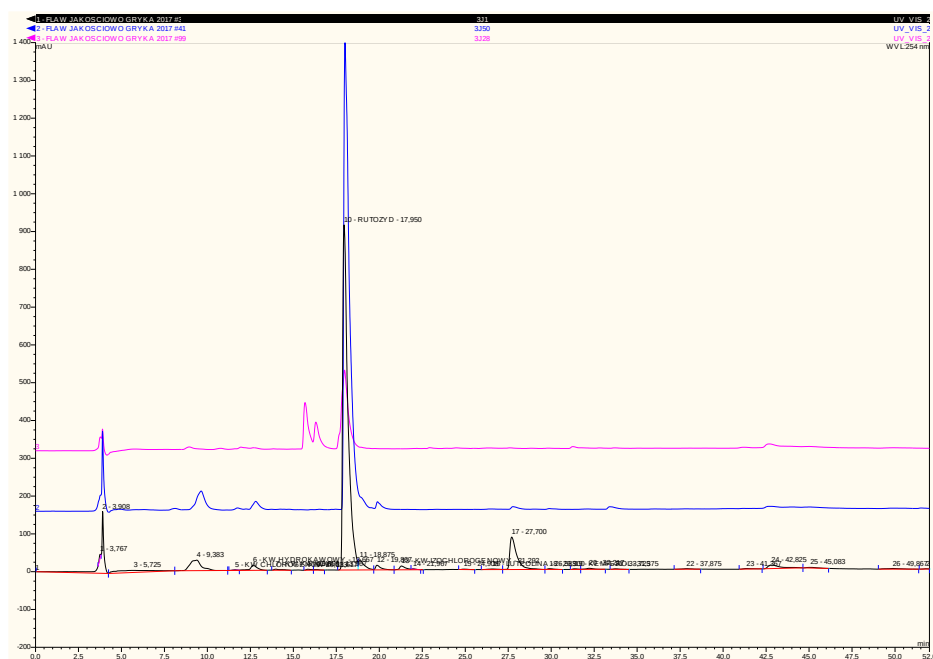


Rysunek 147. Kształtowanie się zawartości rutozydu w liściach gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (nalistnie)

Analiza jakościowa wykazała obecność rutozydu jako dominującego związku we wszystkich badanych próbkach. Ponadto, w próbkach z liści gryki odnotowano obecność śladowych ilości kwasu hydrokawowego, chlorogenowego, izochlorogenowego oraz kemferolu. Na chromatografach zaobserwowano również obecność dwóch wysokich pików, o czasach retencji około 15 i 16 min., jednak nie udało się określić ich tożsamości przy pomocy dostępnych substancji wzorcowych (Rysunek 148, Rysunek 149).



Rysunek 148. Porównawcza analiza jakościowa chromatogramów HPLC wyciągów z liści gryki pochodzących z obiektów na których stosowano preparaty Polyversum WP (czarny) i Serenade ASO (niebieski)



Rysunek 149. Porównawcza analiza jakościowa chromatogramów HPLC wyciągów z liści (czarny), orzeszków (niebieski) i kielków (czerwony) gryki

Spośród analizowanych czynników eksperymentalnych wpływem na zawartość kwasu organicznych w liściach gryki wykazywały się trzy, a mianowicie zaprawa biologiczna (tendencja statystyczna), użyźniacz gleby i biostymulator stosowany nalistnie. Zastosowanie

użyźniacza glebowego Biogen Revital zwiększyło zawartość kwasu cytrynowego w liściach gryki w porównaniu do stwierdzonej po zastosowaniu preparatu UG Max o  $1,17 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Bliski statystycznej istotności efekt kwadratowy ( $\alpha=0,083$ ) potwierdza wpływ zapraw biologicznych na zawartość kwasu cytrynowego w liściach gryki. Zaprawienie nasion oosporami *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) zwiększyło koncentrację tego kwasu organicznego w liściach w odniesieniu do stwierdzonej po zaprawieniu nasion szczepem *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) o  $0,35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Zawartość pozostałych kwasów organicznych nie podlegała istotnemu wpływowi analizowanych źródeł zmienności, ale można zauważyć pewne tendencje. W przypadku zaprawienia nasion biostymulatorami zaobserwowano wyraźną redukcję zawartości kwasu winowego w liściach gryki. Wartym uwagi jest również tendencja do redukcji zawartości kwasu winowego w liściach gryki wywołana nalistnym stosowaniem biostymulatorów. Interesującym spostrzeżeniem jest efekt stosowania biostymulatorów jako zapraw, bowiem powodowało to zmniejszenie koncentracji kwasu szczawiowego w liściach gryki. Natomiast istotny efekt kwadratowy potwierdza wpływ biostymulatorów stosowanych nalistnie na zawartość kwasu szczawiowego w liściach. Nalistna aplikacja nitrofenoli i fitohormonów zmniejszyła zawartość kwasu szczawiowego w liściach gryki w porównaniu do obiektu kontrolnego o  $0,12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Na granicy statystycznej istotności utrzymywał się wpływ zaprawy biologicznej na zawartość kwasu mlekowego w liściach gryki. Zaprawienie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* (Polyversum WP) zwiększyło koncentrację tego związku w liściach gryki w stosunku do zaprawiania nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis* (Serenade ASO) o  $3,86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  (Tabela 31).

Tabela 31. Zawartość kwasów organicznych w liściach gryki

| Czynnik                               | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                       | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Kwas winowy [mg·g <sup>-1</sup> ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 13,79           | 16,19  | 12,76  | 0,825                        | 0,298        |
| Zaprawa biologiczna                   | 15,36           | 13,91  | 16,89  | 0,729                        | 0,650        |
| Użyźniacz glebowy                     | 15,68           | 13,89  | 16,61  | 0,782                        | 0,676        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 11,98           | 16,24  | 14,44  | 0,541                        | 0,264        |
| Kwas cytrynowy [mg·g <sup>-1</sup> ]  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 0,744           | 1,427  | 1,266  | 0,354                        | 0,360        |
| Zaprawa biologiczna                   | 1,693           | 1,037  | 1,343  | 0,538                        | 0,083        |
| Użyźniacz glebowy                     | 0,797           | 1,206  | 1,969  | 0,028                        | 0,693        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 1,105           | 1,184  | 1,587  | 0,230                        | 0,321        |
| Kwas szczawiowy [mg·g <sup>-1</sup> ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 0,689           | 0,726  | 0,661  | 0,805                        | 0,247        |
| Zaprawa biologiczna                   | 0,721           | 0,697  | 0,701  | 0,801                        | 0,698        |
| Użyźniacz glebowy                     | 0,720           | 0,674  | 0,762  | 0,719                        | 0,883        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 0,651           | 0,758  | 0,621  | 0,844                        | 0,048        |
| Kwas mlekowy [mg·g <sup>-1</sup> ]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 17,34           | 17,18  | 15,92  | 0,507                        | 0,793        |
| Zaprawa biologiczna                   | 19,85           | 16,15  | 15,99  | 0,064                        | 0,312        |
| Użyźniacz glebowy                     | 17,87           | 16,73  | 16,53  | 0,584                        | 0,786        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 15,46           | 17,72  | 16,46  | 0,692                        | 0,340        |
| Kwas glukonowy [mg·g <sup>-1</sup> ]  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 4,814           | 5,238  | 4,032  | 0,784                        | 0,496        |
| Zaprawa biologiczna                   | 4,790           | 5,001  | 4,648  | 0,945                        | 0,708        |
| Użyźniacz glebowy                     | 4,102           | 4,685  | 6,126  | 0,468                        | 0,970        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 5,411           | 5,196  | 3,542  | 0,536                        | 0,527        |

### Zdrowotność i skład chemiczny orzeszków gryki

W analizie mikologicznej nasion gryki uzyskano 2434 kolonii grzybów (Tabela 32). Oznaczono 10 gatunków grzybów, które zaliczono do 6 rodzajów. Zastosowane warianty ochrony nie różnicowały pod względem jakościowym zbiorowiska grzybów zasiedlających nasiona gryki. Dominowały gatunki: *Alternaria alternata* (25,72%), *Botrytis cinerea* (22,80%) *Arthrrium phaeospermum* (16,8%), które łącznie stanowiły 65,32% populacji wyizolowanych grzybów. Pozostałe grzyby patogeniczne należące do rodzaju *Fusarium*, będące w randze subdominantów (*F. oxysporum*, *F. equiseti*) oraz subrecedentów (*F. proliferatum*, *F. culmorum*, *F. incarnatum*) miały udział na poziomie 5,47%. Niezależnie od wariantu ochrony udział grzybów saprobiontycznych *Epicoccum nigrum* i *Penicillium citreonigrum* wynosił 29,17% (Rysunek 150).

W obrębie zastosowanych kombinacji stwierdzono zróżnicowanie w liczebności izolowanych grzybów w zakresie od 2,47% do 5,42% (Rysunek 151). Najmniej liczne zbiorowisko grzybów liczące zaledwie 60 (2,47%) izolatów uzyskano z nasion gryki

pochodzących z kombinacji X (Kelpak SL zap.+ Kelpak SL nalistnie) (Tabela 33). Natomiast nasiona z obiektów XIX (Kelpak SL zap. + UGmax) i XX (Asahi SL zap. + UGmax ) w największym stopniu były zasiedlone przez grzyby pleśniowe.

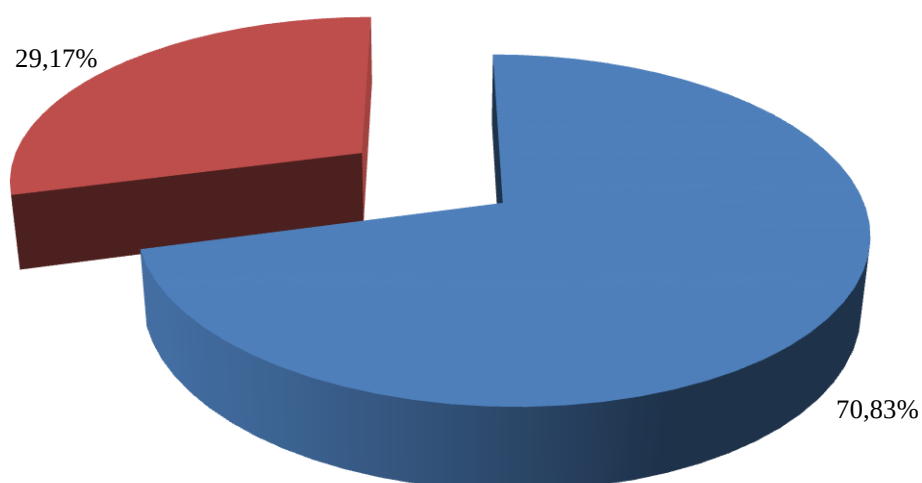
Zbiorowiska grzybów wyosobnione z partii nasion pochodzących z poszczególnych kombinacji były zróżnicowane pod względem jakościowym. Zmiany te dotyczyły głównie częstotliwości wyosobnień dominujących gatunków grzybów zarówno patogenicznych jak i saprobiontów (Tabela 32, Rysunek 150, Rysunek 152). Generalnie we wszystkich kombinacjach dominowały grzyby patogeniczne w zakresie od 58 – 84,69 %. Z partii nasion obiektu V (UGmax + Kelpak SL nalistnie), XVII (Serenade ASO zap. + Biogen Revital Max Pro), XXIII (Polyversum WP zap. + Kelpak SL nalistnie) oraz kontroli II bloku pochodziło najwięcej (39,81 – 41,56%) grzybów saprobiontycznych reprezentowanych głównie przez *Epicoccum nigrum*.

Warto zaznaczyć, że w nasionach z kombinacji VI (Biogen Revital Max Pro + Kelpak SL nalistnie) i X (Kelpak SL zap. + Kelpak SL nalistnie) w ogóle nie wystąpiły grzyby *Fusarium* spp.

Tabela 32. Grzyby wyizolowane z orzeszków gryki

| Gatunek grzyba                                  | Liczba izolatów | Częstotliwość wyosobnień C [%] | Przynależność do grup frekwencyjnych |
|-------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Grzyby patogeniczne i potencjalnie patogeniczne |                 |                                |                                      |
| <i>Alternaria alternata</i>                     | 626             | 25,72                          | Eudominanci (65,32%)                 |
| <i>Botrytis cinerea</i>                         | 555             | 22,80                          |                                      |
| <i>Arthrinium phaeospermum</i>                  | 410             | 16,8                           |                                      |
| <i>Fusarium oxysporum</i>                       | 44              | 1,81                           | Subdominanci (3,58%)                 |
| <i>Fusarium equiseti</i>                        | 43              | 1,77                           |                                      |
| <i>Fusarium proliferatum</i>                    | 23              | 0,94                           | Subrecedenci (1,86%)                 |
| <i>Fusarium culmorum</i>                        | 16              | 0,66                           |                                      |
| <i>Fusarium incarnatum</i>                      | 7               | 0,29                           |                                      |
| Grzyby saprobiontyczne                          |                 |                                |                                      |
| <i>Epicoccum nigrum</i>                         | 696             | 28,59                          | Eudominat (28.59%)                   |
| <i>Penicillium citreonigrum</i>                 | 14              | 0,58                           | Subrecedent (0,58%)                  |
| Łącznie                                         | 2434            |                                |                                      |

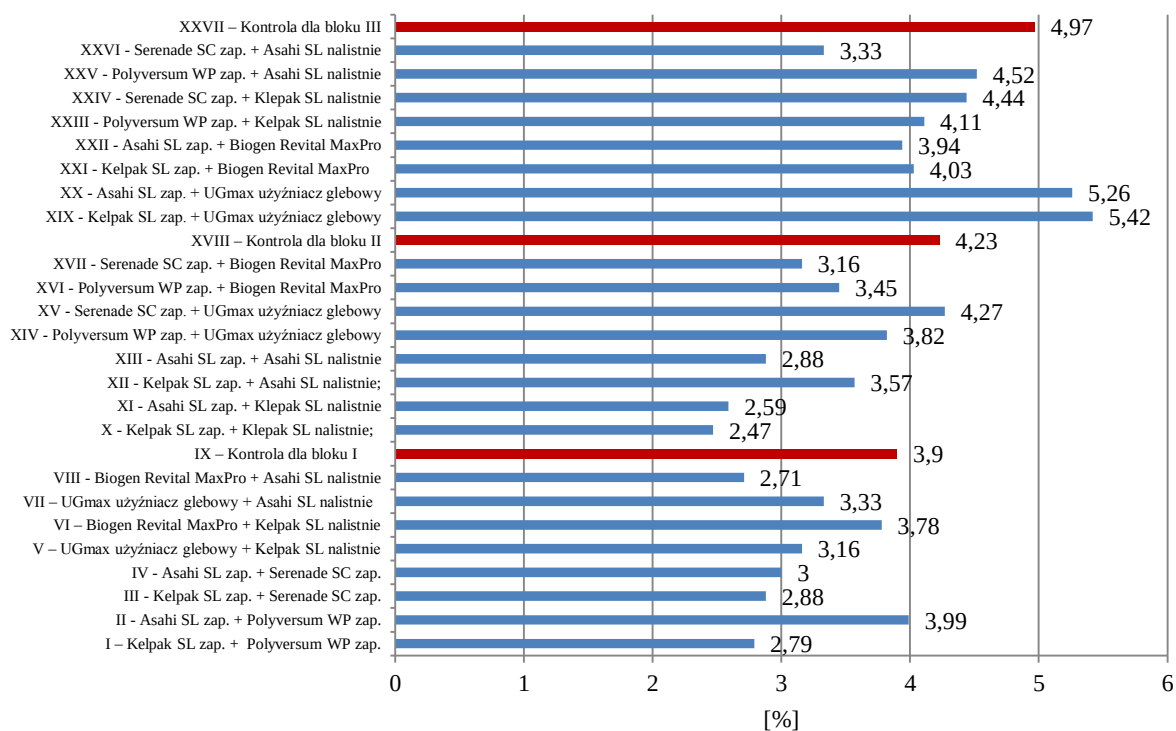
■ Grzyby patogeniczne i potencjalnie patogeniczne ■ Grzyby saprobiontyczne



