



Analiza ekologicznej metody zaprawiania w aspekcie zwiększenia żywotności i zdrowotności ziaren jęczmienia jarego *Hordeum vulgare* L.

Sławomir Kocira^{*}, *Ewa Czerwińska*^{**}, *Agnieszka Szparaga*^{**}

^{*}*Uniwersytet Przyrodniczy, Lublin*

^{**}*Politechnika Koszalińska*

1. Wstęp

Nasilające się dyskusje i krytyka dotycząca nadmiernej chemizacji rolnictwa oraz zwiększająca się powierzchnia upraw ekologicznych skutkuje ograniczeniem nadmiernego stosowania związków chemicznych i wymusza zainteresowanie biologicznymi metodami ochrony plonu i poprawy jakości nasion (Grzesik i in. 2012, Kocira i in. 2017). Trzeba bowiem mieć na uwadze, że stosując środki chemiczne należy się liczyć z pojawieniem się i gradacją odpornych form patogenów. Wynika to z naruszenia stosunków biotycznych w glebie i zmniejszenia się jej potencjału fitosanitarnego. Środki ochrony roślin, w których substancją czynną są związki występujące w roślinach, stanowią tylko kilka % preparatów dopuszczonych do obrotu w rolnictwie ekologicznym. Współczesne metody stosowane przez biologię molekularną mogą modyfikować cechy roślin uprawnych, w kierunku sprzyjającym ich odporności, ale o wiele tańsze i bezpieczniejsze dla ochrony środowiska jest poszukiwanie gatunków roślin o pozytywnym wpływie na plonowanie roślin (Mrówczyński i in., 2009, Czerwińska i Szparaga 2015). Jednym z podstawowych zabiegów agrotechnicznych, który ma na celu ochronę kiełkujących nasion oraz wschodzących młodych roślin przed patogenami, jest zaprawianie nasion (Fiedorow i in. 2004, Kryczyński i Weber 2010). Grzyby zasiedlające nasiona oraz bytujące w glebie stwarzają duże za-

grożenie dla wschodzących roślin (Frąc i in. 2015). W ostatnich latach duży nacisk kładzie się na wyprodukowanie dobrej jakości produktu, który jest bezpieczny dla zdrowia konsumentów. Jest to skorelowane z mniejszym zużyciem środków chemicznych do zwalczania agrofagów, które zastępowane są przez, np. biopreparaty (Sas-Piotrowska i Piotrowski 2012).

Obecnie wzrosło zainteresowanie innowacyjnymi biopreparatami zwanymi też biostymulatorami, które mogą chronić rośliny przed patogenami. Najwięcej jednak aktualnie prowadzonych badań nad tymi substancjami jest zorientowanych na analizę ich wpływu zarówno na podniesienie jakości plonu (Kocira i in. 2017a-b, Szczepanek 2017a-b, Kocira i in. 2018), jak i zapewnianie bezpieczeństwa konsumentom, przy jednoczesnym braku negatywnego oddziaływania na środowisko naturalne (Dymkowska-Malesa i in. 2014, Kocira i in. 2015a-c).

W kontekście powyższego, wykorzystanie wyciągów z roślin, popularnych w ziołolecznictwie czy medycynie, do zaprawiania nasion może wzmocnić rynek preparatów ochronnych w uprawach systemem ekologicznym lub zrównoważonym. Warunkiem, aby ochrona nasion była skuteczna jest wskazanie takich ekstraktów roślinnych, które stymulując zdolność kiełkowania nasion, jednocześnie ograniczą ich zasiedlenie przez patogeny. Biopreparaty znalazły już zastosowanie praktyczne w ogrodnictwie. Natomiast trudno jest wskazać na praktyczne ich wykorzystanie w uprawach polowych roślin. Są to działania przyszłościowe i będą stanowiły element zintegrowanej ochrony roślin, a zwłaszcza ochrony roślin w systemie rolnictwa ekologicznego.

Badania miały na celu określenie gatunków roślin, których wyciągi jednocześnie działając stymulująco na kiełkowanie ziaren, ograniczały ich kontaminację powierzchniową przez mikroorganizmy. Dodatkowo wskazano, który ze sposobów pozyskiwania wyciągów (macerat, napar, wywar) będzie najskuteczniejszy dla żywotności i zdrowotności badanych ziaren. Jest to niezmiernie ważne, gdyż wykorzystanie wodnych wyciągów w ochronie roślin w rolnictwie integrowanym może spowodować ograniczenie stosowania środków syntetycznych, a w rolnictwie ekologicznym wzmocnić opory środowiska dzięki ochronie jego bioróżnorodności.

2. Materiał i metody badań

Materiałem badawczym były niezaprawione nasiona jęczmienia jarego *Hordeum vulgare* L. odmiany 'Stratus'. Rośliny z których sporządzono wyciągi w postaci maceratów, naparów oraz wywarów do zaprawiania nasion zestawiono w tabeli 1. Wyboru 40 gatunków roślin dokonano na podstawie wyników wcześniej prowadzonych badań *in vivo* nad skutecznością działania ekstraktów wodnych na zdolność kiełkowania różnych gatunków roślin uprawnych.

Wyciągi roślinne w postaci maceratów, naparów oraz wywarów przygotowano zgodnie z przedstawioną metodyką. Macerat – 5 g suszu roślinnego zalewano 100 ml zimnej wody i pozostawiano na 24 h w temperaturze 20°C, po czym sączono; napar – 5 g suszu zalewano 250 ml wrzącej wody i pozostawiono pod przykryciem na 30 minut, po wystudzeniu sączono. Wywar – odważono 8,75 g suszu każdej z roślin i zalewano litrem wody destylowanej. Zawiesinę dokładnie mieszano, odstawiano na 24 godziny i następnie gotowano przez 15 minut. Zagotowane wywary przecedzono przez sito wyłożone gazą do szklanych pojemników i po ostudzeniu wykorzystano do badań (Tyszyńska-Kownacka i Starek 1989). Otrzymane po filtracji wyciągi roślinne zostały wykorzystane do zaprawiania nasion na mokro. Wytrząsano nasiona przez 10 minut w wytrząsarce laboratoryjnej typ 358 A. Nasiona w wyciągach do zaprawiania pozostawiano na 20 godzin w temperaturze 21°C przykryte folią aluminiową (Sas-Piotrowska i Piotrowski 2012).