Rysunek 150. Struktura zbiorowiska grzybów wyizolowanych z nasion gryki

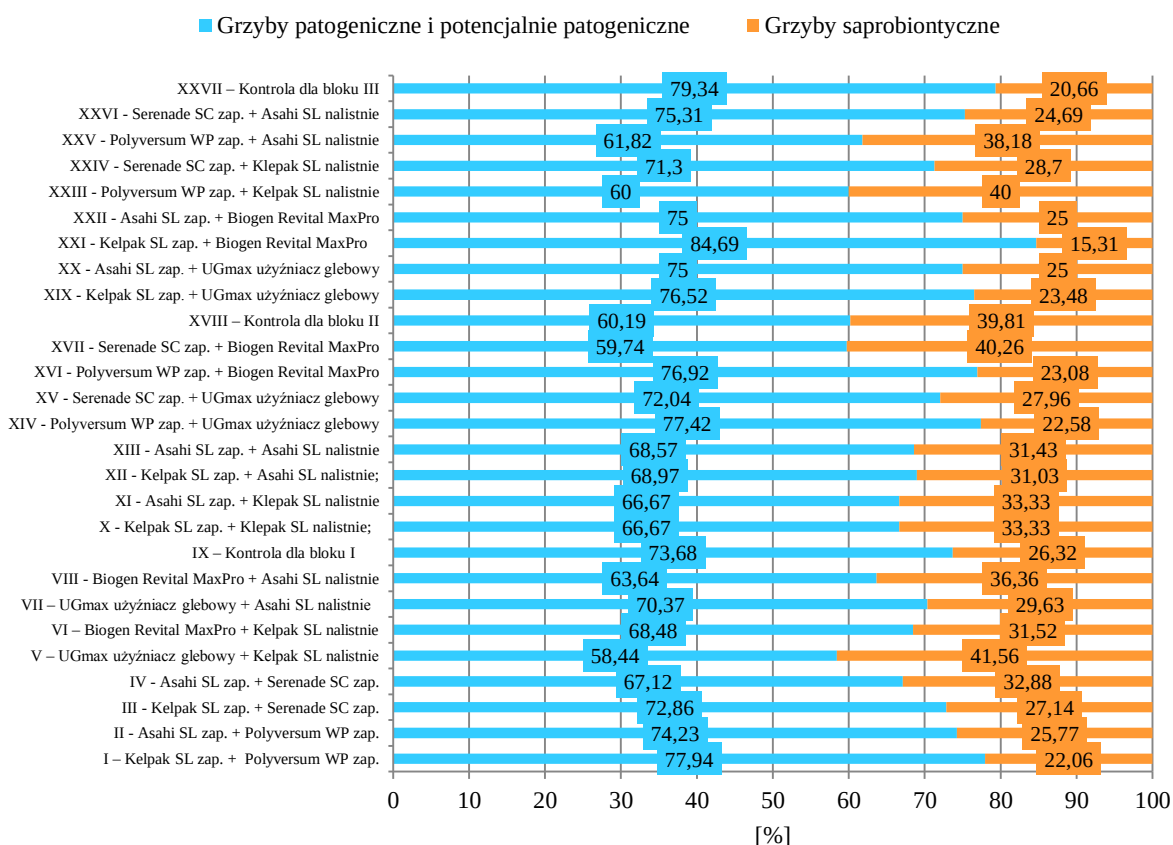
Tabela 33. Analiza ilościowa i jakościowa grzybów zasiedlających orzeszki gryki w zależności od zastosowanych zabiegów ochronnych

| Gatunek grzyba                  | Kombinacje |    |     |    |    |    |     |      |    |    |    |     |      |     |     |     |      |       |     |     |     |      |       |      |     |      |       |
|---------------------------------|------------|----|-----|----|----|----|-----|------|----|----|----|-----|------|-----|-----|-----|------|-------|-----|-----|-----|------|-------|------|-----|------|-------|
|                                 | I          | II | III | IV | V  | VI | VII | VIII | IX | X  | XI | XII | XIII | XIV | XV  | XVI | XVII | XVIII | XIX | XX  | XXI | XXII | XXIII | XXIV | XXV | XXVI | XXVII |
| <i>Alternaria alternata</i>     | 24         | 23 | 17  | 20 | 23 | 28 | 18  | 19   | 25 | 16 | 8  | 34  | 19   | 15  | 16  | 27  | 25   | 30    | 26  | 30  | 35  | 25   | 19    | 27   | 31  | 21   | 25    |
| <i>Arthrinium phaeospermum</i>  | 16         | 14 | 12  | 11 | 10 | 15 | 22  | 9    | 8  | 14 | 16 | 3   | 11   | 12  | 17  | 13  | 10   | 12    | 19  | 24  | 25  | 25   | 22    | 12   | 19  | 17   | 22    |
| <i>Botrytis cinerea</i>         | 12         | 27 | 21  | 14 | 11 | 20 | 15  | 11   | 32 | 10 | 16 | 9   | 12   | 29  | 37  | 10  | 6    | 16    | 44  | 25  | 21  | 17   | 17    | 37   | 18  | 22   | 46    |
| <i>Epicoccum nigrum</i>         | 15         | 25 | 19  | 21 | 30 | 29 | 24  | 22   | 24 | 20 | 21 | 25  | 22   | 21  | 25  | 24  | 31   | 38    | 31  | 32  | 15  | 24   | 40    | 31   | 42  | 20   | 25    |
| <i>Fusarium culmorum</i>        |            |    |     | 3  |    |    | 1   |      |    |    |    | 4   |      |     |     |     |      |       |     | 7   |     | 1    |       |      |     |      |       |
| <i>Fusarium equiseti</i>        |            | 5  |     |    |    |    |     |      | 2  |    |    | 7   |      | 10  |     |     |      | 4     | 9   | 3   |     | 2    |       | 1    |     |      |       |
| <i>Fusarium incarnatum</i>      | 1          |    |     |    |    |    |     |      |    |    |    |     |      | 2   | 1   |     | 3    |       |     |     |     |      |       |      |     |      |       |
| <i>Fusarium oxysporum</i>       |            | 3  | 1   | 1  | 1  |    |     | 3    | 3  |    | 2  | 3   | 3    | 4   |     | 5   |      |       | 3   | 4   | 2   | 2    | 2     |      |     | 1    | 1     |
| <i>Fusarium proliferatum</i>    |            |    |     |    |    |    | 1   |      |    |    |    |     | 3    |     | 7   | 5   | 2    |       |     | 3   |     |      |       |      |     |      | 2     |
| <i>Penicillium citreonigrum</i> |            |    |     | 3  | 2  |    |     | 2    | 1  |    |    | 2   |      |     | 1   |     |      | 3     |     |     |     |      |       |      |     |      |       |
| Łącznie                         | 68         | 97 | 70  | 73 | 77 | 92 | 81  | 66   | 95 | 60 | 63 | 87  | 70   | 93  | 104 | 84  | 77   | 103   | 132 | 128 | 98  | 96   | 100   | 108  | 110 | 81   | 121   |



Rysunek 151. Wpływ zabiegów wykonywanych biopreparatami i biostymulatorami na liczebność grzybów izolowanych z orzeszków gryki w odniesieniu do ogółu wyosobnień





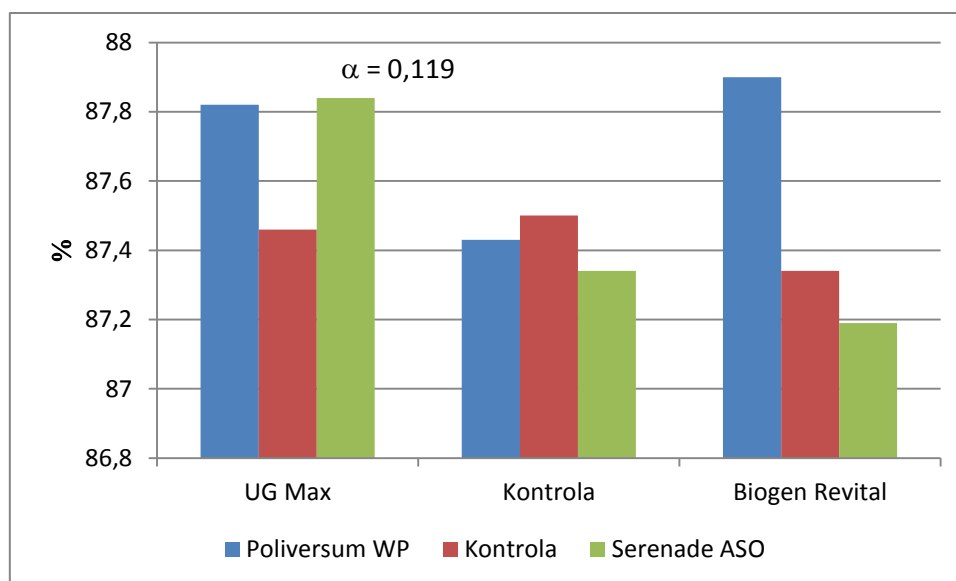
Rysunek 152. Struktura społeczności grzybów wyizolowanych z nasion gryki w zależności od zastosowanych biopreparatów i biostymulatorów

Badane czynniki nie wpłynęły znacząco na zawartość podstawowych składników pokarmowych w orzeszkach gryki. Jedynie zastosowanie użyźniaczy gleby, w sposób statystycznie istotny lub bardzo bliski istotności, zmodyfikowało skład chemiczny orzeszków gryki. Potwierdzają to efekty kwadratowe stwierdzone dla zawartości białka, bezazotowych wyciągów oraz włókna surowego. Zastosowanie któregośkolwiek z użyźniaczy powodowało wzrost zawartości białka oraz włókna surowego a także spadek zawartości włókna surowego w odniesieniu do zawartości tych składników w orzeszkach pochodzących z obiektu kontrolnego. Tendencjami statystycznymi, które zaobserwowano i wartymi zauważenia jest pozytywny wpływ (zwiększenie zawartości) zaprawiania nasion (zarówno biostymulatorami jak i zaprawami biologicznymi) na zawartość popiołu w orzeszkach (Tabela 34).

Tabela 34. Wpływ badanych czynników na skład podstawowy orzeszków gryki

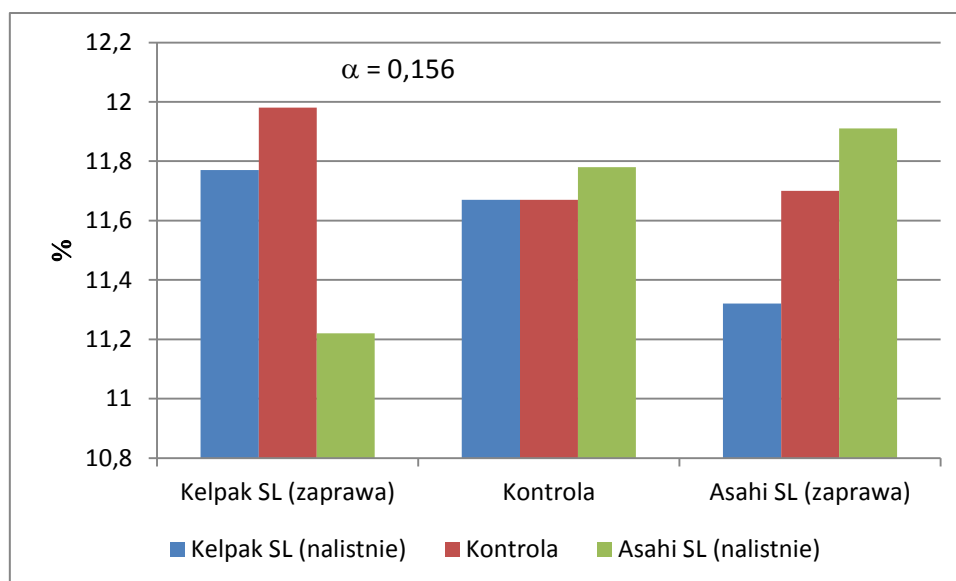
| Czynnik                   | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                           | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Sucha masa [%]            |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 87,47           | 87,46  | 87,47  | 0,980                        | 0,941        |
| Zaprawa biologiczna       | 87,57           | 87,45  | 87,40  | 0,196                        | 0,746        |
| Użyźniacz glebowy         | 87,58           | 87,44  | 87,40  | 0,192                        | 0,681        |
| Biostymulator (nalistnie) | 87,44           | 87,51  | 87,37  | 0,610                        | 0,387        |
| Popiół [%]                |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 1,990           | 1,960  | 1,983  | 0,786                        | 0,175        |
| Zaprawa biologiczna       | 1,978           | 1,961  | 1,993  | 0,565                        | 0,196        |
| Użyźniacz glebowy         | 1,958           | 1,983  | 1,957  | 0,972                        | 0,340        |
| Biostymulator (nalistnie) | 1,960           | 1,980  | 1,963  | 0,918                        | 0,535        |
| Białko [%]                |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 10,65           | 10,75  | 10,71  | 0,646                        | 0,978        |
| Zaprawa biologiczna       | 10,73           | 10,74  | 10,65  | 0,563                        | 0,847        |
| Użyźniacz glebowy         | 10,86           | 10,63  | 10,78  | 0,547                        | 0,057        |
| Biostymulator (nalistnie) | 10,75           | 10,69  | 10,76  | 0,961                        | 0,295        |
| Tłuszcz [%]               |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 2,283           | 2,278  | 2,289  | 0,727                        | 0,591        |
| Zaprawa biologiczna       | 2,291           | 2,280  | 2,274  | 0,324                        | 0,872        |
| Użyźniacz glebowy         | 2,285           | 2,284  | 2,271  | 0,350                        | 0,629        |
| Biostymulator (nalistnie) | 2,265           | 2,285  | 2,290  | 0,109                        | 0,555        |
| Włókno surowe [%]         |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 11,82           | 11,70  | 11,67  | 0,515                        | 0,755        |
| Zaprawa biologiczna       | 11,82           | 11,65  | 11,80  | 0,899                        | 0,800        |
| Użyźniacz glebowy         | 11,46           | 11,87  | 11,60  | 0,541                        | 0,036        |
| Biostymulator (nalistnie) | 11,63           | 11,76  | 11,71  | 0,732                        | 0,322        |
| Bezazotowe wyciągowe [%]  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 60,73           | 60,78  | 60,82  | 0,613                        | 0,838        |
| Zaprawa biologiczna       | 60,75           | 60,82  | 60,88  | 0,733                        | 0,650        |
| Użyźniacz glebowy         | 61,01           | 60,67  | 60,80  | 0,222                        | 0,091        |
| Biostymulator (nalistnie) | 60,84           | 60,80  | 60,66  | 0,297                        | 0,925        |

Zaobserwowano tendencję do wyraźnego wzrostu zawartości suchej masy w orzeszkach gryki po zastosowaniu użyźniacza gleby Biogen Revital i zarazem zaprawieniu nasion preparatem Polyversum WP. Natomiast w przypadku zastosowania użyźniacza gleby UG Max i którejkolwiek z zapraw wyraźnie zwiększało zawartość suchej masy w odniesieniu do kontroli. Natomiast niekorzystnie na zawartość suchej masy w orzeszkach gryki wpłynęło łączne zastosowanie użyźniacza gleby Revital Max Pro i zaprawy Serenade ASO (Rysunek 153).



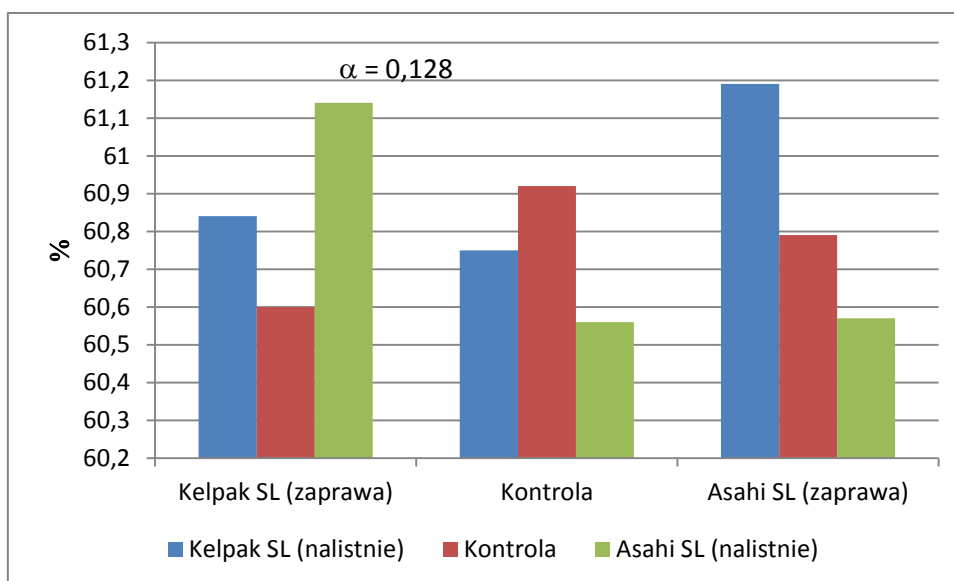
Rysunek 153. Kształtowanie się zawartości suchej masy w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Również mianem tendencji statystycznej można opisać wpływ interakcji sposobów stosowania biostymulatorów na zawartość włókna surowego w orzeszkach gryki. Analiza pozwala na stwierdzenie, że dwukrotne zastosowanie (zaprawa i oprysk) któregośkolwiek z biostymulatorów pozwala na zwiększenie zawartości włókna surowego w orzeszkach, ale ich wspólne zastosowanie (jeden jako zaprawa a drugi w postaci oprysku) zawsze prowadzi do wyraźnego zmniejszenia zawartości ocenianego składnika w orzeszkach gryki. Na obiektach niezaprawianych nanoszenie oprysku nalistnego biostymulatorów nie modyfikowało zawartości włókna w surowcu (Rysunek 154).