Doświadczenie wykonano testem bibułowym według norm ISTA 2010 (Międzynarodowe Przepisy Oceny Nasion – Rozdział 7) określając zdolność kiełkowania. Kryteriami oceny była liczba nasion: normalnie kiełkujących; nienormalnie kiełkujących; zdrowych niekiełkujących i martwych (zasiedlonych bakteriami i grzybami). Przy omawianiu uzyskanych wyników badań, wartości zdolności kiełkowania i kontaminacji przedstawiono w odniesieniu do obiektu kontrolnego, którym były ziarna jęczmienia jarego potraktowane jedynie sterylną wodą. Wzór użyty do obliczenia % ziaren w porównaniu do obiektu kontrolnego:

$$X\% = (100 \cdot a/k) - 100 \quad (1)$$

gdzie:

X% – odchylenie od kombinacji kontrolnej,

a – średnia liczba ziaren w badanej próbce,

k – średnia liczba ziaren w próbce kontrolnej.

Tabela 1. Rośliny z których sporządzono wyciągi wodne
Table 1. Plants from which prepared aqueous extracts

1. <i>Acorus calamus</i> L.; Tatarak zwyczajny (korzeń)	21. <i>Lavandula vera</i> L.; Lawenda prawdziwa (kwiaty)
2. <i>Aesculus hippocastanum</i> L.; Kasztanowiec zwyczajny (kora)	22. <i>Levisticum officinale</i> L.; Lubczyk lekarski (korzenie)
3. <i>Aesculus hippocastanum</i> L.; Kasztanowiec zwyczajny (kwiaty)	23. <i>Linum usitatissimum</i> L.; Len zwyczajny (nasiona)
4. <i>Allium sativum</i> L.; Czosnek zwyczajny (cebule)	24. <i>Marrubium vulgare</i> L.; Szanta zwyczajna (ziele)
5. <i>Archangelica officinalis</i> Hoffm.; Arcydzięgiel litwor (korzeń)	25. <i>Matricaria chamomilla</i> L.; Rumianek pospolity (koszyczki)
6. <i>Arctium lappa</i> L.; Łopian większy (korzeń)	26. <i>Melissa officinalis</i> L.; Melisa lekarska (liście)
7. <i>Artemisia absinthium</i> L.; Bylica piołun (ziele)	27. <i>Mentha piperita</i> L.; Mięta pieprzowa (liście)
8. <i>Artemisia vulgaris</i> L.; Bylica pospolita (ziele)	28. <i>Origanum majorana</i> L.; Lebidka majeranek(ziele)
9. <i>Betula verrucosa</i> Ehrh.; Brzoza brodawkowata (liście)	29. <i>Pinus sylvestris</i> L.; Sosna zw. (młode pędy)
10. <i>Calendula officinalis</i> L.; Nagietek lekarski (kwiat)	30. <i>Quercus robur</i> L.; Dąb szypułkowy (kora)
11. <i>Camelina sinensis</i> L.; Herbata czerwona (liście)	31. <i>Ribes nigrum</i> L.; Porzeczka czarna (liście)
12. <i>Carum carvi</i> L.; Kminek zwyczajny (owoce)	32. <i>Rosa canina</i> L.; Róża dzika (owoce)
13. <i>Coriandrum sativum</i> L.; Kolendra siewna (owoce)	33. <i>Salix alba</i> and <i>S. purpurea</i> L.; Wierzba biała i purpurowa (kora)
14. <i>Crataegus oxyacantha</i> L.; Głóg dwuszyszkowy (kwiaty)	34. <i>Sambucus nigra</i> L.; Bez czarny (kwiaty)
15. <i>Equisetum arvense</i> L. (herb); Skrzyp polny (ziele)	35. <i>Saponaria officinalis</i> L.; Mydlnica lekarski (korzenie)
16. <i>Frangula alnus</i> Mill. (bark); Kruszyna pospolita (kora)	36. <i>Satureja hortensis</i> L.; Cząber ogrodowy(ziele)
17. <i>Hyssopus officinalis</i> L. (herb); Hyzop lekarski (ziele)	37. <i>Taraxacum officinale</i> Web.; Mniszek lekarski (korzenie)
18. <i>Inula helenium</i> L. (roots); Oman wielki (korzenie)	38. <i>Urtica dioica</i> L.; Pokrzywa zwyczajna (liście)
19. <i>Juglans regia</i> L. (leaves); Orzech włoski (liście)	39. <i>Verbascum thapsiforme</i> L.; Dziewanna wielokwiatowa (kwiaty)
20. <i>Juniperus communis</i> L. (fruit); Jałowiec pospolity (owoce)	40. <i>Zea mays</i> L.; Kukurydza zwyczajna (znamiona)

W przypadku zdolności kiełkowania, wartości oznaczone (+) wskazują na wzrost kiełkowania w stosunku do obiektu kontrolnego. Podczas, gdy w przypadku zdrowotności ziaren wartości oznaczone znakiem (-) wskazywały na zmniejszoną kontaminację materiału siewnego przez mikroorganizmy w stosunku do próby kontrolnej.

Wszystkie badania przeprowadzoną w pięciu powtórzeniach, a na każde z nich składało się 100 ziaren.

Uzyskane wyniki sprawdzono w programie Statistica 13PL (Stat-Soft) pod kątem jednorodności wariancji testem Levene'a a normalność rozkładu analizowanych zmiennych zweryfikowano za pomocą testu Shapiro-Wilka. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji (ANOVA) z pojedynczą klasyfikacją (P = 95%), oddziel-

nie dla każdej rośliny, z której sporządzono wyciąg, sposobu przygotowania wyciągu i kryterium oceny. Do porównania wyników uzyskanych dla badanych ziaren jęczmienia i kryteriów oceny wykorzystano współczynniki korelacji r (dla $\alpha = 0,05$ oraz dla $\alpha = 0,01$). Istotność współczynnika korelacji przy $P = 95\%$ została oznaczona znakiem “*” a przy $P = 99\%$ znakiem podwójnym “**”. Wyznaczono także najmniejszą istotną różnicę (test Fishera – $NIR_{0,05}$). Analizę statystyczną wykonano przy wykorzystaniu programów ANW (Analiza Wariancji Doświadczeń) oraz ANK (Analiza Korelacji Doświadczeń).

3. Wyniki badań

Analiza wariancji wykazała, że zarówno zdolność kiełkowania jak i liczba zasiedlonych przez mikroorganizmy nasion zmieniały się w zależności od gatunku rośliny, z której sporządzono wyciąg oraz sposobu jego przygotowania. Istotne okazały się również interakcje I i II rzędu.

Traktowanie ziaren jęczmienia jarego wyciągami spowodowało, że zdolność kiełkowania ulegała redukcji przeciętnie o $-0,47\%$ w stosunku do obiektu kontrolnego. Wyciągi sporządzone z różnych gatunków roślin wykazywały niezależnie od sposobu przygotowania odmienne działanie na zdolność kiełkowania badanych nasion.

Zdolność kiełkowania stymulowały wyciągi z $42,50\%$ roślin (zakres od $+1,39\%$ do $+21,63\%$ w stosunku do próby kontrolnej). Najkorzystniej w porównaniu do ziaren kontrolnych działał wyciąg z części zielonych *Marrubium vulgare* (przeciętna zdolność kiełkowania $+21,63\%$), kwiatów *Crataegus oxyacantha* (przeciętna zdolność kiełkowania $+21,35\%$), z kory *Frangula alnus* (przeciętna zdolność kiełkowania $+20,81\%$). Jednak niektóre wyciągi użyte w doświadczeniu inhibitowały, w porównaniu do próby kontrolnej, kiełkowanie ziaren. Zdolność kiełkowania w stosunku do próby kontrolnej ograniczało $57,50\%$ wyciągów (zakres od $-0,97\%$ do $-20,99\%$). Najsilniej wyciąg z owoców *Rosa canina* (przeciętna zdolność kiełkowania $-20,99\%$), z owoców *Juniperus communis* (przeciętna zdolność kiełkowania $-19,70\%$) oraz korzeni *Levisticum officinale* (przeciętna zdolność kiełkowania $-15,88\%$). Pomimo różnic w sile oddziaływania wyciągów na zdolność kiełkowania nasion, uszeregowanie ich pod względem aktywności było istotnie zgodne ($r > r$ granicznego).

Również sposób przygotowania wyciągów niezależnie od pozostałych badanych czynników (tabela 2), różnicował zdolność kiełkowania ziaren jęczmienia jarego. Najkorzystniej, w stosunku do prób kontrolnych, działały wywary (przeciętnie +9,58%), natomiast maceraty ograniczały ją o -4,85%, a napary o -6,14% w stosunku do obiektu kontrolnego. Stwierdzono także, że niezależnie od pochodzenia wyciągu, reakcja badanych ziaren jęczmienia zależała od sposobu ich przygotowania.

Analizując reakcję ziaren na wyciągi wodne (tabela 2), w zależności od ich pochodzenia oraz sposobu przygotowania (interakcja I°) stwierdzono, że spośród 120 badanych kombinacji, w 50,00% przypadków następował (w porównaniu do kombinacji kontrolnej bezwzględnej) istotny wzrost zdolności kiełkowania.

Tabela 2. Zdolność kiełkowania [%] ziaren jęczmienia jarego w zależności od gatunku rośliny, z której przygotowano wyciąg oraz sposobu wykonania ekstraktów roślinnych

Table 2. Germination capacity [%] of barley grains depending on plant species from which prepared extracts and method of its preparation

Gatunek rośliny, z której sporządzono wyciąg	Forma wyciągu			Średnia, %
	Macerat, %	Napar, %	Wywar, %	
<i>Acorus calamus</i>	86,55	97,28	94,87	92,90
<i>Aesculus hippocastanum</i> (kora)	69,47	53,27	96,48	73,07
<i>Aesculus hippocastanum</i>	80,21	81,67	92,12	84,67
<i>Allium sativum</i>	69,37	45,95	97,87	71,07
<i>Archangelica officinalis</i>	65,79	67,48	72,29	68,52
<i>Arctium lappa</i>	74,08	67,39	87,10	76,19
<i>Artemisia absinthium</i>	67,23	62,72	86,37	72,10
<i>Artemisia vulgaris</i>	72,50	44,40	90,65	69,18
<i>Betula verrucosa</i>	72,48	66,56	96,89	78,64
<i>Calendula officinalis</i>	76,15	64,48	72,58	71,07
<i>Camelina sinensis</i>	80,24	85,36	95,09	86,90
<i>Carum carvi</i>	65,92	68,16	66,13	66,74
<i>Coriandrum sativum</i>	74,95	73,03	81,72	76,57
<i>Crataegus oxyacantha</i>	93,82	95,02	93,51	94,12
<i>Equisetum arvense</i>	57,12	49,32	91,46	65,97
<i>Frangula alnus</i>	94,56	92,06	94,48	93,70
<i>Hyssopus officinalis</i>	63,98	70,04	95,10	76,38
<i>Inula helenium</i>	86,58	81,05	83,41	83,68
<i>Juglans regia</i>	82,90	78,98	86,85	82,91
<i>Juniperus communis</i>	60,60	64,92	61,32	62,28
<i>Lavandula vera</i>	67,39	82,83	94,78	81,67
<i>Levisticum officinale</i>	60,42	68,19	67,12	65,24
<i>Linum usitatissimum</i>	78,74	80,69	97,96	85,80

Tabela 2. cd.

Table 2. cont.

Gatunek rośliny, z której sporządzono wyciąg	Forma wyciągu			Średnia, %
<i>Marrubium vulgare</i>	94,57	94,23	94,21	94,34
<i>Matricaria chamomilla</i>	60,93	85,55	66,52	71,00
<i>Melissa officinalis</i>	90,05	94,24	62,45	82,25
<i>Mentha piperita</i>	97,70	91,73	90,98	93,47
<i>Origanum majorana</i>	74,23	64,40	91,79	76,81
<i>Pinus sylvestris</i>	81,09	82,07	85,35	82,84
<i>Quercus robur</i>	76,09	80,29	89,31	81,90
<i>Ribes nigrum</i>	60,62	69,38	87,95	72,65
<i>Rosa canina</i>	66,36	51,17	66,30	61,28
<i>Salix alba</i> i <i>S. purpurea</i>	84,72	80,80	82,09	82,54
<i>Sambucus nigra</i>	44,16	56,70	97,86	66,24
<i>Saponaria officinalis</i>	74,96	57,02	93,87	75,28
<i>Satureja hortensis</i>	67,49	66,50	84,55	72,85
<i>Taraxacum officinale</i>	62,72	86,85	52,06	67,21
<i>Urtica dioica</i>	74,12	41,09	94,79	70,00
<i>Verbascum thapsiforme</i>	59,75	71,28	69,60	66,88
<i>Zea mays</i>	81,41	97,87	93,76	91,01
Obiekt kontrolny	77,56			
NIR: gatunek rośliny = 6,39%; forma wyciągu = 10,72%; interakcja = 13,76%				