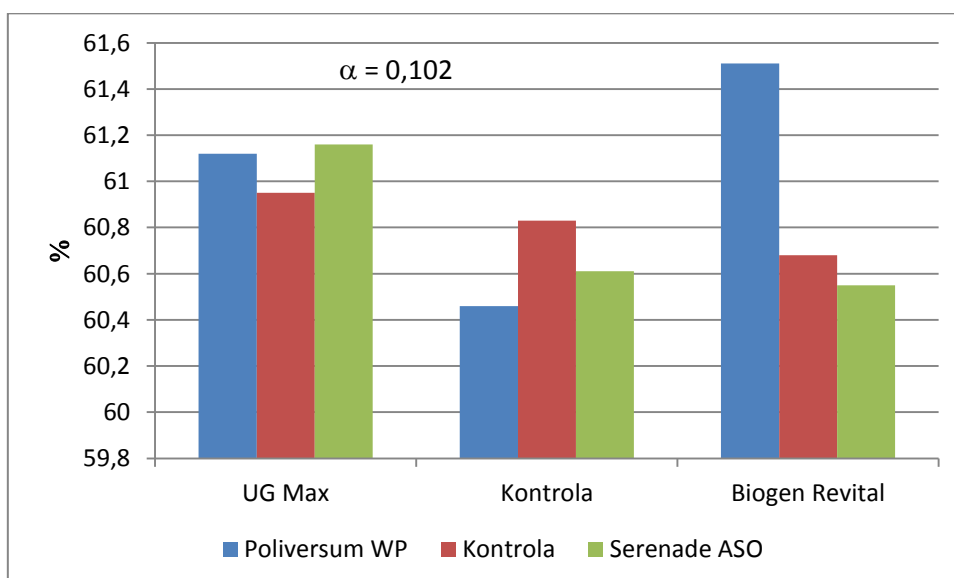
Rysunek 154. Kształtowanie się zawartości włókna surowego w orzeszkach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

Zawartość węglowodanów, podobnie jak zawartość włókna, była bliska statystycznego zróżnicowania przez współdziałanie różnych sposobów stosowania biostymulatorów. W tym jednak przypadku dwukrotne zastosowanie preparatu Asahi SL powodowało zmniejszenie zawartości węglowodanów w orzeszkach gryki. Natomiast zaprawienie orzeszków pochodnymi polifenoli i następnie oprysk wyciągiem z alg *Ecklonia maxima* powodowało wyraźny wzrost zawartości analizowanego składnika odżywczego. Podobną reakcję zaobserwowano po zastosowaniu tychże preparatów, ale po zamianie sposobu aplikacji (oprysku na zaprawę i zaprawy na oprysk) (Rysunek 155).



Rysunek 155. Kształtowanie się zawartości bezazotowych związków wyciągowych w orzeszkach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

Ostatnia z interakcji, której wpływ można opisać mianem tendencji to interakcja czynników użyźniacz gleby x zaprawa biologiczna. Zdecydowanie korzystnie na zawartość węglowodanów ogółem wpłynęło zaprawienie nasion gryki preparatem Polyversum WP i ich wysiew po zastosowaniu użyźniacza Biogen Revital. Natomiast zastosowanie użyźniacza UG Max w połączeniu z zaprawami biologicznymi pozwoliło na zgromadzenie tylko nieznacznie większej ilości węglowodanów ogółem niż na obiekcie tylko z zastosowanym użyźniaczem UG Max (Rysunek 156).



Rysunek 156. Kształtowanie się zawartości bezazotowych związków wyciągowych w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Spośród badanych czynników tylko użyźniacz gleby miał statystycznie istotny wpływ na zawartość włókna surowego i wybranych frakcji włókna pokarmowego w orzeszkach gryki (Tabela 35). Zastosowanie któregośkolwiek z użyźniaczy, czy to UG Max czy Revital Max Pro, powodowało zawsze statystycznie istotne zmniejszenie zawartości włókna surowego i jego frakcji NDF i ADF, co potwierdzają wykazane efekty kwadratowe dla tego źródła zmienności. Natomiast wpływ użyźniaczy gleby na pozostałe frakcje był również negatywny, ale są to wpływy, które możemy określić tylko mianem tendencji statystycznej co wynika z poziomu istotności efektów kwadratowych dla tych źródeł zmienności.

Tabela 35. Wpływ badanych czynników na zawartość włókna i jego frakcji w orzeszkach gryki

| Czynnik                   | Poziomy czynnika |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------|------------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                           | Niski            | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Włókno surowe [%]         |                  |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 11,82            | 11,70  | 11,67  | 0,515                        | 0,755        |
| Zaprawa biologiczna       | 11,82            | 11,65  | 11,80  | 0,899                        | 0,800        |
| Użyźniacz glebowy         | 11,46            | 11,87  | 11,60  | 0,541                        | 0,036        |
| Biostymulator (nalistnie) | 11,63            | 11,76  | 11,71  | 0,732                        | 0,322        |
| NDF [%]                   |                  |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 22,91            | 23,01  | 22,92  | 0,976                        | 0,267        |
| Zaprawa biologiczna       | 23,16            | 22,87  | 23,03  | 0,737                        | 0,882        |
| Użyźniacz glebowy         | 22,60            | 23,26  | 22,62  | 0,961                        | 0,010        |
| Biostymulator (nalistnie) | 22,83            | 22,98  | 23,08  | 0,495                        | 0,379        |
| ADF [%]                   |                  |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 16,30            | 16,29  | 16,15  | 0,626                        | 0,305        |
| Zaprawa biologiczna       | 16,42            | 16,16  | 16,37  | 0,872                        | 0,961        |
| Użyźniacz glebowy         | 15,99            | 16,47  | 16,02  | 0,915                        | 0,022        |
| Biostymulator (nalistnie) | 16,13            | 16,33  | 16,24  | 0,724                        | 0,203        |
| ADL [%]                   |                  |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 6,986            | 6,944  | 6,999  | 0,952                        | 0,828        |
| Zaprawa biologiczna       | 7,046            | 6,899  | 7,053  | 0,973                        | 0,769        |
| Użyźniacz glebowy         | 6,745            | 7,096  | 6,862  | 0,601                        | 0,064        |
| Biostymulator (nalistnie) | 6,889            | 7,006  | 6,941  | 0,816                        | 0,366        |
| HCEL [%]                  |                  |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 6,607            | 6,720  | 6,771  | 0,389                        | 0,609        |
| Zaprawa biologiczna       | 6,740            | 6,710  | 6,664  | 0,689                        | 0,707        |
| Użyźniacz glebowy         | 6,606            | 6,792  | 6,591  | 0,937                        | 0,150        |
| Biostymulator (nalistnie) | 6,700            | 6,652  | 6,847  | 0,441                        | 0,704        |
| CEL [%]                   |                  |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)   | 9,313            | 9,350  | 9,147  | 0,348                        | 0,124        |
| Zaprawa biologiczna       | 9,372            | 9,260  | 9,314  | 0,742                        | 0,775        |
| Użyźniacz glebowy         | 9,245            | 9,371  | 9,162  | 0,634                        | 0,069        |
| Biostymulator (nalistnie) | 9,238            | 9,320  | 9,297  | 0,738                        | 0,256        |

Spośród badanych czynników efekt statystycznie istotny wywarł tylko biostymulator Kelpak SL stosowany nalistnie, powodując zwiększenie zawartości wapnia w orzeszkach

gryki o  $0,063 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  w stosunku do zawartości stwierdzonej w orzeszkach po naniesieniu oprysku preparatem Asahi SL. Odm inną zależność, ale tylko na poziomie tendencji statystycznej, zaobserwowano dla sodu. W tym przypadku zaobserwowano wzrost jego koncentracji w orzeszkach po zastosowaniu następnie preparatu Asahi SL w porównaniu do koncentracji stwierdzonej po oprysku preparatem Kelpak SL (Tabela 36). Ponadto mianem tendencji można określić wpływ biostymulatorów jako zapraw na zawartość żelaza (efekt liniowy) oraz magnezu (efekt kwadratowy). Użyźniacze gleby powodowały również wzrost zawartości sodu w orzeszkach gryki (tendencja statystyczna).

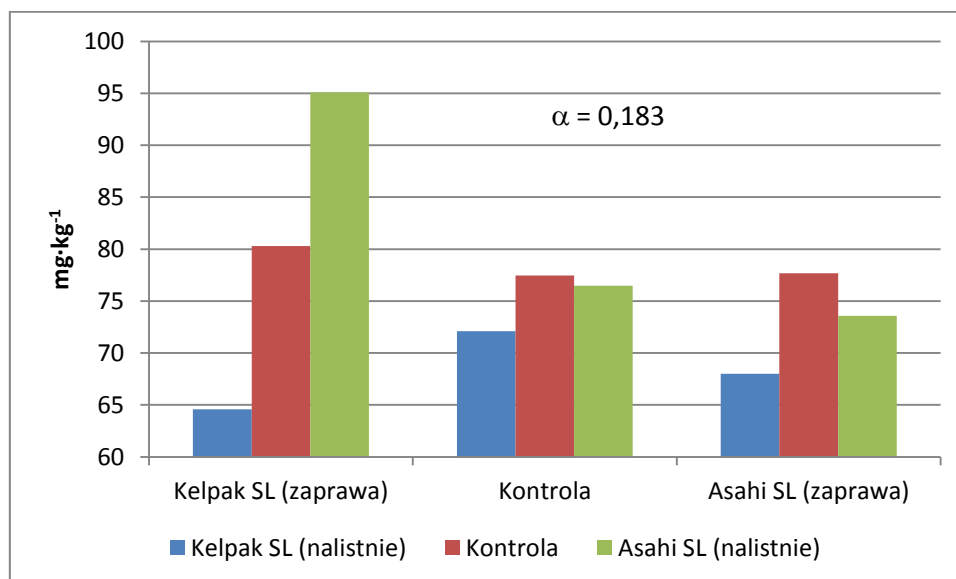
Tabela 36. Wpływ badanych czynników na zawartość składników mineralnych w orzeszkach gryki

| Czynnik                                       | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|-----------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                               | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Fosfor [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 6,408           | 6,505  | 6,332  | 0,563                        | 0,842        |
| Zaprawa biologiczna                           | 6,408           | 6,505  | 6,332  | 0,899                        | 0,951        |
| Użyźniacz glebowy                             | 6,381           | 6,361  | 6,718  | 0,574                        | 0,590        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 6,542           | 6,380  | 6,510  | 0,957                        | 0,645        |
| Potas [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 5,907           | 5,842  | 5,843  | 0,668                        | 0,963        |
| Zaprawa biologiczna                           | 6,003           | 5,824  | 5,79   | 0,168                        | 0,800        |
| Użyźniacz glebowy                             | 5,837           | 5,912  | 5,740  | 0,518                        | 0,235        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 5,774           | 5,885  | 8,871  | 0,522                        | 0,456        |
| Wapń [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]      |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 0,546           | 0,549  | 0,523  | 0,461                        | 0,464        |
| Zaprawa biologiczna                           | 0,543           | 0,543  | 0,543  | 0,997                        | 0,825        |
| Użyźniacz glebowy                             | 0,556           | 0,539  | 0,540  | 0,614                        | 0,915        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 0,571           | 0,545  | 0,508  | 0,050                        | 0,669        |
| Sód [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]       |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 0,080           | 0,076  | 0,075  | 0,373                        | 0,919        |
| Zaprawa biologiczna                           | 0,073           | 0,078  | 0,077  | 0,434                        | 0,259        |
| Użyźniacz glebowy                             | 0,076           | 0,077  | 0,077  | 0,950                        | 0,564        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 0,070           | 0,078  | 0,079  | 0,101                        | 0,209        |
| Magnez [ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 2,301           | 2,150  | 2,278  | 0,818                        | 0,162        |
| Zaprawa biologiczna                           | 2,162           | 2,239  | 2,193  | 0,748                        | 0,405        |
| Użyźniacz glebowy                             | 2,156           | 2,237  | 2,204  | 0,630                        | 0,435        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 2,223           | 2,232  | 2,150  | 0,459                        | 0,514        |
| Cynk [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 27,89           | 27,69  | 27,83  | 0,928                        | 0,821        |
| Zaprawa biologiczna                           | 26,94           | 28,19  | 27,52  | 0,389                        | 0,104        |
| Użyźniacz glebowy                             | 27,65           | 27,68  | 28,10  | 0,503                        | 0,791        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 28,35           | 27,54  | 27,74  | 0,370                        | 0,443        |
| Żelazo [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 37,21           | 31,24  | 31,92  | 0,099                        | 0,301        |
| Zaprawa biologiczna                           | 31,35           | 32,30  | 35,13  | 0,233                        | 0,842        |
| Użyźniacz glebowy                             | 32,21           | 33,85  | 30,40  | 0,564                        | 0,304        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 31,05           | 33,81  | 31,66  | 0,846                        | 0,319        |
| Miedź [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 4,144           | 4,295  | 4,226  | 0,694                        | 0,551        |
| Zaprawa biologiczna                           | 4,178           | 4,285  | 4,218  | 0,846                        | 0,637        |
| Użyźniacz glebowy                             | 4,411           | 4,189  | 4,224  | 0,371                        | 0,496        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 4,383           | 4,218  | 4,182  | 0,338                        | 0,736        |
| Molibden [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 12,70           | 12,95  | 12,93  | 0,774                        | 0,904        |
| Zaprawa biologiczna                           | 12,34           | 13,03  | 13,08  | 0,340                        | 0,881        |
| Użyźniacz glebowy                             | 13,66           | 12,47  | 13,17  | 0,533                        | 0,105        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 12,92           | 12,91  | 12,80  | 0,869                        | 0,809        |
| Mangan [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                       | 17,53           | 17,98  | 17,72  | 0,812                        | 0,472        |
| Zaprawa biologiczna                           | 18,30           | 17,62  | 17,84  | 0,560                        | 0,705        |
| Użyźniacz glebowy                             | 17,97           | 17,79  | 17,76  | 0,794                        | 0,890        |
| Biostymulator (nalistnie)                     | 17,85           | 18,05  | 17,23  | 0,445                        | 0,347        |

Miano tendencji statystycznej można również nadać wpływowi sposobów stosowania biostymulatorów na zawartość sodu w orzeszkach gryki (Rysunek 157). Wynika to przede

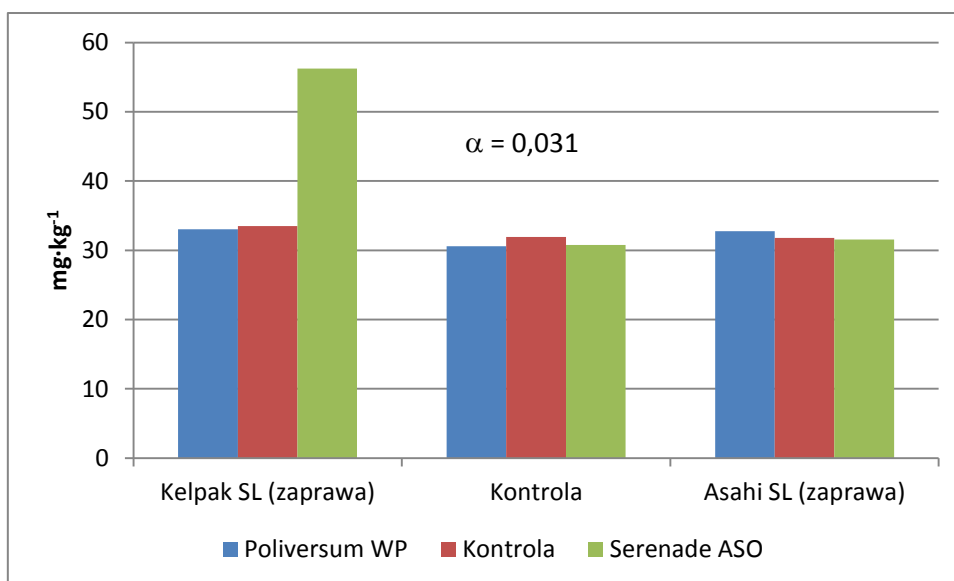


wszystkim z wyraźnego wzrostu koncentracji sodu w orzeszkach po zastosowaniu nalistnie preparatu Asahi SL na rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych preparatem Kelpak SL. Na obiektach, na których nie zaprawiano nasion, czy też zaprawiono pochodnymi polifenoli nanoszenie któregośkolwiek z biostymulatorów powodowało zmniejszenie zawartości analizowanego makroskładnika.



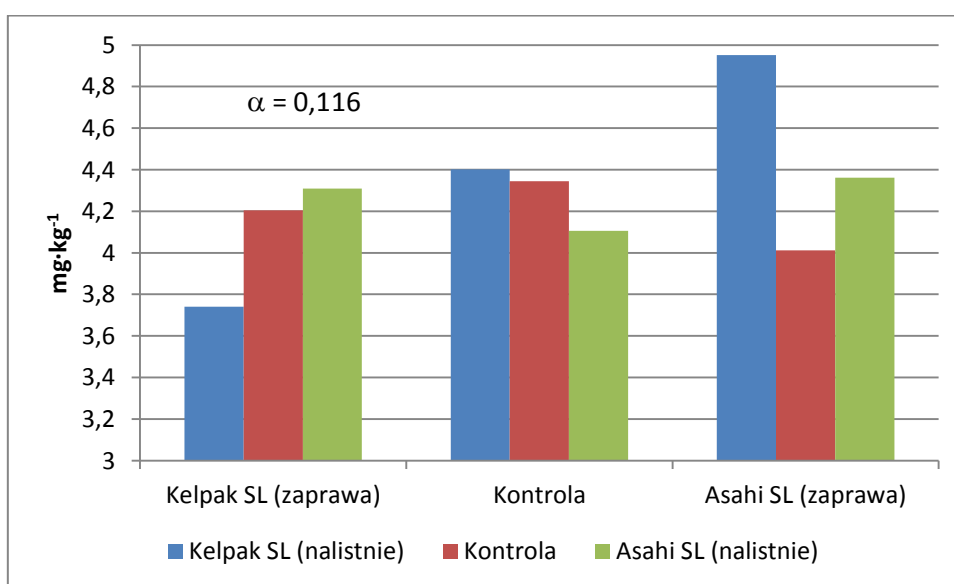
Rysunek 157. Kształtowanie się zawartości sodu w orzeszkach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

Statystyczne zróżnicowanie zawartości żelaza w orzeszkach gryki było skutkiem współdziałania zaprawiania nasion biostymulatorami i zaprawami biologicznymi równocześnie. Tylko jedna kombinacja wyraźnie zwiększa zawartość żelaza i stanowi ją zaprawienie nasion wyciągiem z alg *Ecklonia maxima* oraz opryskanie roślin szczepem *Bacillus subtilis* (Rysunek 158).



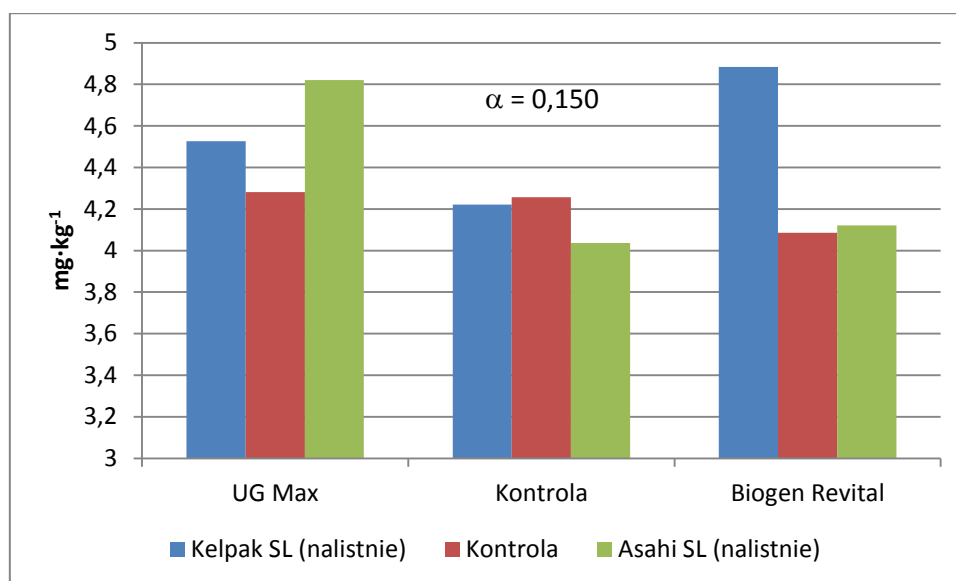
Rysunek 158. Kształtowanie się zawartości żelaza w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Również zawartość miedzi była kształtowana przez współdziałanie sposobów stosowania biostymulatorów (tendencja statystyczna). Stymulująco na zawartość tego pierwiastka w orzeszkach wpłynęło zaprawianie przedsiewne nasion pochodnymi polifenoli, a następnie opryskanie roślin wyciągiem z alg *Ecklonia maxima*. Na obiektach wyrosłych z nasion zaprawionych preparatem Kelpak SL dodatkowy oprysk nalistny tym biostymulatorem powodował wyraźny spadek zawartości miedzi w orzeszkach gryki (Rysunek 159).



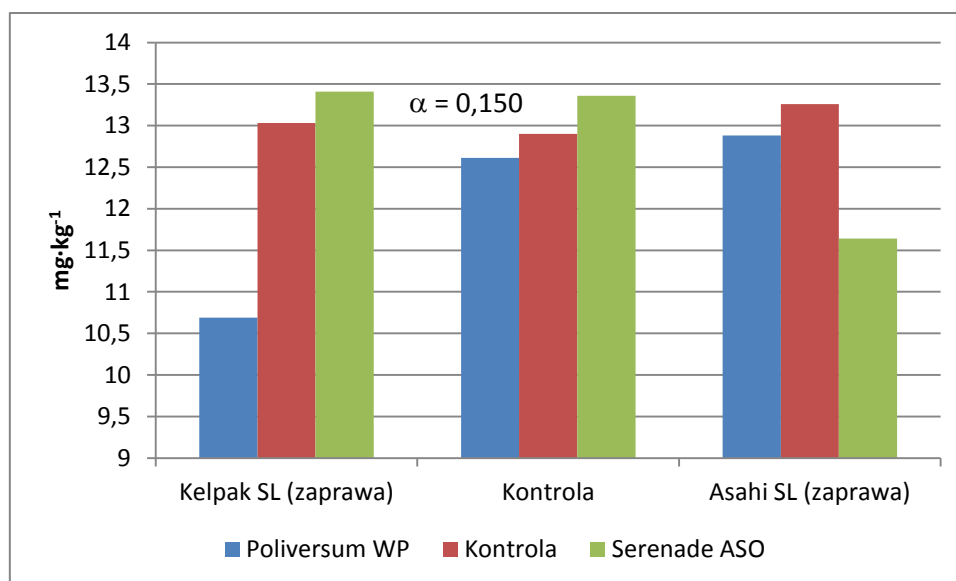
Rysunek 159. Kształtowanie się zawartości miedzi w orzeszkach gryki w zależności od sposobu zastosowania biostymulatorów

Kolejna interakcja, użyźniacz gleby x oprysk nalistny biostymulatorem, zmodyfikowała zawartość miedzi na poziomie bliskim istotności statystycznej. Na obiektach, na których nie stosowano użyźniaczy gleby zasadniczo zastosowanie nalistne biostymulatorów nie zmieniało zawartości miedzi w orzeszkach. Natomiast po zastosowaniu użyźniacza UG Max zastosowanie któregośkolwiek z biostymulatorów zwiększyło zawartość miedzi w orzeszkach. W przypadku użyźniacza Biogen Revital zastosowanie w postaci oprysku preparatu Kelpak SL dało tożsamy efekt (Rysunek 160).



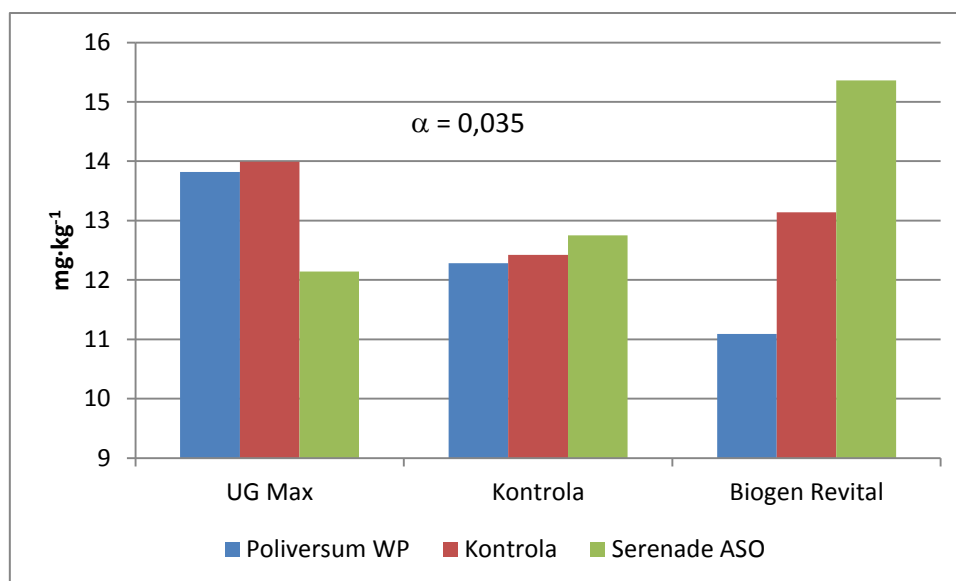
Rysunek 160. Kształtowanie się zawartości miedzi w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci nalistnej i użyźniaczy gleby

Zróznicowanie zawartości molibdenu w orzeszkach gryki przez interakcję biostymulator jako zaprawa x zaprawa biologiczna również było bliskie statystycznej istotności. W ocenie wyraźnie wyróżniają się dwie kombinacje powodujące zmniejszenie zawartości tego pierwiastka w orzeszkach. Jedną z nich to dwukrotne zastosowanie wyciągu z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL), a druga to dwukrotne zastosowanie pochodnych polifenoli roślinnych (Asahi SL) (Rysunek 161). Pozostałe kombinacje nie różniły się znacząco w kontekście tego parametru.



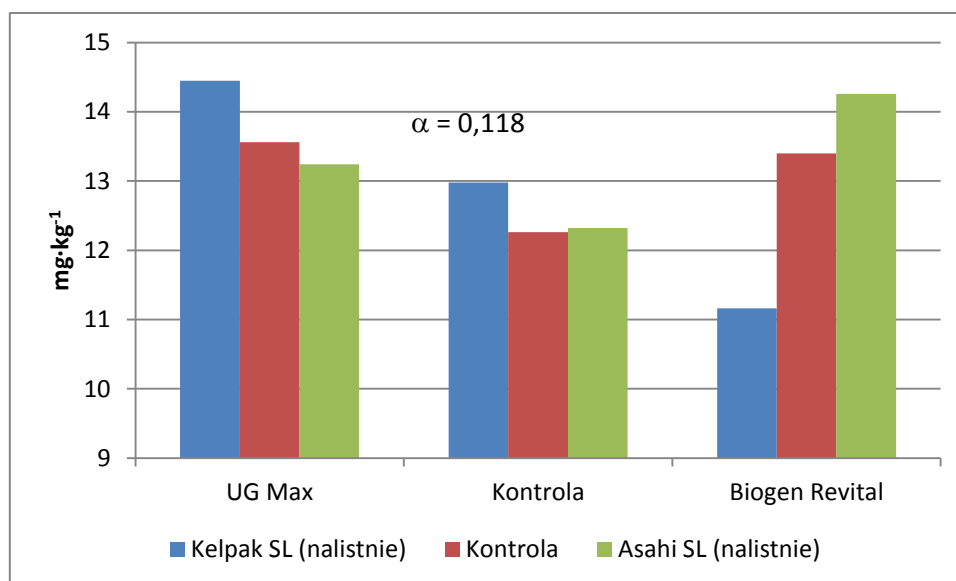
Rysunek 161. Kształtowanie się zawartości molibdenu w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów i zapraw biologicznych

Zawartość molibdenu w orzeszkach była natomiast statystycznie modyfikowana oddziaływaniem interakcyjnym pomiędzy użyźnierzami gleby i zaprawami biologicznymi. Na obiektach, na których nie stosowano użyźniaczy gleby stosowanie zapraw biologicznych nie powodowało zmian zawartości tego pierwiastka w orzeszkach. Natomiast zastosowanie użyźniacza Biogen Revital i następnie oprysk oosporami grzyba *Pythium oligandrum* powodowało wyraźne zmniejszenie zawartości analizowanego składnika odżywczego w orzeszkach. Podobną reakcję zaobserwowano po zastosowaniu użyźniacza UG Max a następnie zaprawieniu nasion szczepem *Bacillus subtilis* (Rysunek 162).



Rysunek 162. Kształtowanie się zawartości molibdenu w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych zapraw biologicznych i użyźniaczy gleby

Charakterystycznym układem zawartości molibdenu w nasionach gryki cechuje się układ kombinacji nalistnie naniesionych biostymulatorów i użyźniaczy gleby. Na obiektach, na których zastosowano użyźniacz UG Max stymulująco na zawartość molibdenu wpłynął oprysk wyciągiem z alg *Ecklonia maxima*, a depresyjnie oprysk pochodnymi polifenoli roślinnych. Natomiast na obiektach, na których zastosowano użyźniacz Biogen Revital zawartość molibdenu kształtowała się odwrotnie. Zastosowanie preparatu Kelpak SL w formie oprysku zmniejszało zawartość omawianego pierwiastka, a zastosowanie preparatu Asahi SL zwiększało (Rysunek 163).



Rysunek 163. Kształtowanie się zawartości molibdenu w liściach gryki w zależności od zastosowanych biostymulatorów w postaci nalistnej i użyźniaczy gleby

Już na poziomie wysiewu orzeszków gryki można wpłynąć na ich aktywność antyoksydacyjną, zastosowanie zaprawy Kelpak SL oraz Asahi SL w znaczący sposób spowodowało obniżenie aktywności antyoksydacyjnej wyznaczonej metodą DPPH orzeszków gryki w porównaniu do kontroli. Wśród badanych zapraw większą aktywność stwierdzono w orzeszkach wytworzonych przez rośliny wyrosłe z nasion zaprawionych preparatem Polyversum WP niż zaprawionych preparatem Serenade ASP. Zastosowanie użyźniaczy gleby nie pozwala na sformułowanie jednoznacznych ocen (Tabela 37).

Na właściwości antyoksydacyjne orzeszków gryki wpływało kilka interakcji badanych czynników. Pierwsza z nich to interakcja czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany jako zaprawa (FRAP) (Rysunek 164, Rysunek 167). Wśród tych kombinacji najsilniejsze właściwości antyoksydacyjne posiadały orzeszki ukształtowane na roślinach wyrosłych z nasion zaprawionych preparatem Asahi SL w obecności użyźniacza gleby Biogen Revital. W przypadku kolejnej interakcji w największym stopniu siłę antyoksydacyjną orzeszków gryki zwiększał preparat Polyversum WP -10<sup>6</sup> oospor grzyba *Pythium oligandrum* w materiale roślinnym otrzymanym z obiektu na którym dodatkowo był stosowany użyźniacz Biogen Revital (Rysunek 165). Były to preparaty, które nie dość, że najsilniej wpływały na ten parametr, to jeszcze należały do puli związków szybko reagujących, ponieważ efekt ich oddziaływania był widoczny w pierwszych minutach od zapoczątkowania reakcji określającej siłę aktywności antyoksydacyjnej. Pewien wpływ na aktywność antyoksydacyjną orzeszków miała również interakcja czynników użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie

(Rysunek 166). Oznacza to, że niektóre kombinacje badanych czynników znacząco podnoszą ich walory prozdrowotne. Uzyskując orzeszki gryki, które mają być wykorzystane w przetwórstwie spożywczym, ważne jest aby ich siła przeciw wolnorodnikowa była optymalna, wtedy takie produkty mogą zyskać znaczenie żywności funkcjonalnej, czyli takiej, która oprócz bycia źródłem substancji odżywczych, takich jak białko, cukry i tłuszcze, pełni rolę ochronną w stosunku do wolnych rodników wykazując działanie prozdrowotne.

Aktywność antyoksydacyjna orzeszków była też modyfikowana interakcją czynników użyźniacz gleby x zaprawa biologiczna. Zdecydowanie najkorzystniejsza, z punktu widzenia właściwości antyoksydacyjnych, okazała się kombinacja użyźniacz Biogen Revital + Polyversum WP (Rysunek 168).

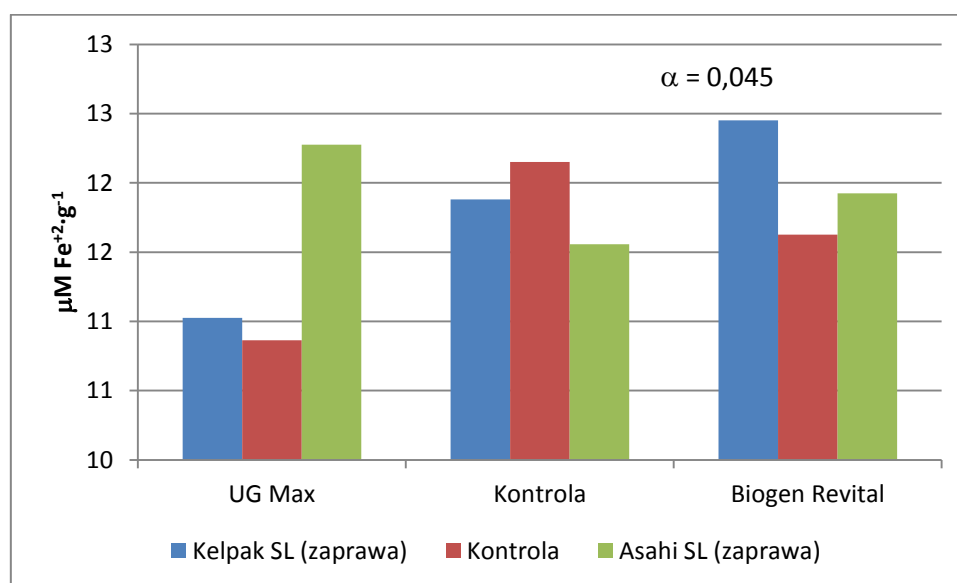
Aktywność antyoksydacyjna mierzona w 60 minucie jest najbardziej związana ze składnikami tzw. puli związków powoli reagujących, dobrym źródłem tych składników podobnie jak składników szybko reagujących okazała się obiekt kontrolny (bez użyźniaczy i biostymulatorów (Rysunek 169). Równie silny efekt, wykazała kombinacja Biogen Revital + Asahi SL (Rysunek 170). Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą DPPH była również modyfikowana interakcją czynników użyźniacz gleby x zaprawa biologiczna. W tym przypadku. W tym przypadku zastosowanie zapraw w obecności użyźniaczy powodowało spadek aktywności antyoksydacyjnej z wyjątkiem kombinacji Biogen Revital + Serenade ASO (Rysunek 171). Całkowita zawartość związków fenolowych w orzeszkach gryki podlegała tylko dwóm interakcjom czynników użyźniacz gleby x biostymulator jako zaprawa oraz użyźniacz gleby x biostymulator stosowany nalistnie (Rysunek 172, Rysunek 173).