Porównując reakcję ziaren jęczmienia na wyciągi użyte do ich zaprawiania okazało się, że pozytywnie na zdolność kiełkowania oddziaływały w mniejszym lub większym stopniu wszystkie formy wyciągów (macerat, napar, wywar) przygotowane z kwiatów *Crataegus oxyacantha*, kory *Frangula alnus*, korzeni *Acorus calamus*, kwiatów *Aesculus hippocastanum*, liści *Camelina sinensis*, korzeni *Inula helenium*, liści *Juglans regia*, nasion *Linum usitatissimum* a także liści *Mentha piperita*.

Najkorzystniej, w odniesieniu do obiektu kontrolnego, na zdolność kiełkowania jęczmienia jarego działały napary przygotowane z 45% badanych roślin (zakres +1,83% do +26,19%), a szczególnie napary przygotowane ze znamion *Zea mays* (przeciętna zdolność kiełkowania +26,19%), z korzeni *Acorus calamus* (przeciętna zdolność kiełkowania +25,43%), z kwiatów *Crataegus oxyacantha* (przeciętna zdolność kiełkowania +22,51%). Maceraty przygotowane z 35,0% (zakres +1,52% do +25,97%) roślin stymulowały zdolność kiełkowania w odniesieniu do ziaren kontrolnych. Najbardziej, gdy przygotowano je z liści *Mentha piperita* (+25,97%), części zielonych *Marrubium vulgare* (+21,93%) oraz kory *Frangula alnus* (+21,92%).

Zdolność kiełkowania jęczmienia podwyższały w stosunku do próby kontrolnej wywary przygotowane aż z 72,50% roślin (zakres +5,37% do +26,30%). Pozytywnym działaniem wykazywały się wywary z nasion *Linum usitatissimum* (+26,30%), kwiatów *Sambucus nigra* (+26,17%) oraz liści *Betula verrucosa* (+24,92%)

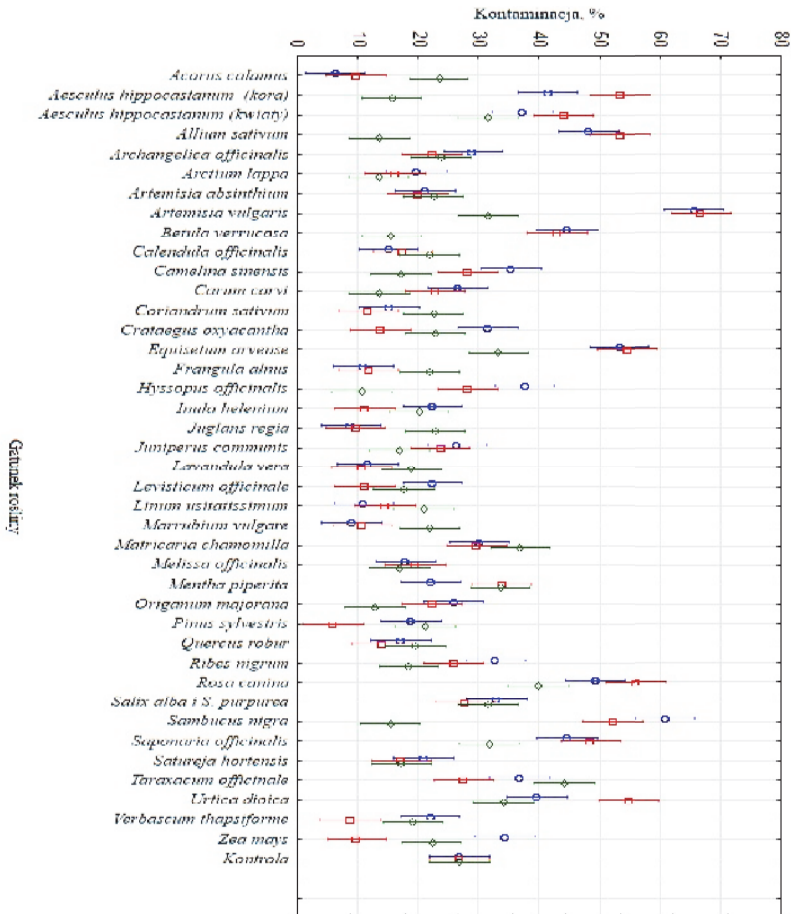
Traktowanie ziarniaków jęczmienia wyciągami roślinnymi spowodowało, że liczba zasiedlonych mikroorganizmami kiełkujących ziaren wzrosła średnio o +1,11% w stosunku do obiektu kontrolnego. Ograniczenie zasiedlenia, w porównaniu do ziaren kontrolnych, obserwowano w przypadku stosowania 57,50% wyciągów (od -0,87% do -46,31%). Najlepsze był wyciągi przygotowane z liści *Juglans regia* (-46,31%), korzeni *Acorus calamus* (-46,01%), oraz części zielonych *Marrubium vulgare* (-45,94%).

Analiza statystyczna zasiedlenia ziaren jęczmienia jarego mikroorganizmami (rysunek 1) wykazała istotne różnice między gatunkami roślin, z których wykonano wyciąg – NIR = 4,23%, formą wyciągu – NIR = 8,36%. Stwierdzono też istotne różnice w interakcji (gatunek rośliny i forma wyciągu) – NIR = 10,35%.

Traktowanie nasion wyciągami z 42,50% ziół powodowało wzrost liczby ziaren z objawami zasiedlenia mikroorganizmami (od +0,83% do +110,04%). Największe, gdy wyciągi przygotowano z części zielonych *Artemisia vulgaris* (+108,27%), owoców *Rosa canina* (+81,72%) oraz części zielonych *Equisetum arvense* (+80,14%).

Traktowanie ziaren jęczmienia naparami z 55,00% roślin powodowało spadek ich skażenia przez mikroorganizmy w zakresie od -1,87% do -65,70%. Największą redukcję zaobserwowano po traktowaniu ziarniaków naparami z młodych pędów (-65,70%), znamion *Zea mays* (-58,36%) oraz liści *Juglans regia* (-56,63%). Maceraty przygotowane z 52,50% roślin wpływały na ograniczenie liczby zasiedlonych ziaren (zakres od -1,5% do -76,51%). Największą redukcję stwierdzono, gdy zastosowano maceraty z korzeni *Acorus calamus* (-76,51%), liści *Juglans regia* (-66,91%) oraz części zielonych *Marrubium vulgare* (-66,54%).

Obserwowano spadek zasiedlenia ziaren jęczmienia w wyniku traktowania ich wywarami z 75,00% roślin. Największy, gdy stosowano wywary z części zielonych *Hyssopus officinalis* (-60,21%), korzeni *Arcium lappa* (-49,88%), a także owoców *Carum carvi* (-49,57%).



Rys. 1. Kontaminacja [%] ziaren jęczmienia jarego mikroorganizmami w zależności od gatunku rośliny, z której przygotowano wyciąg oraz od sposobu wykonania ekstraktów roślinnych

Fig. 1. Contamination [%] of barley grains depending on plant species from which prepared extracts and method of its preparation

Kontaminacja mikroorganizmami ziaren jęczmienia była ograniczona w wyniku zastosowania wszystkich form wyciągów (macerat, napar, wywar) z korzeni *Acorus calamus*, liści *Juglans regia*, części zielonych *Marrubium vulgare*, kwiatów *Lavandula vera*, kory *Frangula alnus*, kory *Quercus robur*.

Wyniki badań dowiodły, że 58,33% spośród 120 badanych kombinacji, ograniczało istotnie w porównaniu do kombinacji kontrolnej

bezwzględnej liczbę zasiedlonych mikroorganizmami ziaren, a 41,67% powodowało jej wzrost. Wszystkie formy wyciągów przygotowanych z części zielonych *Artemisia vulgaris* i owoców *Rosa canina* oraz kwiatów *Sambucus nigra* i liści *Urtica dioica* najsilniej wpłynęły na wzrost kontaminacji powierzchniowej ziaren jęczmienia jarego.

Analiza zróżnicowania zdolności kiełkowania ziaren traktowanych wyciągami sporządzonymi z różnych roślin oraz liczby ziaren z objawami zasiedlenia przez drobnoustroje wykazała, że im silniej wyciągi ograniczały kontaminację nasion mikroorganizmami, tym lepsze było ich kiełkowanie. Potwierdza to współczynnik korelacji (kontaminacja x zdolność), który wynosił -0,77**.

4. Dyskusja

W rolnictwie nie tylko ważna jest reakcja rośliny uprawnej na zaprawy biologiczne, ograniczające jej porażenie przez patogeny. Ważna jest także zdolność do prawidłowego kiełkowania zaprawionych wyciągami nasion (Janas i Grzesik 2005). Z badań prowadzonych przez Sas-Piotrowską i Piotrowskiego (2003), wynika, że aktywność biologiczna ekstraktów roślinnych, zależy od wielu czynników, m.in. od zawartości określonych związków chemicznych i ich zdolności do dyfuzji. Dodatkowo niektóre związki mogą pobudzać rozwój patogenów i zwiększać stopień zanieczyszczenia nasion i ziaren, a inne mogą działać jako czynniki inhibujące. Różnice pomiędzy oddziaływaniem maceratów, naparów i wywarów wynikają z możliwych strat spowodowanych przez odparowanie rozpuszczalnika podczas ich przygotowywania oraz zróżnicowanej rozpuszczalności związków czynnych, zawartych w roślinach (Sas-Piotrowska i Piotrowski 2003). Sas-Piotrowska i in. (2005, 2010) badając żywotność i zdrowotność ziaren zbóż, traktowanych wyciągami roślinnymi z 40 gatunków roślin wykazali istotne zróżnicowane działania wyciągów oraz sposobów ich przygotowania na zdolność kiełkowania i kontaminację ziaren mikroorganizmami. W przypadku badań własnych stwierdzono, że wymienione ekstrakty wodne działały korzystnie także na żywotność ziaren jęczmienia. Wyniki przeprowadzonego doświadczenia znajdują odzwierciedlenie w badaniach Czerwińskiej i in. (2015b) prowadzonych na nasionach łubinu żółtego, w których wykazano, że zarówno żywotność nasion jak i zanieczyszczenie przez mikroorganizmy

zmieniały się w zależności od gatunku rośliny zielarskiej oraz sposobu jego przygotowania (macerat, napar, wywar). Zastosowane wyciągi wodne w różnym stopniu ograniczały liczbę zasiedlonych nasion przez bakterie i grzyby, szczególnie sposób przygotowania wyciągu różnicował zasiedlenie nasion (Czerwińska i in. 2015b). Badania Sas-Piotrowskiej i in. (2004), w których wykorzystano do zaprawiania ziaren pszenicy, żyta i pszenżyta 20 wyciągów wodnych, potwierdziły istotne różnicowanie ich działania na żywotność ziaren. Wyróżniły się zaprawy z kory *Frangula alnus* i kwiatów *Crataegus oxyacantha*. Natomiast inhibitująco na wymienioną cechę działały z owoców *Rosa canina*, kwiatów *Sambucus nigra* czy ziela *Artemisia vulgaris* (Sas-Piotrowska i in. 2004). Wyróżnione wyciągi wodne działające pozytywnie na normalne kiełkowanie ziarniaków trzech zbóż w prezentowanych badaniach własnych znalazły się także wśród działających korzystnie na żywotność ziaren jęczmienia.

Badania Sas-Piotrowskiej i in. (2005), w których wykorzystano także 40 wyciągów wodnych wykazały, że żywotność nasion owsa siewnego stymulowały zaprawy z korzeni *Arctium lappa*, kory *Frangula alnus* i ziela *Marrubium vulgare*. W dostępnej literaturze najczęściej wymienianymi roślinami, które mają pozytywny wpływ na żywotność i zdrowotność nasion i ziaren są *Allium sativum*, *Urtica dioica* oraz *Equisetum arvense* (Saniewska i Żuradzka 2001, Pisarek 2003, Pisarek 2006, Burgiel 2005, Jarosz i Gołębiak 2005, Panasiewicz i in. 2007, Stompor-Chrzan 2008). W prezentowanych badaniach własnych nie potwierdzono pozytywnego działania wymienionych roślin.