Czynnikiem, który ma ogromne znaczenie żywieniowe jest całkowita zawartość polifenoli w produkcie spożywczym, im więcej tych związków tym większy efekt prozdrowotny. Najczęściej całkowita zawartość polifenoli silnie koreluje z aktywnością antyoksydacyjną w danej próbce, zdarzają się jednak wyjątki, kiedy za siłę przeciwutleniającą nie odpowiadają związki o budowie polifenolowej, ale inne np. witaminy (A, C, E). W przypadku orzeszków gryki zaobserwowano dość silną korelację pomiędzy tymi czynnikami.

Aby zwiększyć aktywność antyoksydacyjną i całkowitą zawartość polifenoli w orzeszkach gryki, największy efekt uzyskamy jeśli zastosujemy preparaty i biostymulatory w początkowej fazie hodowli, najlepszym preparatem wydaje się być Kelpak SL, w późniejszej fazie podawanie preparatów zwłaszcza nalistnie, nie ma już tak dużego znaczenia w zwiększaniu aktywności antyoksydacyjnej orzeszków gryki.

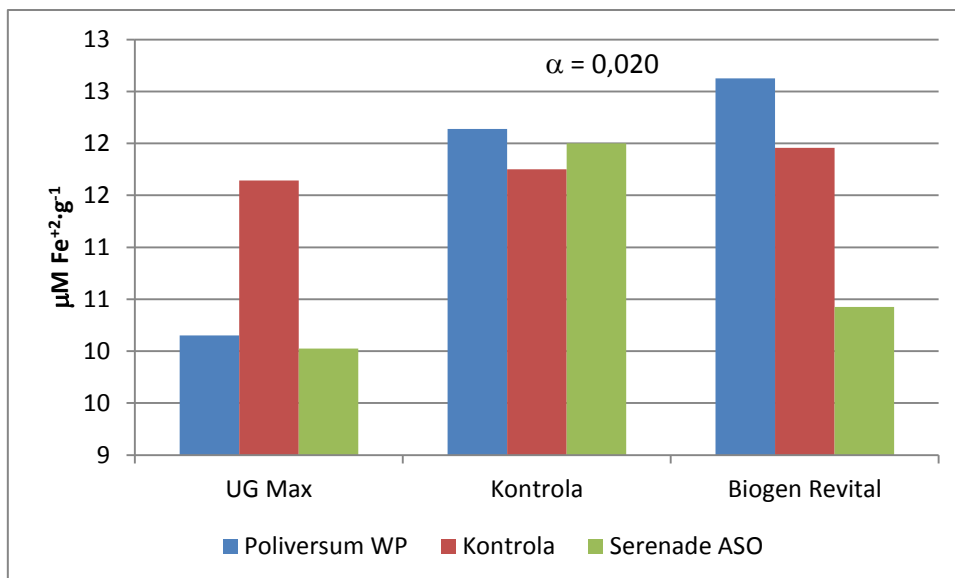
Tabela 37. Wpływ biostymulatorów i zapraw biologicznych na potencjał antyoksydacyjny (mierzony metodą FRAP po 4 i 60 minutach, metodą DPPH po 60 minutach) oraz całkowita zawartość związków polifenolowych w orzeszkach gryki

| Czynnik                                               | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|-------------------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                                       | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| FRAP 4 [ $\mu\text{M Fe}^{+2} \cdot \text{g}^{-1}$ ]  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                               | 11,83           | 11,67  | 11,74  | 0,897                        | 0,650        |
| Zaprawa biologiczna                                   | 11,89           | 11,78  | 11,41  | 0,042                        | 0,129        |
| Użyźniacz glebowy                                     | 11,13           | 11,92  | 11,81  | 0,008                        | 0,007        |
| Biostymulator (nalistnie)                             | 11,69           | 11,68  | 11,84  | 0,543                        | 0,688        |
| FRAP 60 [ $\mu\text{M Fe}^{+2} \cdot \text{g}^{-1}$ ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                               | 23,72           | 23,54  | 23,86  | 0,735                        | 0,630        |
| Zaprawa biologiczna                                   | 24,21           | 23,66  | 23,07  | 0,038                        | 0,311        |
| Użyźniacz glebowy                                     | 22,51           | 23,97  | 24,00  | 0,008                        | 0,020        |
| Biostymulator (nalistnie)                             | 23,21           | 23,85  | 23,59  | 0,494                        | 0,071        |
| TP [ $\mu\text{M GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ ]          |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                               | 18,29           | 18,53  | 15,50  | 0,445                        | 0,076        |
| Zaprawa biologiczna                                   | 18,77           | 18,52  | 18,05  | 0,011                        | 0,092        |
| Użyźniacz glebowy                                     | 18,27           | 18,51  | 18,57  | 0,279                        | 0,107        |
| Biostymulator (nalistnie)                             | 18,16           | 18,60  | 18,45  | 0,293                        | 0,017        |
| DPPH 60 [ $\mu\text{M TRX} \cdot \text{g}^{-1}$ ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                               | 11,62           | 12,05  | 11,51  | 0,604                        | 0,004        |
| Zaprawa biologiczna                                   | 12,08           | 11,97  | 11,24  | 0,010                        | 0,025        |
| Użyźniacz glebowy                                     | 11,32           | 11,82  | 12,39  | 0,000                        | 0,253        |
| Biostymulator (nalistnie)                             | 11,75           | 11,78  | 12,05  | 0,305                        | 0,422        |

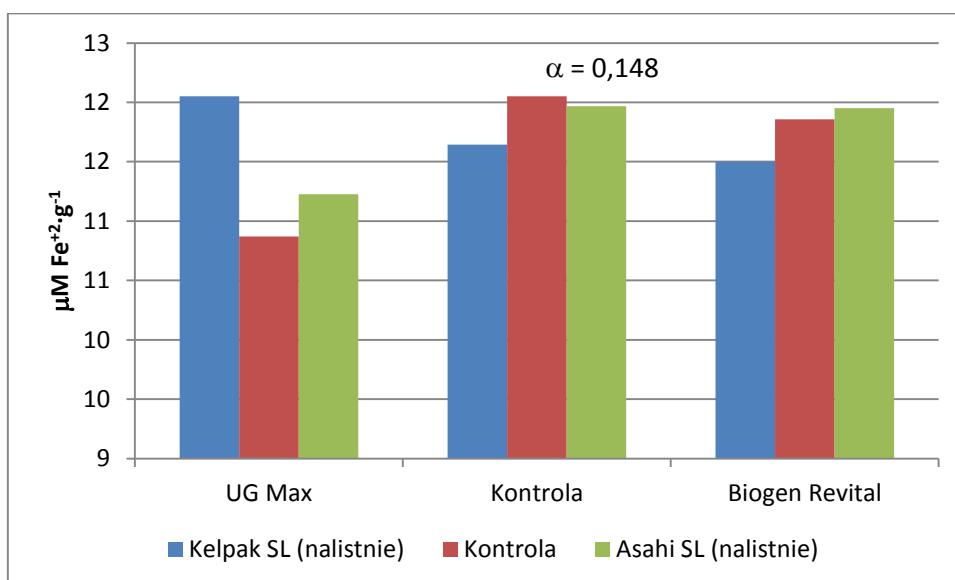


Rysunek 164. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 4 (po czterech minutach) orzeszków gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (jako zapraw)

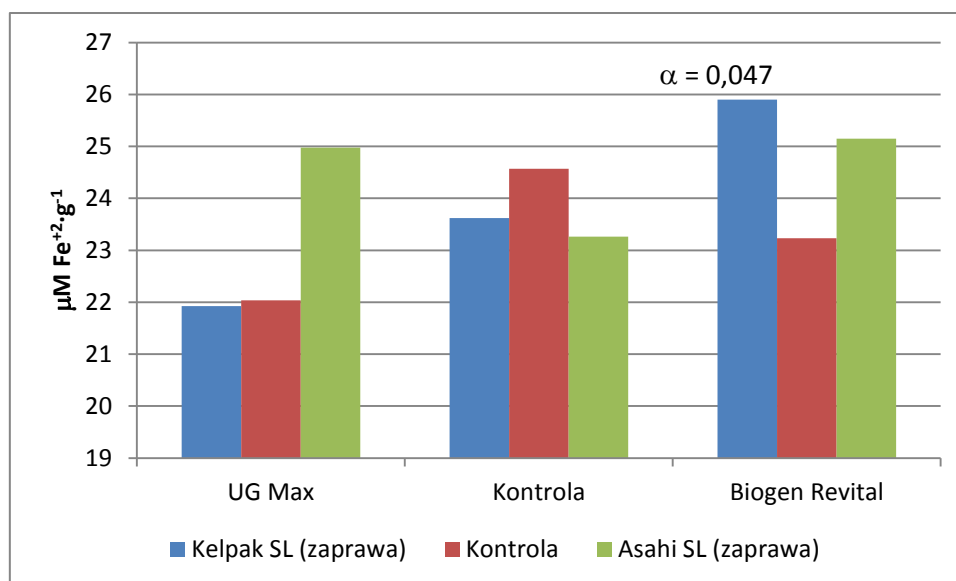




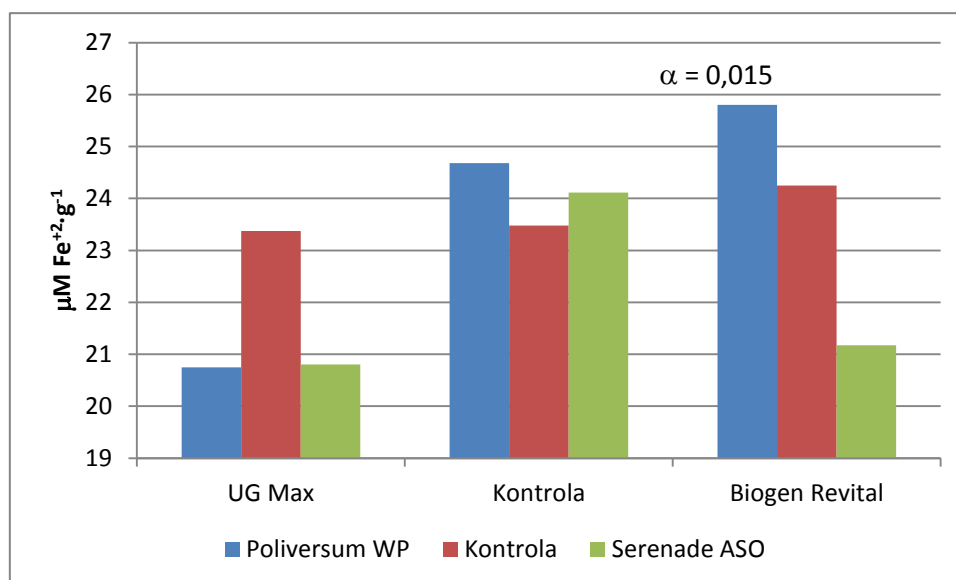
Rysunek 165. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 4 (po czterech minutach) orzeszków gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i zapraw biologicznych



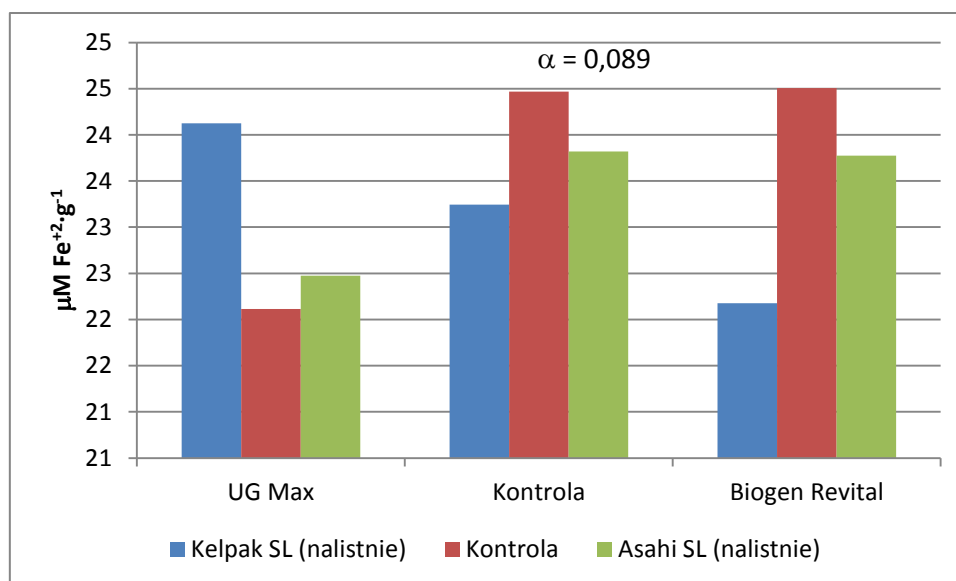
Rysunek 166. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 4 (po czterech minutach) orzeszków gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (nalistnie)



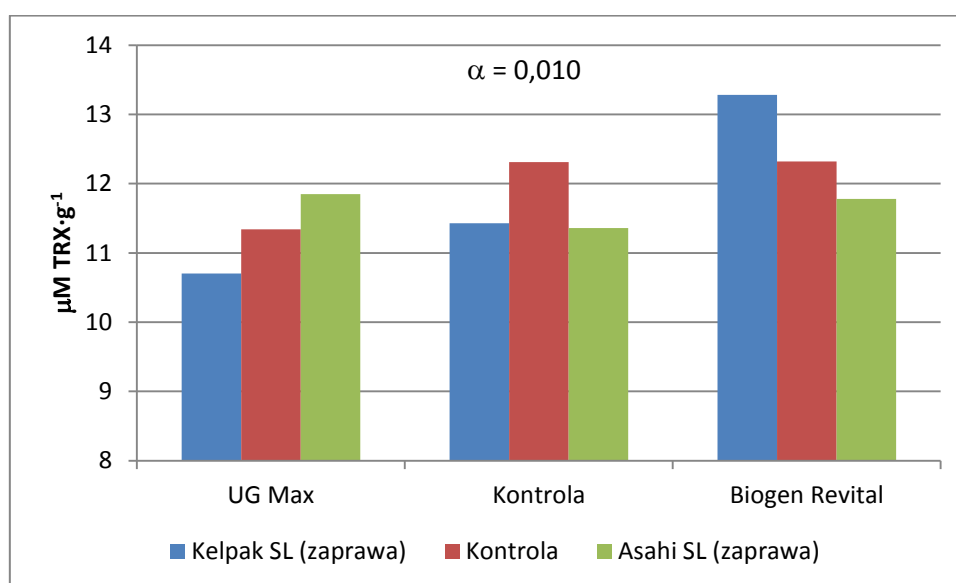
Rysunek 167. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 60 (po sześćdziesięciu minutach) orzeszków gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (jako zapraw)



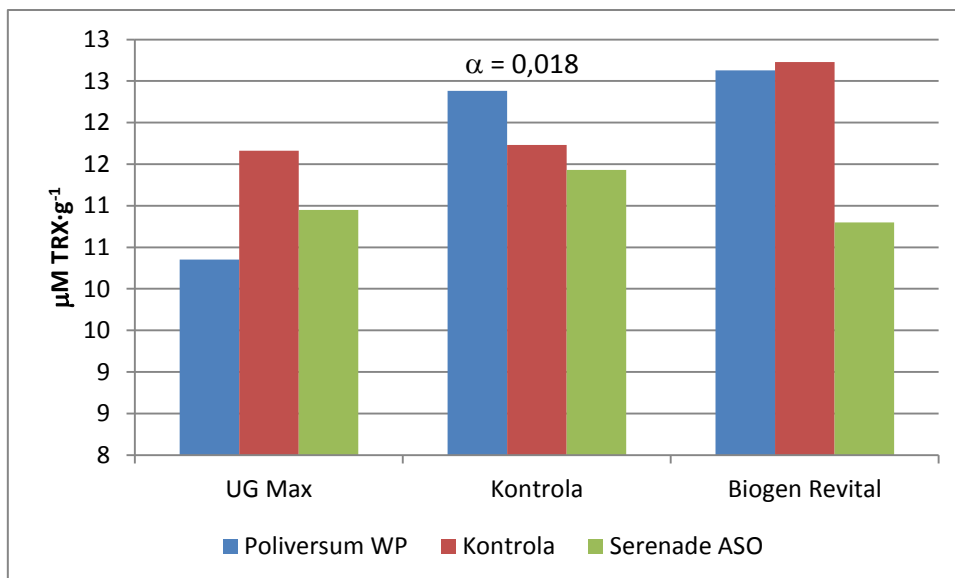
Rysunek 168. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 60 (po sześćdziesięciu minutach) orzeszków gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i zapraw biologicznych