Analizując wyniki badań własnych i dokonując ich porównania z wynikami uzyskanymi przez innych autorów, należy podkreślić ich ogromne różnicowanie. Pokazują one również, iż może być bardzo trudne znalezienie roślin, które z pozytywnym skutkiem oddziałują na zdolność kiełkowania i liczbę zasiedlonych nasion roślin uprawnych. Jest tak, ponieważ każda z badanych roślin uprawnych reaguje specyficznie na stosowane biopreparaty. Podsumowując można stwierdzić, iż naturalne, roślinne związki grzybobójcze w praktyce rolniczej są stosowane w niewielkim zakresie. Podkreślić należy jednak, że wykorzystanie substancji przeciwdrobnoustrojowych pochodzenia biologicznego, przyczynia się do ochrony środowiska, gdyż szybciej niż fungicydy syntetyczne, ulegają one biodegradacji, a wprowadzane celowo ograniczają np. zachwaszczenie i kształtują środowisko glebowe dla rozwijających się ro-

ślin i wpływają na ich plonowanie (Matyjaszczyk & Sobczak 2011). Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 (art.16, punkt 4 i 5) dopuszcza bowiem możliwość stosowania w rolnictwie ekologicznym preparatów, które w świetle ustawy nie są środkami ochrony roślin, lecz mogą oddziaływać pozytywnie na ich zdrowotność (Dz.U. nr 147 z 2007). Obecnie w wielu ośrodkach badawczych prowadzone są intensywne badania *in vitro* nad mechanizmem działania i bezpieczeństwem ekstraktów roślinnych oraz ich poszczególnych składników. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność kontynuacji badań w zakresie przydatności wyciągów roślinnych do ekologicznego zwalczania, szczególnie niebezpiecznych w uprawach, mikroorganizmów (Hussain i in. 2011, Inouye i in. 2001, Shabbir 2009, Mahesh i Satish 2008).

5. Wnioski

1. Zdolność kiełkowania ziaren jęczmienia jarego oraz liczba ziaren z objawami kontaminacji mikroorganizmami zmieniały się w zależności od pochodzenia wyciągu (gatunku rośliny, z której sporządzono wyciąg) oraz sposobu jego przygotowania.
2. Zdolność kiełkowania ziaren jęczmienia jarego stymulowały wyciągi z 42,50% roślin. Najkorzystniej działał wyciąg z części zielonych *Marrubium vulgare*, kwiatów *Crataegus oxyacantha* i z kory *Frangula alnus*.
3. Porównując przeciętną reakcję ziaren jęczmienia na wyciągi użyte do ich zaprawiania, pozytywnie na zdolność kiełkowania oraz ograniczenie liczby ziaren zasiedlonych przez mikroorganizmy, oddziaływały wywary. Stwierdzono także, że najkorzystniej na kiełkowanie ziaren oraz jednoczesne ograniczenie ich kontaminacji, działały wszystkie formy wyciągów z korzeni *Acorus calamus*, kory *Frangula alnus*, korzeni *Inula helenium*, liści *Juglans regia*, nasion *Linum usitatissimum* oraz młodych pędów *Pinus sylvestris*.
4. Liczbę ziaren zasiedlonych przez mikroorganizmy ograniczało 57,50% wyciągów, a zwłaszcza wyciągi przygotowane z liści *Juglans regia*, korzeni *Acorus calamus* oraz części zielonych *Marrubium vulgare*.
5. Kontaminacja mikroorganizmami ziaren jęczmienia była ograniczona w wyniku zastosowania wszystkich form wyciągów z korzeni *Acorus calamus*, liści *Juglans regia*, części zielonych *Marrubium vulgare*, kwiatów *Lavandula vera*, kory *Frangula alnus* oraz kory *Quercus robur*.

Literatura

- Burgieł, Z.J. (2005). *Czy preparaty roślinne zastąpią syntetyczne fungicydy? Ochrona środowiska naturalnego w XXI wieku - nowe wyzwania i zagrożenia*. Kraków: Wydawnictwo Akademii Rolniczej.
- Czerwińska, E., & Szparaga, A. (2015a). Antibacterial and antifungal activity of plant extract. *Rocznik Ochrony Środowiska*, 17, 209-229.
- Czerwińska, E., Szparaga, A., Deszcz, E. (2015b). Ocena wpływu zaprawiania wyciągami roślinnymi na zdolność kiełkowania nasion łubinu żółtego i grochu siewnego. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Rolnictwo*, 612, 7-19.
- Dymkowska-Malesa, M., Szparaga, A., Czerwińska, E., (2014). Evaluation of polychlorinated biphenyls content in chosen vegetables from warmia and mazury region. *Rocznik Ochrona Środowiska*. 16(1), 290-299.
- Dz.U. nr 147 z 2007, poz.1033. *Ustawa o nawozach i nawożeniu*.
- Fiedorow, Z., Gołębiak, B., Weber, Z. (2004). *Ogólne wiadomości z fitopatologii*. Poznań: Wydawnictwo Akademii Rolniczej 208.
- Fraç M., Oszust K., Kocira A., Kocira S. 2015. Molecular identification of fungi isolated from *Dracocephalum moldavica* L. seeds. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 7, 74-79, DOI: 10.1016/j.aaspro.2015.12.036.
- Grzesik, M., Janas, R., Górnik, K., Romanowska-Duda, Z. (2012). Biologiczne i fizyczne metody stosowane w produkcji i uszlachetnianiu nasion. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 57(3), 147-152.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Rao, J.R., Mazumdar, A. (2011). Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using resazurin in as an indicator of cell growth. *Food Science and Technology*, 44(4), 1199-1206.
- Inouye, S., Uchida, K., Yamaguchi, H. (2001). *In-vitro* and *in-vivo* anti-Trichophyton activity of essential oils by vapour contact. *Mycoses*, 44, 99-107.
- ISTA (2010). *International rules for seed testing*. Zurich: International Seed Testing Association
- Janas, R., Grzesik M. (2005). Zastosowanie środków biologicznych do poprawy jakości nasion roślin ogrodniczych. *Progress in Plant Protection*, 45(2), 739-741.
- Jarosz, A., Gołębiak, B. (2005). Wpływ ekstraktów roślinnych i chitozanu na rozwój skórzastej zgnilizny owoców truskawki (*Phytophthora cactorum*). *Progress in Plant Protection*, 45(2), 749-751.
- Kocira, S., Kocira, A., Szmigielski, M., Piecak, A., Sagan, A., and Malaga-Toboła, U. (2015a). Effect of an amino acids-containing biostimulator on common bean crop. *Przem. Chem.* 94, 1732-1736. doi: 10.15199/62.2015.10.16

- Kocira, A., Kocira, S., and Stryjecka, M. (2015b). Effect of Asahi SL application on common bean yield. *Agric. Agric. Sci. Proc.* 7, 103-107. doi: 10.1016/j.aaspro.2015.12.045
- Kocira, S., Sujak, A., Kocira, A., Wójtowicz, A., and Oniszczyk, A. (2015c). Effect of Fylloton application on photosynthetic activity of Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Agric. Agric. Sci. Proc.* 7, 108-112. doi: 10.1016/j.aaspro.2015.12.002
- Kocira, A., Kocira, S., Swieca, M., Złotek, U., Jakubczyk, A., and Kapela, K. (2017a). Effect of foliar application of a nitrophenolate-based biostimulant on the yield and quality of two bean cultivars. *Sci. Hort.* 214, 76-82. doi: 10.1016/j.scienta.2016.11.021
- Kocira, S., Kocira, A., Kornas, R., Koszel, M., Szmigielski, M., Krajewska, M., et al. (2017b). Effects of seaweed extract on yield and protein content of two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Legume Res.* doi: 10.18805/LR-383
- Kocira, S., Szparaga, A., Kocira, A., Czerwińska, E., Wójtowicz, A., Bronowicka-Mielniczuk, U., et al. (2018). Modeling biometric traits, yield and nutritional and antioxidant properties of seeds of three soybean cultivars through the application of biostimulant containing seaweed and amino acids. *Front. Plant Sci.* 9:388. doi: 10.3389/fpls.2018.00388
- Kryczyński, S., Weber, Z. (2010). *Podstawy fitopatologii*. Poznań: PWRiL 639.
- Mahesh, B., Satish, S. (2008). Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(S), 839–843.
- Matyjaszczyk, E., Sobczak, J. (2011). Środki ochrony roślin zawierające substancje aktywne pochodzenia naturalnego. *Bydgoskie Towarzystwo Naukowe*, 307-310.
- Mrówczyński, M., Korbas, M., Praczyk, T., Gwiazdowski, R., Jajor, E., Pruszyński, G., Wachowiak, H. (2009). Ochrona roślin w integrowanej produkcji rzepaku. *Rośliny Oleiste*, XXX, 245-256.
- Panasiewicz, K., Koziara, W., Sulewska, H., Skrzypczak, W. (2007). Wpływ biologicznych i chemicznych zapraw nasiennych na parametry wigorowe ziarna zbóż. *Progress in Plant Protection*, 47(2), 235-237.
- Pisarek, M. (2003). Próby wykorzystania ekstraktów z roślin leczniczych do zwalczania ślimaków nagich. *Progress in Plant Protection*, 43(2), 866-867.
- Pisarek, M. (2006). Oddziaływanie wodnych wyciągów i naparów z korzeni wybranych roślin zielarskich na żerowanie ślimaków nagich z rodzaju Arion. *Progress in Plant Protection*, 46(2), 334-337.

- Rozporządzenie Rady nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych (Dz.Urz. L 189 z 20.07.2007 r., s.1).
- Saniewska, A., Żuradzka, I. (2001). Comparison of antifungal activity of four cultivars of garlic (*Allium sativum*L.) for several pathogenic fungi. *Folia Horticulturae*, 13/1A, 405-412.
- Sas-Piotrowska B., Piotrowski, W., Kaczmarek-Cichosz, R. (2004). Plant extracts and their influence on some properties of seeds of cultivated plants-grain plants. *Annual Set the Environment Protection*, 6, 77-89.
- Sas-Piotrowska, B., Piotrowski, W. (2003). Wpływ wyciągów roślinnych na żywotność i zdrowotność korzeni roślin strączkowych zarażonych przez *Fusarium oxysporum* (Schl.). *Rocznik Ochrona Środowiska*, 5, 191-202.
- Sas-Piotrowska, B., Piotrowski, W. (2010). Vitality and healthiness of barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds treated with plant extracts. *Journal of Plant Protection Research*, 50(1), 117-124.
- Sas-Piotrowska, B., Piotrowski, W. (2012). Żywotność i zdrowotność nasion *Lupinus angustifolius* L. traktowanych wyciągami roślinnymi. *Rocznik Ochrona Środowiska*, 14, 525-537.
- Sas-Piotrowska, B., Piotrowski, W., Kaczmarek-Cichosz, R. (2005). Longevity and healthiness of oat (*Avena sativa* L.) seeds treated with plant extracts. *Journal of Plant Protection Research*, 45(3), 181-193.
- Shabbir, M.K., Nadeem, R., Mukhtar, H., Anwar, F., Mumtaz, M.W. (2009). Physico-chemical analysis and determination of various chemical constituents of essential oil in *Rosa centifolia*. *Pakistan Journal of Botany*, 41(2), 615-620.
- Stompor-Chrzan, E. (2008). Wpływ wybranych biopreparatów na rozwój plamistości floksa. *Progress In Plant Protection*, 48(2), 277-278.
- Szczepanek, M., Siwik-Ziomek, A., and Wilczewski, E. (2017a). Effect of biostimulant on accumulation of Mg in winter oilseed rape under different mineral fertilization rates. *J Elementol.* 22(4), 1375-1385. doi: 10.5601/jelem.2017.22.1.1317.
- Szczepanek, M., Wilczewski, E., Pobereżny, J., Wszelaczyńska, E., and Ochmian, I. (2017b). Carrot root size distribution in response to biostimulant application. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science.* 67(4), 334-339. doi: 10.1080/09064710.2017.1278783.
- Tyszyńska-Kownacka, D., Starek, T. (1989). *Zioła w polskim domu*. Warszawa: Wydawnictwo Warta.

Analysis of the Ecological Method of Treatment in the Aspect of Increasing the Vitality and Healthiness of Spring Barley Grains *Hordeum vulgare* L.