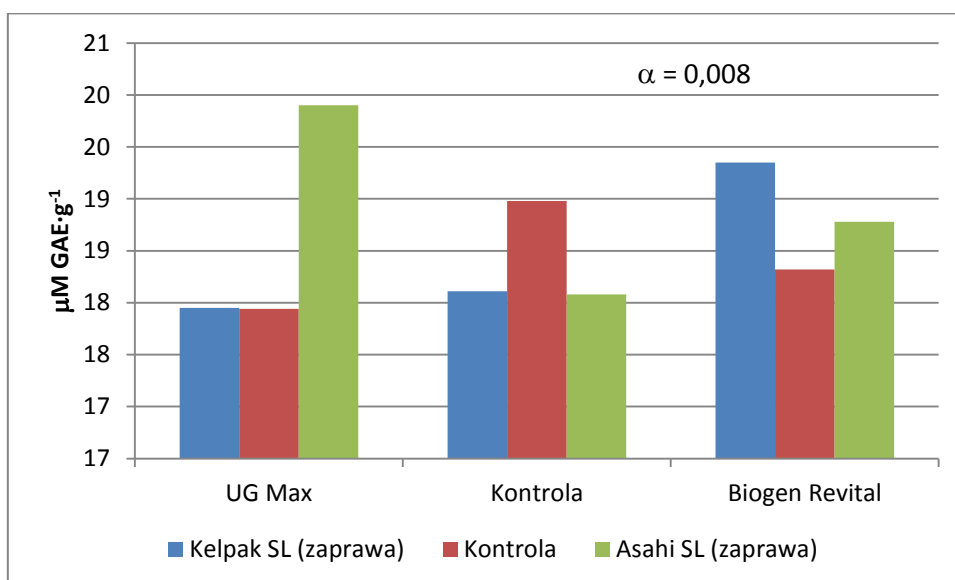
Rysunek 169. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą FRAP 60 (po sześćdziesięciu minutach) orzeszków gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (nalistnie)



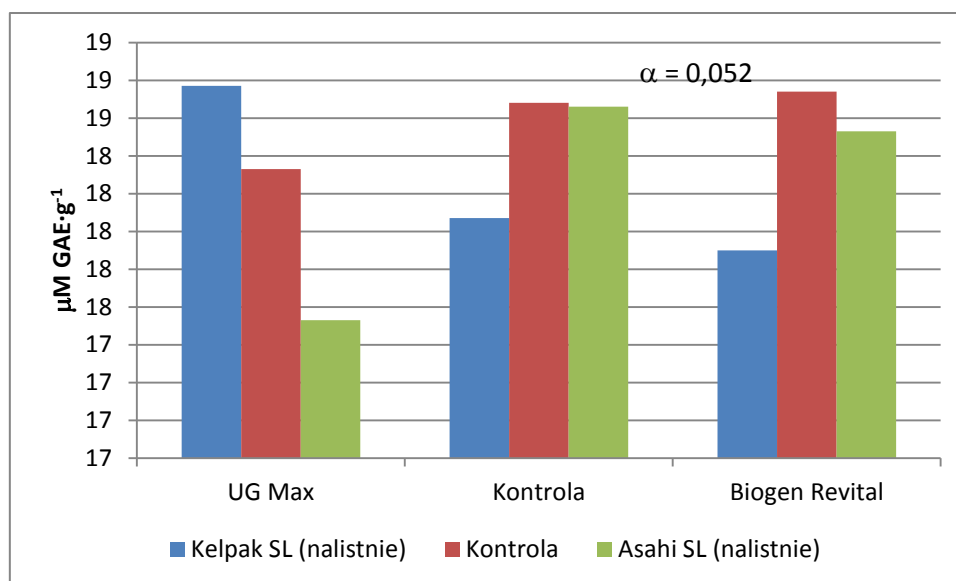
Rysunek 170. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą DPPH (po sześćdziesięciu minutach) orzeszków gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (jako zapraw)



Rysunek 171. Aktywność antyoksydacyjna wyznaczona metodą DPPH (po sześćdziesięciu minutach) orzeszków gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i zapraw biologicznych



Rysunek 172. Całkowita zawartości związków fenolowych w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (jako zaprawa)



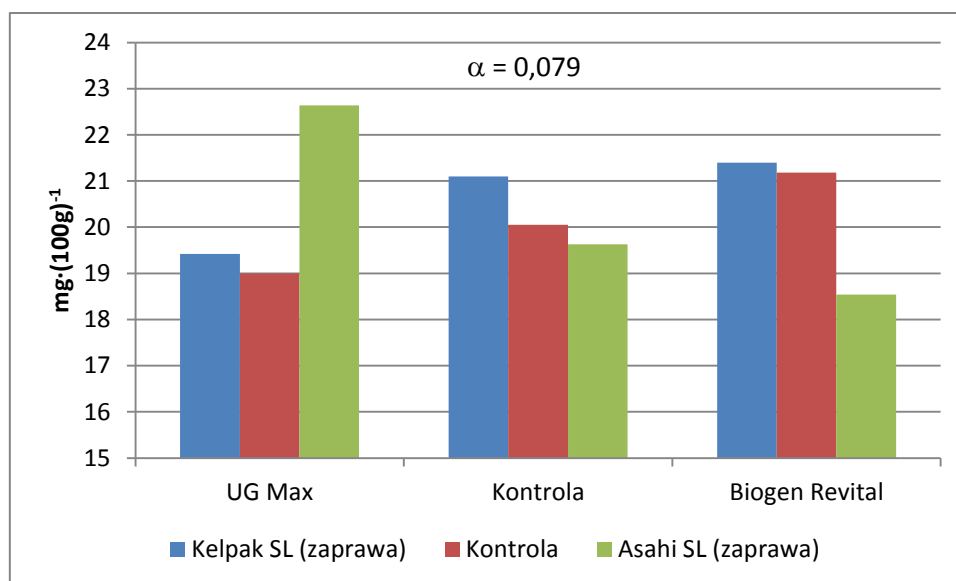
Rysunek 173. Całkowita zawartości związków fenolowych w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów (nalistnie)

Zawartość rutozydu w orzeszkach gryki była modyfikowana statystycznie tylko przez dwa spośród badanych czynników, a mianowicie zaprawę biologiczną i biostymulator stosowany nalistnie. Zaprawienie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* zwiększyło zawartość rutozydu w liściach w odniesieniu do stwierdzonej po zaprawieniu nasion *Bacillus subtilis* o  $3,92 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ . Również zastosowanie nalistne biostymulatora Asahi SL wyraźnie zwiększyło zawartość rutozydu w orzeszkach (o  $3,01 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ) w stosunku do stwierdzonego w orzeszkach pochodzących z obiektu, na którym zastosowano oprysk preparatem Kelpak SL (Tabela 38).

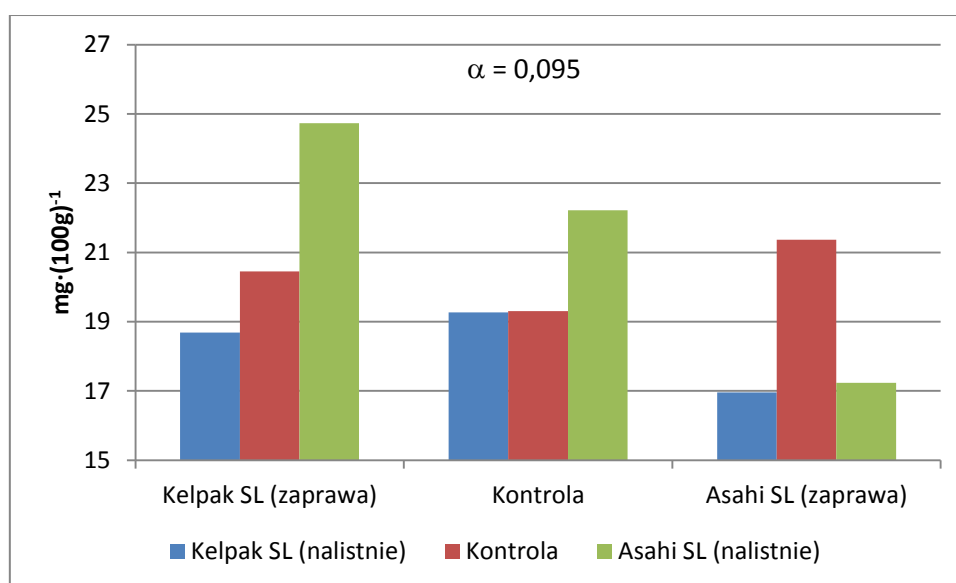
Tabela 38. Zawartość rutozydu [ $\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ ] w orzeszkach gryki w zależności od badanych czynników

| Czynnik                   | Poziomy czynnika |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------|------------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                           | Niski            | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Biostymulator (zaprawa)   | 20,87            | 20,07  | 19,95  | 0,486                        | 0,920        |
| Zaprawa biologiczna       | 21,57            | 20,71  | 17,65  | 0,000                        | 0,095        |
| Użyźniacz glebowy         | 19,68            | 20,22  | 20,78  | 0,272                        | 0,800        |
| Biostymulator (nalistnie) | 18,79            | 20,16  | 21,80  | 0,003                        | 0,908        |

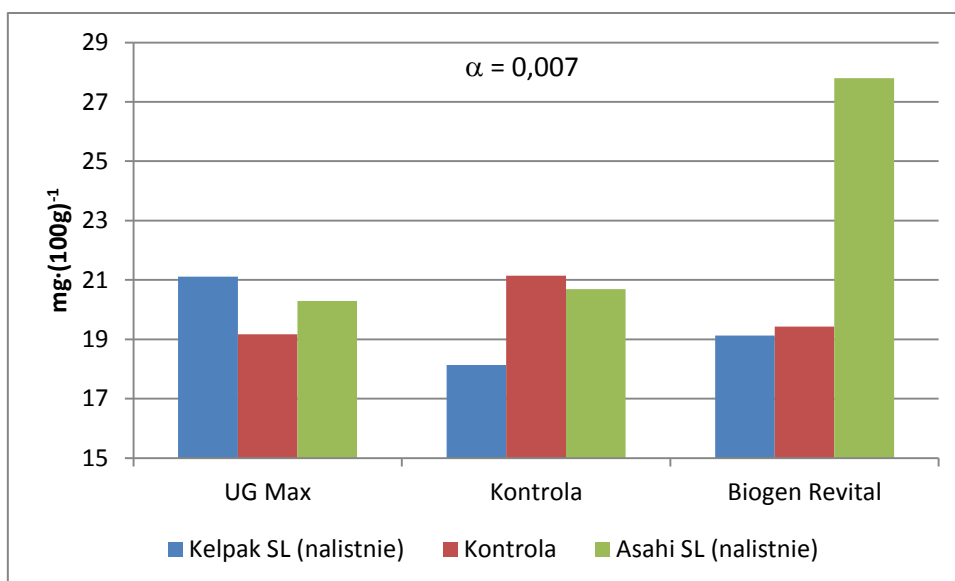
Bliski statystycznej istotności był wpływ interakcji czynników użyźniacz gleby x biostymulator jako zaprawa na zawartość rutozydu w orzeszkach gryki. W warunkach wzrostu bez użyźniacza gleby zaprawienie przedsiewne nasion preparatem Kelpak SL wydaje się nieznacznie zwiększać zawartość rutozydu w orzeszkach.



Rysunek 174. Kształtowanie się zawartości rutozydu w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i biostymulatorów jako zapraw

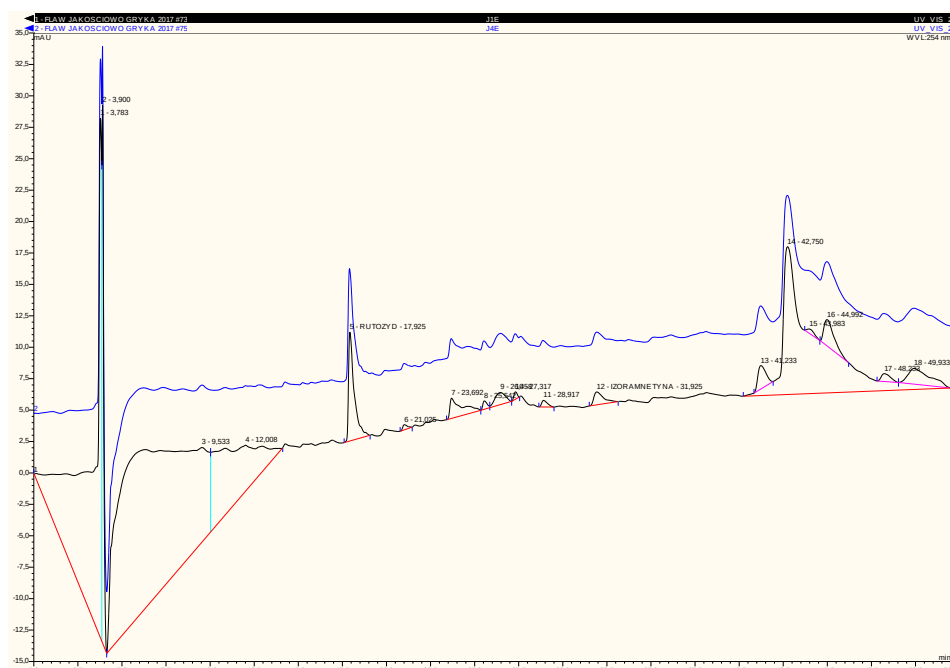


Rysunek 175. Kształtowanie się zawartości rutozydu w orzeszkach gryki w zależności od sposobów stosowania biostymulatorów



Rysunek 176. Kształtowanie się zawartości rutozydu w orzeszkach gryki w zależności od zastosowanych użyźniaczy gleby i zapraw biologicznych

Analiza jakościowa wykazała obecność rutozydu jako dominującego związku we wszystkich badanych próbkach. W orzeszkach gryki zaobserwowano nieznaczne ilości luteoliny, kwercytryny oraz izoramnetyny. Na chromatografach zaobserwowano również obecność dwóch wysokich pików, o czasach retencji około 15 i 16 min. jednak nie udało się określić ich tożsamości przy pomocy dostępnych substancji wzorcowych (Rysunek 177).



Rysunek 177. Porównawcza analiza jakościowa chromatogramów HPLC wyciągów z orzeszków gryki zaprawianej preparatami Polyversum WP (czarny) i Serenade ASO (niebieski)

W poniższej tabeli nie zmieszczono koncentracji kwasu glukonowego w związku z śladową ilością tego kwasu organicznego stwierdzoną w orzeszkach gryki. Zamiast w/w kwasu zanalizowano zawartość kwasu octowego (Tabela 39). Zawartość kwasu winowego modyfikowana była istotnym wpływem czynnika jakim był biostymulator stosowany nalistnie. Biostymulator Asahi SL zastosowany nalistnie zwiększył zawartość tego związku organicznego w orzeszkach gryki, w porównaniu do zawartości stwierdzonej w orzeszkach ukształtowanych na roślinach wyrosłych z nasion zaprawionych preparatem Kelpak SL o  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Mianem tendencji można określić wpływ biostymulatorów w formie zapraw na zawartość kwasu winowego w orzeszkach gryki. Zaprawianie nasion auksynami i cytokininami pozyskanymi z alg *Ecklonia maxima* (Kelpak SL) zwiększyło koncentrację tego związku w orzeszkach gryki o  $0,16 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , w porównaniu do zawartości wykazanej po zaprawieniu nasion nitrofenolami roślinnymi (Asahi SL). Nie zaobserwowano wpływu badanych czynników eksperymentalnych na koncentrację kwasu cytrynowego w orzeszkach gryki. Zawartość kwasu szczawiowego w orzeszkach gryki podlegała istotnemu wpływowi zaprawiania zaprawami biologicznymi. Zaprawianie nasion oosporami grzyba *Pythium oligandrum* zwiększyło koncentrację tego związku w orzeszkach gryki w odniesieniu do stwierdzonych po zaprawieniu nasion szczepem bakterii *Bacillus subtilis*. Również biostymulator stosowany nalistnie w istotny sposób modyfikował zawartość kwasu szczawiowego w orzeszkach gryki. Aplikacja nalistna biostymulatorów zmniejszyła zawartość tego kwasu w orzeszkach w porównaniu do stwierdzonej na obiekcie kontrolnym. Koncentracja kwasu mlekowego w orzeszkach gryki podlegała zmianom w wyniku stosowania zapraw biologicznych. Zaprawienie nasion szczepem *Bacillus subtilis* zwiększyło koncentrację kwasu mlekowego w orzeszkach o  $0,52 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , w porównaniu do koncentracji stwierdzonej po zaprawieniu nasion oosporami *Pythium oligandrum*. Natomiast zawartość kwasu octowego w orzeszkach gryki podlegała istotnemu wpływowi biostymulatorów stosowanych nalistnie i zapraw biologicznych. Zaprawianie nasion biostymulatorami skutkowało redukcją zawartości kwasu octowego w orzeszkach gryki. Również zaprawy biologiczne obniżyły zawartość tego kwasu organicznego w orzeszkach gryki. Mianem tendencji można opisać wpływ użyźniaczy gleby na zawartość kwasu octowego w orzeszkach gryki. Zastosowanie użyźniaczy gleby zmniejszyło zawartość kwasu octowego o  $0,179 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  w porównaniu do obiektu kontrolnego.