Abstract

The work presents the results of investigations on the ecological method of spring barley grains dressing, which would improve their vitality and healthiness, without negative impact on natural environment. The experiment evaluated the effect of plant extracts on germination capacity and surface contamination of *Hordeum vulgare* L. grains 'Stratus' variety. In the investigations were used an aqueous extracts, in the form of macerates, infusions and decoctions, prepared from various morphological parts of 40 plant species. The research was aimed at identifying plant species which extracts, while stimulating germination of barley grains, limited their surface contamination by microorganisms. In addition, it was analyzed which method of obtaining extracts most effectively stimulated the vitality and healthiness of the tested grains. The above is extremely important because use of aqueous extracts in plant protection will lead to reduction in the use of synthetic agents in integrated agriculture, and in organic farming can strengthen the resistance of the environment, by protecting its biodiversity. Analysis of the obtained results showed that the activity of the extracts depended on the plant species and the method of preparation of aqueous extracts. The germination capacity of spring barley grains was stimulated by extracts prepared from 42.5% of plants. The most beneficial effect was observed for extracts from the *Marrubium vulgare* green parts, *Crataegus oxyacantha* flowers and *Frangula alnus* bark. The number of barley grains, settled by microorganisms, was limited by 57.5% of extracts, especially extracts prepared from *Juglans regia* leaves, *Acorus calamus* roots and green parts of *Marrubium vulgare*. The grains contamination was limited by the use of all forms of extracts from *Acorus calamus* roots, *Juglans regia* leaves, green parts of *Marrubium vulgare*, *Lavandula vera* flowers, *Frangula alnus* bark and *Quercus robur* bark.

Comparing the average reaction of the spring barley grains to the plant extracts used for their treatment, it was found that decoctions positively affected on the germination capacity and the limitation of the number of contaminated grains. The investigations also showed that preferably on grains germination and simultaneous limitation of its contamination influenced all forms of extracts from *Acorus calamus* roots, *Frangula alnus* roots, *Inula helenium* roots, *Juglans regia* leaves, *Linum usitatissimum* seeds and young sprouts of *Pinus sylvestris*. The observed in many tested combinations improvement in vitality and healthi-

ness of grains may have resulted from the fact that plant extracts were a source of active substances which (in varying degree) inhibited the growth and development of microorganisms. Additionally, the conducted research proved that the effect of plant extracts depended on the method of their preparation, which probably influenced on the formation of different chemical compounds profiles.

Streszczenie

W pracy przedstawiono badania nad ekologicznym sposobem zaprawiania ziaren jęczmienia jarego, który pozwoliłby na poprawę ich żywotności i zdrowotności, przy jednoczesnym braku negatywnego oddziaływania na środowisko naturalne. W doświadczeniu oceniano wpływ działania ekstraktów roślinnych na zdolność kiełkowania oraz kontaminację powierzchniową ziaren *Hordeum vulgare*. odmiany 'Stratus'. Materiałem użytym do badań były wodne wyciągi, w postaci maceratów, naparów i wywarów, wykonane z różnych części morfologicznych 40 gatunków roślin. Badania miały na celu wskazanie gatunków roślin, których ekstrakty jednocześnie działając stymulująco na kiełkowanie ziaren jęczmienia, ograniczały ich kontaminację powierzchniową przez mikroorganizmy. Dodatkowo analizowano, który ze sposobów pozyskiwania ekstraktów najskuteczniej stymulował żywotność i zdrowotność badanych ziaren. Powyższe jest niezmiernie ważne, gdyż wykorzystanie wodnych ekstraktów w ochronie roślin w rolnictwie integrowanym może spowodować ograniczenie stosowania środków syntetycznych, a w rolnictwie ekologicznym wzmocnić opory środowiska, dzięki ochronie jego bioróżnorodności. Analiza uzyskanych wyników wykazała, że aktywność wyciągów zależała od gatunku rośliny oraz sposobu przygotowania ekstraktów wodnych. Zdolność kiełkowania ziaren jęczmienia jarego stymulowały ekstrakty przygotowane z 42,5% roślin. Najkorzystniejszym działaniem charakteryzowały się wyciągi z części zielonych *Marrubium vulgare*, kwiatów *Crataegus oxyacantha* i kory *Frangula alnus*. Liczbę ziaren jęczmienia, zasiedlonych przez mikroorganizmy, ograniczało 57,5% ekstraktów, a zwłaszcza wyciągi przygotowane z liści *Juglans regia*, korzeni *Acorus calamus* oraz części zielonych *Marrubium vulgare*.

Kontaminacja mikroorganizmami ziaren była ograniczona w wyniku zastosowania wszystkich form ekstraktów z korzeni *Acorus calamus*, liści *Juglans regia*, części zielonych *Marrubium vulgare*, kwiatów *Lavandula vera*, kory *Frangula alnus* oraz kory *Quercus robur*.

Porównując przeciętną reakcję ziaren jęczmienia jarego, na ekstrakty roślinne użyte do ich zaprawiania, pozytywnie na zdolność kiełkowania oraz ograniczenie liczby ziaren zasiedlonych przez mikroorganizmy, oddziaływały wywary. Badania wykazały także, że najkorzystniej na kiełkowanie ziaren oraz jednoczesne ograniczenie ich kontaminacji, działały wszystkie formy wyciągów

z korzeni *Acorus calamus*, kory *Frangula alnus*, korzeni *Inula helenium*, liści *Juglans regia*, nasion *Linum usitatissimum* oraz młodych pędów *Pinus sylvestris*. Zaobserwowana w wielu badanych kombinacjach poprawa żywotności i zdrowotności ziaren mogła wynikać z faktu, iż ekstrakty roślinne były źródłem substancji aktywnych, które w różnym stopniu wpływały na zahamowanie wzrostu i rozwoju mikroorganizmów. Dodatkowo badania dowiodły, iż działanie ekstraktów roślinnych było uzależnione od sposobu ich przygotowania, który prawdopodobnie wpłynął na kształtowanie się różnych profili związków chemicznych.

Słowa kluczowe:

ziarna, jęczmień jary, ekstrakty roślinne, zdolność kiełkowania, kontaminacja powierzchniowa, macerat, napar, wywar

Keywords:

grains, spring barley, vegetable extracts, germination capacity, surface contamination, macerate, infusion, decoction