Tabela 39. Zawartość kwasów organicznych w orzeszkach gryki

| Czynnik                               | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|---------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                       | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Kwas winowy [mg·g <sup>-1</sup> ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 4,018           | 4,056  | 3,858  | 0,100                        | 0,171        |
| Zaprawa biologiczna                   | 3,973           | 4,044  | 3,932  | 0,710                        | 0,282        |
| Użyźniacz glebowy                     | 4,063           | 4,028  | 3,883  | 0,181                        | 0,206        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 3,863           | 3,916  | 4,363  | 0,000                        | 0,137        |
| Kwas cytrynowy [mg·g <sup>-1</sup> ]  |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 0,984           | 0,886  | 0,841  | 0,502                        | 0,784        |
| Zaprawa biologiczna                   | 0,854           | 0,914  | 0,901  | 0,962                        | 0,916        |
| Użyźniacz glebowy                     | 0,951           | 0,871  | 0,912  | 0,913                        | 0,558        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 0,947           | 0,895  | 0,854  | 0,554                        | 0,857        |
| Kwas szczawiowy [mg·g <sup>-1</sup> ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 0,077           | 0,079  | 0,080  | 0,221                        | 0,872        |
| Zaprawa biologiczna                   | 0,082           | 0,079  | 0,074  | 0,004                        | 0,738        |
| Użyźniacz glebowy                     | 0,079           | 0,079  | 0,077  | 0,662                        | 0,871        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 0,080           | 0,077  | 0,083  | 0,279                        | 0,043        |
| Kwas mlekowy [mg·g <sup>-1</sup> ]    |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 1,167           | 1,155  | 1,036  | 0,587                        | 0,794        |
| Zaprawa biologiczna                   | 0,960           | 1,059  | 1,482  | 0,053                        | 0,315        |
| Użyźniacz glebowy                     | 1,449           | 0,948  | 1,270  | 0,418                        | 0,085        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 1,043           | 1,218  | 1,003  | 0,849                        | 0,721        |
| Kwas octowy [mg·g <sup>-1</sup> ]     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)               | 2,075           | 2,321  | 2,023  | 0,852                        | 0,014        |
| Zaprawa biologiczna                   | 1,925           | 2,304  | 2,212  | 0,448                        | 0,009        |
| Użyźniacz glebowy                     | 2,026           | 2,278  | 2,172  | 0,140                        | 0,056        |
| Biostymulator (nalistnie)             | 2,432           | 2,104  | 2,171  | 0,232                        | 0,507        |

## Podsumowanie

Oceniając wpływ czynników agrotechnicznych na wielkość surowca w oparciu o jednoroczny eksperyment polowy należy wprowadzać uogólnienia bardzo uważnie. Jednak w tym roku badań polowych nie stwierdzono jednoznacznego wpływu analizowanych czynników na plon orzeszków. Zaobserwowane zmiany we wzroście plonu orzeszków gryki wywołane były zastosowaniem w formie zaprawy preparatu Polyversum i użyźniacza gleby UG Max. Biostymulatory bez względu na sposób zastosowania lub w kombinacji z zaprawą biologiczną bądź użyźniaczem gleby wpływały na zmiany wśród elementów plonowania. Najkorzystniej oddziałującym preparatem, na elementy plonowania, był biostymulator Kelpak SL oraz biopreparat Polyversum WP.

Stymulująco na strukturę aparatu fotosyntetycznego wpłynęło zastosowanie zapraw biologicznych i biostymulatorów w formie zaprawy i oprysku oraz użyźniacza Biogen Revital Max Pro.

Aktywność fotosyntetyczna roślin gryki opisana wybranymi parametrami fluorescencji chlorofilu a i wymiany gazowej była modyfikowana przez wszystkie czynniki eksperymentalne. Na podstawie jednorocznych badań trudno jednak formułować jednoznaczne wnioski, ale czynnikiem który najmocniej modyfikował analizowane parametry był czynnik biostymulator (zarówno stosowany jako zaprawa jak i nalistnie). Ponadto zaprawiani nasion preparatem Kelpak SL oraz stosownie użyźniacza glebowego Biogen Revital Max Pro poprawiło gospodarkę wodą roślin gryki.

Spośród 27 ocenianych kombinacji w największym stopniu rozwój *Peronospora ducometi*, *Botrytis cinerea* i kompleks grzybów wywołujący plamistość liści gryki ograniczało przedsiewne zaprawienie nasion biopreparatami (Polyversum WP, Serenade ASO) i późniejsza nalistna aplikacja biostymulatora Kelpak SL. Dobry sumaryczny efekt ochronny uzyskano również po wniesieniu do gleby użyźniacza Biogen Revital Max Pro i późniejszym opryskiwaniu liści Asahi SL. Niezależnie od stosowania użyźniaczy glebowych, biostymulatorów czy biopreparatów do zaprawiania nasion, zawsze nalistne zabiegi biostymulatorami podnosiły efekty ochronny zwłaszcza przed mączniakiem rzekomym i plamistością liści. Znalazło to również potwierdzenie w analizie mikologicznej liści, przy czym należy zaznaczyć, że nitrofenole zawarte w Asahi SL w większym stopniu przyczyniały się do redukcji liczebności oraz wyeliminowania niektórych gatunków patogenicznych izolowanych z liści niż auksyny i cytokininy *Ecklonia maxima* (Kelpak SL). Czystość mikologiczna ma szczególne znaczenie przy wykorzystaniu liści jako surowca spożywczego. W świetle przeprowadzonych badań należy uznać za celowe wykorzystanie fungistatycznych właściwości Asahi SL w ochronie przed grzybami pleśniowymi (zwłaszcza toksynotwórczymi: *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*).

Na ogół użyźniacze glebowe oraz ich kombinacje z nalistną aplikacją biostymulatorów w niewielkim stopniu przyczyniały się do ograniczenia zgnilizn i zgorzeli podstawy łodyg i korzeni gryki oraz liczebności izolowanych z korzeni grzybów. Podwójne zaprawienie nasion Kelpak SL i Serenade ASO powoduje dwukrotne zmniejszenie liczebności grzybów kolonizujących porażone korzenie co skutkuje 50% zmniejszeniem udziału roślin chorych. Ponad 54% redukcja roślin objętych zgnilizną i zgorzelą podstawy łodyg i korzeni następuje po zaprawieniu nasion Kelpak SL i wniesieniu do gleby UGmax, jednak tego wariantu nie można rekomendować do stosowania w uprawie gryki ponieważ sprzyja nasileniu chorób liści: szarej pleśni i mączniaka prawdziwego. Reasumując najlepszą kompleksową ochronę gryki zapewnia zaprawianie nasion Polyversum WP i nalistna aplikacja biostymulatora Kelpak SL.

Z oceny mikologicznej orzeszków gryki wynika, że kolonizują je przede wszystkim gatunki takie jak: *Alternaria alternata*, *Arthrinium phaeospermum*, *Botritis cinerea* i *Epicoccum nigrum*. Kombinacje ochrony z wyjątkiem biostymulatorów użytych jako zapraw i dodatkowo wprowadzonego użyźniacza UGmax ograniczają liczebność zbiorowisk grzybów bytujących na i w orzeszkach gryki. Jednak najmniejszą liczbę izolatów uzyskano z kombinacji z udziałem Kelpak SL jako zaprawy jak i nalistnie.

Analiza statystyczna potwierdziła wpływ biostymulatorów i preparatów biologicznych na skład podstawowy liści i orzeszków gryki. Oddziaływania tych preparatów były zmienne w odniesieniu do analizowanych związków odżywczych. Najczęściej na wzrost ich zawartości wpływało zastosowanie biostymulatorów w formie zaprawy i oprysku. Również pozytywnie oddziaływało na zawartość składników podstawowych w liściach i orzeszkach gryki zastosowanie preparatu Kelpak SL w kombinacji z preparatami Serenade ASO i Polyversum WP i użyźniaczami gleby.

Uzyskane wyniki wskazują na zróżnicowany skład mineralny liści i orzeszków gryki. Zastosowanie tego samego biostymulatora jako zaprawy i w formie oprysku wpłynęły na redukcję badanych pierwiastków w liściach i orzeszkach gryki

#### **PODZADANIE 4. Zwiększenie żyzności i aktywności mikrobiologicznej gleby**

**Cele szczegółowe podzadania drugiego zrealizowane zostały w oparciu o następujące działania:**

1. Określenie składu granulometrycznego gleby metodą sitową, odczynu gleby metodą potencjometryczną, kwasowości hydrolitycznej oraz pojemności sorpcyjnej metodą Kappena. Również zostaną wykonane oznaczenia zawartości węgla i azotu ogółem na analizatorze CNS (Vario MAX Cube firmy Elementar). Oznaczanie zawartości przyswajalnego fosforu i potasu metodą Egnera-Riehma, magnezu metodą Schachtschabela. W glebie zostanie oznaczona zawartość makroskładników (Mg, Ca, N, K, P) mikroskładników (Mn, Fe, Co, Zn, Cu, Mo) oraz metali ciężkich (Pb, Cd, Ni) metodą ICP.
2. W próbkach gleb pobranych z każdego poletka, z głębokości 0,20, cm zostanie oznaczona aktywność enzymatyczna: oznaczona będzie aktywność dehydrogenaz, ureazy, proteazy, fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej. Aktywność badanych enzymów określono następującymi metodami: dehydrogenaz z substratem TTC (chlorek trifenylotetrazolu) (Thalman 1968), fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej (Tabatabai i Bremner 1969), ureazy (Zantua i Bremner 1975), proteazy (Ladd i Butler 1972). Aktywność dehydrogenaz

podano w  $\text{cm}^3 \text{H}_2$ , niezbędnego do redukcji TTC do TFP (trifenyloformozan); fosfataz w mmolach p-nitrofenolu (PNP), wytworzonego z 4-nitrofenylofosforanu sodowego; ureazy w mg  $\text{N-NH}_4^+$  powstałego z hydrolizowanego mocznika; proteazy w mg tyrozyny wytworzonej z kazeinianu sodu.

3 parametry wymiany gazowej gleby urządzeniem LCI-SD Ultra Compact Photosynthesis System, firmy ADC BioScientificLtd® z komorą do dokładnego pomiaru respiracji.

#### **Oczekiwane rezultaty to:**

1. Wskazanie, najbardziej skutecznego preparatu, odgrywającego kluczową rolę w stałej mineralizacji materii organicznej i dostarczaniu składników odżywczych korzeniom roślin gryki.
2. Określenie, który z preparatów najskuteczniej zwiększa dostępność składników pokarmowych dla roślin gryki.

#### **Oczekiwany efektami będą:**

1. Poprawa jakości gleby, właściwości fizykochemicznych gleby.
2. Poprawa aktywności biologicznej w tym enzymatycznej gleby.

#### **Materiał i metody**

W materiale glebowym pobranym z wierzchniej warstwy (0-30 cm) doświadczenia polowego oznaczono podstawowe właściwości chemiczne ogólnie przyjętymi metodami stosowanymi w stacjach chemiczno-rolniczych [Czuba 1980; Ostrowska et al. 1991; Łabętowicz 1998; Rauret et al. 1999; Mocek et al. 2000]:

- skład granulometryczny;
- odczyn (pH) w roztworze KCl o stężeniu  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ,
- kwasowość hydrolityczna;
- pojemność sorpcyjna metodą Kappena;
- węgiel organiczny metodą Tiurina,
- azot ogółem metodą Kjeldahla,
- przyswajalny fosfor i potas metodą Egnera-Riehma,
- przyswajalny magnez metodą Schachtschabela,
- zawartość makroskładników (Mg, Ca, K, P), mikroskładników (Mn, Fe, Co, Zn, Cu, Mo) oraz metali ciężkich (Pb, Cd, Ni) po uprzednim spopieleniu materii organicznej i trawieniu w mieszaninie stężonych kwasów  $\text{HClO}_4(70\%)$  i  $\text{HNO}_3(65\%)$ , (3:2)

Zawartość pierwiastków w uzyskanych przesączach oznaczono spektrometrem emisji atomowej ze wzbudzeniem w plazmie argonowej, używając aparatu ICP-AES. W analizach chemicznych zastosowano odczynniki spektralnie czyste i roztwory standardowe Aldrich. Analizy gleby obejmowały także oznaczenia aktywności enzymów odgrywających kluczową rolę w stałej mineralizacji materii organicznej i dostarczaniu składników odżywczych korzeniom gryki. Aktywność badanych enzymów określono następującymi metodami:

- dehydrogenaz z substratem TTC (chlorek trifenylotetrazolu) [Thalmann 1968],
- fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej [Tabatabai i Bremner 1969],
- ureazy [Zantua i Bremner 1975],
- proteazy [Ladd i Butler 1972].

#### Kontrola jakości analiz

Oznaczenia, w każdej z analizowanych próbek, wykonywano w trzech powtórzeniach. Dokładność metod analitycznych weryfikowano w oparciu o certyfikowane materiały referencyjne i roztwory wzorcowe: CRM IAEA/V – 10 Hay (International Atomic Energy Agency), CRM – CD281 – Rey Grass (Institute for Reference Materials and Measurements), CRM023-050 – Trace Metals – Sandy Loam 7 (RT Corporation).

### **Wyniki i ich omówienie**

#### Właściwości fizykochemiczne gleby

Glebę na której założono doświadczenie na podstawie procentowego udziału części spławialnych zaliczono do gleb ciężkich. W doświadczeniu polowym stwierdzono dużą zmienność parametrów glebowych, wynikającą ze stosowania różnych czynników, takich jak: biostymulator, zaprawa biologiczna i biologiczny użyźniacz gleby.

Przed założeniem doświadczenia analizowana gleba wykazywała odczyn kwaśny, a po zakończeniu wegetacji gryki uległa większemu zakwaszeniu. Zakres  $pH_{KCl}$  w badanych obiektach wahał się od 4,58 do 6,37, przy średniej 5,19. W glebie z doświadczenia polowego, przy tak niskim pH ujawniła się również kwasowość hydrolityczna. Z badań wynika, że kwaśny odczyn gleby zwiększał dostępność makroskładników i mikroskładników pokarmowych dla gryki. Zarejestrowany kwaśny odczyn gleby oraz kwasowość hydrolityczna nie zmniejszała żyzności gleby, a także nie wpływała na pozostałe parametry glebowe. Pojemność sorpcyjna gleby, po zakończeniu doświadczenia, nie ulegała istotnemu obniżeniu, ze względu na duży udział części spławialnych, zdolnych do sorbowania składników o charakterze zasadowym.

W glebie z doświadczenia polowego stwierdzono zróżnicowaną zawartość węgla i azotu ogółem. Zawartość węgla ogółem w glebie wahała się w zakresie: 12,10-13,73 g · kg<sup>-1</sup> s.m., natomiast azotu ogółem 1,03-1,31 g · kg<sup>-1</sup> s.m. Z badań wynika, że zawartość węgla i azotu była parametrem korzystnie oddziałującym na żyzność gleby. Stosunek C/N w badanych obiektach wahał się w zakresie: 10,46-12,80. Wartość tego stosunku odpowiadała glebom urodzajnym, żyznym, korzystnie oddziałującym na rośliny uprawne.

Zawartość przyswajalnych związków P, K i Mg w glebie z eksperymentu polowego była na średnim poziomie. Z badań wynika, że gleba na której prowadzono doświadczenie była bogatym źródłem wyżej wymienionych makroelementów.

Całkowita zawartość makroskładników w glebie była zróżnicowana i wahała się w zakresie: Ca - 2,65-7,36; Mg- 2,33-5,65; K – 2,52-3,66; P – 0,54-0,85; Na – 0,01-0,22 g · kg<sup>-1</sup> s.m. Spośród analizowanych makroskładników największą zawartość stwierdzono dla wapnia, a najmniejszą dla sodu. Natomiast największą zmienność zarejestrowano dla Na – 43%, następnie w kolejności Ca – 34%; Mg – 26%; P – 9%, a najmniejszą dla K – 8%. Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, że całkowita zawartość makroskładników w glebie eksperymentu doświadczalnego była większa niż w typowych glebach uprawnych. Zarejestrowana zawartość makroskładników w glebie świadczy o dużej żyzności tej gleby. Zawartość mikroskładników w badanej glebie eksperymentu polowego była również zróżnicowana i wahała się w zakresie: Mn – 387-491; Fe - 10393-14026; Co - 1,5-7,5; Zn - 66,27-121,79; Cu – 9,55-12,34; Mo - 0,5-4,2 mg · kg<sup>-1</sup> s.m. Spośród badanych mikroskładników najwięcej stwierdzono Fe, następnie w kolejności Mn, Zn, Cu, Co, Mo. Zawartość mikroskładników w glebie była znacznie większa w porównaniu do zawartości w innych typowych glebach uprawnych.

Zawartość metali ciężkich (Pb, Cd, Ni) w glebie eksperymentu polowego wahała się w zakresie: Pb - 19,29-31,13; Cd - 0,45-0,68; Ni - 14,43-22,31 mg · kg<sup>-1</sup> s.m. gleby. Zawartość metali ciężkich w badanej glebie była mniejsza w porównaniu do innych typowych gleb uprawnych. Badane gleby stanowią więc bogate źródło makroskładników i mikroskładników, niezbędnych dla wzrostu i rozwoju roślin i mikroorganizmów. Zarejestrowana zawartość mikroelementów oraz metali ciężkich w glebie eksperymentu polowego nie występowała w ilościach nadmiernych, przekraczających wartości dopuszczalne określone w rozporządzeniu Ministra Środowiska [Rozporządzenie MŚ 2016].

#### Enzymy glebowe

Gleba jako integralny, wielofunkcyjny składnik wszystkich ekosystemów lądowych odgrywa podstawową rolę w kształtowaniu produktywności siedlisk. Przy szacowaniu jakości

gleb, ocenie wpływu czynników agrotechnicznych na jakość roślin przydatne jest zastosowanie wskaźników enzymatycznych jako bioindykatorów, które umożliwiają, bardziej precyzyjną aniżeli analizy chemiczne, ocenę jakości gleby, żyzności, a także jej zdrowotności. Enzymy glebowe wykorzystując pełny repertuar sił oddziałujących między cząsteczkami katalizują procesy związane z biogeochemicznym krążeniem pierwiastków, pośredniczą w przekształcaniu różnych form energii, np. w procesie fotosyntezy, wymiany gazowej tj. tempa przepływu CO<sub>2</sub>.

Do oceny efektów stosowania użyźniaczy gleby i biostymulatorów na przemiany biochemiczne materii organicznej gleb wykorzystuje się nie tylko aktywność enzymatyczną gleb, ale także pomiary wymiany gazowej czyli tempo przepływu CO<sub>2</sub> pomiędzy wierzchnią warstwą gleby a otaczającym ją powietrzem. Tempo wymiany CO<sub>2</sub> pomiędzy glebą a otaczającym ją powietrzem, jako suma respiracji korzeni roślin i działalności mikroorganizmów, jest ważnym elementem obiegu węgla w ekosystemach naziemnych w rolnictwie ekologicznym. Wyłączając fotosyntezę brutto łąnu, przepływ CO<sub>2</sub> na powierzchni gleby jest największym przepływem węgla w nadziemnym ekosystemie, który istotnie oddziałuje na globalny obieg tego pierwiastka. Analiza wymiany CO<sub>2</sub> pomiędzy glebą a powietrzem, w uprawie roślin w systemie ekologicznym, może być przydatnym wskaźnikiem rozkładu materii organicznej, wzrostu zawartości azotu mineralnego w glebie oraz może świadczyć o aktywności mikroorganizmów glebowych.

W eksperymencie polowym stwierdzono duże zróżnicowanie aktywności enzymatycznej gleby pod wpływem zastosowanych biopreparatów oraz wymiany gazowej (Tabela 40, Tabela 41).

Fosfatazy odgrywają ważną rolę w glebie, ponieważ stymulują przemiany organicznych związków fosforu w nieorganiczne fosforany, bezpośrednio dostępne dla roślin i organizmów glebowych. Fosfatazy są dobrym wskaźnikiem potencjału mineralizacji fosforu organicznego oraz aktywności biologicznej gleby.

W eksperymencie polowym, w przypadku fosfatazy zasadowej, stwierdzono że biostymulator Kelpak SL wpłynął na zwiększenie aktywności enzymatycznej gleby w porównaniu do kontroli. Natomiast biostymulator Asahi SL wpłynął na obniżenie aktywności enzymatycznej gleby w porównaniu do kontroli. W warunkach kontrolnych stwierdzono większy przepływ CO<sub>2</sub>, w porównaniu do obiektów na których stosowano biostymulatory. Z badań wynika, że biostymulatory hamują wymianę gazową w glebie. W odróżnieniu od biostymulatorów, w eksperymencie polowym stwierdzono, że zaprawy biologiczne (Polyversum WP, Serenade ASO) oraz użyźniacze gleby (UG Max, Biogen Revital) wpłynęły

na zmniejszenie aktywności enzymatycznej gleby, natomiast na intensywność wymiany gazowej nie miały istotnego wpływu.

W eksperymencie polowym stwierdzono, że biostymulatory, zaprawy biologiczne oraz użyźniacze gleby wpływały na zwiększenie aktywności fosfataz kwaśnych gleby. Większą aktywność enzymatyczną fosfataz kwaśnych tłumaczy się kwaśnym odczynem oraz dużą zawartością fosforu ogółem w glebie. Większa aktywność fosfataz kwaśnych świadczy o zwiększonej mineralizacji fosforu organicznego oraz aktywności biologicznej gleby w doświadczeniu.

Katalazy (oksydoreduktazy) to enzymy wewnątrzkomórkowe, chroniące komórki przed toksycznym nadtlenkiem wodoru. W glebie występują w komórkach drobnoustrojów wykorzystujących tlen do procesów oddechowych. W doświadczeniu wykazano, że biostymulatory (Kelpak, Asahi) wpłynęły na zwiększenie aktywności katalaz. Natomiast zaprawy biologiczne i użyźniacze gleby zahamowały aktywność katalaz w porównaniu do kontroli.

Ureazy (hydrolazy) katalizują hydrolizę mocznika do dwutlenku węgla i amoniaku. Występują w komórkach wielu roślin wyższych oraz mikroorganizmów glebowych, szczególnie bakterii. Ich aktywność świadczy o intensywności przemian związków azotu w glebie i może być wskaźnikiem dostępności azotu dla roślin. W eksperymencie polowym stwierdzono, że biostymulatory i zaprawy biologiczne hamowały aktywność ureazy. W przypadku użyźniacza gleby UG Max zarejestrowano istotne zwiększenie aktywności ureazy w glebie, co wiązało się z większym udostępnianiem azotu glebowego dla roślin gryki.

Dehydrogenazy (oksydoreduktazy) występują w glebie jako integralna część nienaruszonych, żywych komórek drobnoustrojów, są elementem metabolizmu oddechowego, odgrywają istotną rolę w transformacji organicznych związków węgla. Ich aktywność uznano za miernik ogólnej aktywności mikrobiologicznej gleb. Zastosowane biostymulatory (Klepek SL, Asahi SL) wpłynęły na zwiększenie aktywności dehydrogenaz odpowiedzialnych za transformację organicznych związków węgla. Większa aktywność dehydrogenaz znalazła potwierdzenie w większej koncentracji  $\text{CO}_2$  w powierzchniowej warstwie gleby. Zaaplikowane do gleby zaprawy biologiczne i użyźniacze gleby wpłynęły na zahamowanie aktywności dehydrogenaz, co skutkowało mniej intensywną transformacją materii organicznej w glebie.



Tabela 40. Kształtowanie się właściwości powietrza glebowego pod wpływem zastosowanych biopreparatów

| Czynnik                                                         | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                                                 | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Maksymalna koncentracja CO <sub>2</sub> w powietrzu glebowym[%] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                         | 0,179           | 0,261  | 0,191  | 0,000                        | 0,000        |
| Zaprawa biologiczna                                             | 0,209           | 0,251  | 0,208  | 0,000                        | 0,001        |
| Użyźniacz glebowy                                               | 0,240           | 0,224  | 0,243  | 0,000                        | 0,000        |
| Wilgotność powietrza glebowego [%]                              |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                         | 43,08           | 44,92  | 44,20  | 0,671                        | 0,079        |
| Zaprawa biologiczna                                             | 51,12           | 41,86  | 49,91  | 0,648                        | 0,006        |
| Użyźniacz glebowy                                               | 42,96           | 46,89  | 44,67  | 0,308                        | 0,001        |
| Temperatura powietrza glebowego [°C]                            |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                         | 31,17           | 31,29  | 30,67  | 0,740                        | 0,039        |
| Zaprawa biologiczna                                             | 26,88           | 33,03  | 27,12  | 0,871                        | 0,001        |
| Użyźniacz glebowy                                               | 31,55           | 30,64  | 31,12  | 0,646                        | 0,000        |

Tabela 41. Kształtowanie się aktywności enzymatycznej gleby pod wpływem zastosowanych biopreparatów

| Czynnik                                                                                            | Poziomy czynnik |        |        | Poziom istotności dla efektu |              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------|--------|------------------------------|--------------|
|                                                                                                    | Niski           | Średni | Wysoki | Linowego                     | Kwadratowego |
| Fosfataza zasadowa [mmol PNP · (kg s.m. gleby) <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> ]                   |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                                                            | 0,519           | 0,334  | 0,393  | 0,337                        | 0,235        |
| Zaprawa biologiczna                                                                                | 0,320           | 0,414  | 0,229  | 0,489                        | 0,172        |
| Użyźniacz glebowy                                                                                  | 0,350           | 0,456  | 0,342  | 0,798                        | 0,694        |
| Fosfataza kwaśna [mmol PNP · (kg s.m. gleby) <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> ]                     |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                                                            | 0,584           | 0,670  | 0,676  | 0,331                        | 0,326        |
| Zaprawa biologiczna                                                                                | 0,697           | 0,632  | 0,734  | 0,698                        | 0,464        |
| Użyźniacz glebowy                                                                                  | 0,669           | 0,615  | 0,671  | 0,857                        | 0,755        |
| Katalazy [μmole H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> · (g s.m. gleby) <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup> ] |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                                                            | 8,465           | 7,491  | 7,925  | 0,424                        | 0,122        |
| Zaprawa biologiczna                                                                                | 7,485           | 7,879  | 7,158  | 0,627                        | 0,175        |
| Użyźniacz glebowy                                                                                  | 7,736           | 7,952  | 7,532  | 0,306                        | 0,385        |
| Ureazy [mg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> · (kg s.m. gleby) <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> ]      |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                                                            | 17,733          | 22,613 | 9,921  | 0,905                        | 0,536        |
| Zaprawa biologiczna                                                                                | 8,553           | 24,991 | 8,400  | 0,998                        | 0,547        |
| Użyźniacz glebowy                                                                                  | 32,203          | 14,465 | 10,883 | 0,351                        | 0,445        |
| Dehydrogenaza [μg TPF · (g s.m. gleby) <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> ]                           |                 |        |        |                              |              |
| Biostymulator (zaprawa)                                                                            | 3,561           | 2,995  | 3,234  | 0,696                        | 0,307        |
| Zaprawa biologiczna                                                                                | 3,080           | 3,190  | 2,835  | 0,769                        | 0,450        |
| Użyźniacz glebowy                                                                                  | 2,818           | 3,395  | 3,254  | 0,565                        | 0,718        |

## Podsumowanie

Z analiz chemicznych wynika, że gleba na której zlokalizowano eksperyment polowy cechowała się odczynem kwaśnym, dużą zasobnością węgla i azotu ogółem. Stwierdzono średni poziom zasobności gleby w przyswajalne związki P, K, Mg. Analizowana gleba zawierała dużo makroskładników ogółem oraz mikroskładników. Gleba nie była

zanieczyszczona metalami ciężkimi. W glebie stwierdzono niejednokierunkowy wpływ biopreparatów na aktywność enzymatyczną gleby. Zastosowane biostymulatory, zaprawy biologiczne, użyźniacze glebowe, w warunkach odczynu kwaśnego, wpłynęły na zwiększenie aktywności fosfataz kwaśnych. Fosfatazy kwaśne odpowiedzialne były za biodostępność niezbędnego fosforu dla gryki. Zaprawy biologiczne i użyźniacze glebowe wpłynęły na zwiększoną aktywności fosfatazy kwaśnej. Zaaplikowane biostymulatory (Kelpak SL, Asahi SL) wpłynęły na zwiększenie aktywności fosfatazy zasadowej, katalazy i dehydrogenazy. Natomiast zaprawy biologiczne i użyźniacze glebowe hamowały aktywność fosfatazy zasadowej, katalazy i dehydrogenaz. Zastosowany użyźniacz gleby UG Max wpłynęło na zwiększenie aktywności ureazy, natomiast pozostałe biopreparaty hamowały aktywność tego enzymu. Wykazano, że biostymulatory takie jak Kelpak SL i Asahi SL wpłynęły w największym stopniu na aktywność enzymatyczną gleby, a w konsekwencji poprawiły aktywność biologiczną gleby oraz jej właściwości chemiczne.

#### Literatura

- [1] AOAC: Official methods of analysis of AOAC International. 19th ed. Gaithersburg 2012.
- [2] Barton, H.J., A "zero sample concentration approach". Standardization of methods for the estimation of total antioxidant activity by the use of extrapolation to zero sample concentration. A novel standard. Part 1. ABTS cation radical scavenging. Journal of Agricultural and Food Chemistry. J. Agric. Food Chem. 2010, 58(16), 8918–8926.
- [3] Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP Assay. Anal. Biochem. 1996, 239, 70-76.
- [4] Bielińska E.J., Mocek-Płócinia A. 2014. Enzymy glebowe jako bioindykatory jakości i zdrowotności gleby. Monografia naukowa. Towarzystwo Wydawnictw Naukowych „LIBROPOLIS”, ss. 107. ISBN 978-83-63761-25-7.
- [5] Bogoczek, Romuald, Joanna Leja, and Hanna Pińkowska. "Oznaczanie kwasów karboksylowych za pomocą HPLC." *Prace Naukowe Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu. Technologia* 1.728 (1996): 165-178.
- [6] Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1995, 28, 25-30.
- [7] Cook R. J., 1981. *Fusarium: Diseases, biology and taxonomy*. The Pensylv. St. Univ. Press., Park and London.
- [8] Czuba R./Red./ 1980. *Metody badań laboratoryjnych w stacjach chemiczno-rolniczych. Cz. I. badanie gleb*. Wyd. IUNG, ss. 76.
- [9] Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic Press, (London), ss. 619.
- [10] Ellis M.B., Ellis J.P. 1978. *Microfungi on land plants*. Croom Helm. London, Sydney, ss. 818.
- [11] Hampton J.G., TeKrony D.M. *Handbook of Vigour Test Methods* (3rd edition). International Seed Testing Association, Zurich, ss. 117.

- [12] Justesen U. et al., Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometric detection *J Chromatogr A*, 1998, 799, 101-110
- [13] Kwaśna H., Chełkowski J., Zajkowski P. 1991. Flora Polska, Grzyby (*Mycota*), tom XXII, Sierpik. (*Fusarium*). PAN, Warszawa-Kraków, ss. 137.
- [14] Łabętowicz J. 1998. Wybrane metody analizy chemicznej gleby, roślin i nawozów. Wyd. SGGW-AR, Warszawa, ss. 144.
- [15] Ladd J.N., Butler J.H.A. 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 4, 1, 19-30. [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(72\)90038-7](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(72)90038-7)
- [16] Marcinkowska J., 2003. Oznaczanie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin. Fundacja Rozwój SGGW, ss. 328.
- [17] Mocek A., Drzymała S., Maszner P. 2000. Geneza, analiza i klasyfikacja gleb. Wyd. AR Poznań, ss. 416.
- [18] Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* species. The Pennsylvania State University Press. University Park and London, ss. 193.
- [19] Ostrowska A., Gawliński S., Szczubiałka Z. 1991. Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin. Katalog. Wyd. IOŚ, Warszawa, ss. 334.
- [20] Pidopliczko H. M., 1978. Gryby-parazyty kulturowych roślin. Tom 3. Naukowa Dumka. ss. 230
- [21] Popov I., Lewin G., Antioxidative homeostasis: Characterisation by means of chemiluminescent technique in methods in enzymology. 1999, in *Oxidants and Antioxidants* (ed. L. Packer). Academic Press, Part B, vol. 300, pp. 96–100
- [22] Rauret G., Lopez-Sanchez J.F., Sahuquillo A., Rugio R., Davidson C., Ure A., Quevauviller P.H., 1999. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials. *Journal Environmental Monitoring*, 1, 57-61. DOI:10.1039/A807854H
- [23] Rozporządzenie MŚ. 2016. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi. Dz. U. RP, poz. 1395. <http://isap.sejm.gov.pl/DetailsServlet?id=WDU20160001395>
- [24] Scherer, Rodrigo, et al. "Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices." *Food Chemistry* 135.1 (2012): 150-154.
- [25] Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, 1965;16:144–153.
- [26] Sulewska H., Szymańska G., Pecio A. 2009. Ocena efektów stosowania użyźniacza glebowego UGmax w uprawie kukurydzy na ziarno i kiszonkę. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 54, 4, 120-125.
- [27] Systematyka gleb Polski. 2011. *Roczniki Gleboznawcze*, 62, 3, 1-193. <http://www.ptg.sggw.pl>
- [28] Tabatabai M.A., Bremner J.M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1, 4, 301-307. [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(69\)90012-1](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(69)90012-1)
- [29] Thalmann A. 1968. Zur methodik der bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch Forsch*, 21, 249-258.
- [30] Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A.: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 1991, 74, 3583-3597.
- [31] Zantua M.I., Bremner J.M. 1975. Comparison of methods of assaying urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 7, 4-5, 291-295. [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(75\)90069-3](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(75)90069-3)

## Załącznik



Rysunek 178. Rośliny gryki w fazie listnienia w eksperymencie polowym prowadzonym w 2017 roku (MRiRW – grant 7104)



Rysunek 179. Rośliny gryki w fazie końca kwitnienia w eksperymencie polowym prowadzonym w 2017 roku (MRiRW – grant 7104)

*Kierownik projektu*

*Prorektor ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą*

*Dr hab. inż. Robert Witkowicz*

*Prof. dr hab. inż. Florian Gambuś*