

WYKORZYSTANIE POCHODNYCH CHITOZANU W CELU STYMULACJI WZROSTU ROŚLIN OZDOBNYCH

Piotr Salachna¹

¹ Katedra Ogrodnictwa, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 1, 71-459 Szczecin, e-mail: piotr.salachna@zut.edu.pl

STRESZCZENIE

Obecnie w rolnictwie wzrasta stosowanie bezpiecznych dla środowiska biopolimerów w celu poprawy plonowania roślin. Szczególnie obiecującym biopolimerem jest chitozan i jego pochodne mogące mieć wiele zastosowań w uprawie roślin jako potencjalne biostymulatory. Na temat wpływu ciężaru cząsteczkowego pochodnych chitozanu na wzrost roślin ozdobnych jest niewiele danych. Śniedek Saundersa jest cennym gatunkiem uprawianym w ogrodach, doniczkach i na kwiat cięty, a także ma znaczenie w farmakologii. W eksperymencie zastosowano 0,5% roztwory oligochitozanu o dwóch ciężarach cząsteczkowych (M_w 5000 i M_w 100 000 $g \cdot mol^{-1}$) do otoczkowania cebul. Biopolimery zostały oznaczone metodą HPLC. Stwierdzono, że otoczkowanie cebul w roztworze oligochitozanu miało stymulujący wpływ na większość analizowanych cech biometrycznych, wskaźniki fizjologiczne i plon cebul. Najkorzystniejszy wpływ na jakość kwiatostanów, przewodność szparkową liści i masę cebul potomnych miało traktowanie roślin oligochitozanem o ciężarze cząsteczkowym M_w 100 000 $g \cdot mol^{-1}$.

Słowa kluczowe: biopolimery, biostymulatory, oligochitozan, polisacharydy, śniedek Saundersa

USE OF CHITOSAN DERIVATIVES TO IMPROVE THE GROWTH OF ORNAMENTALS

ABSTRACT

Nowadays, the use of natural biopolymers in the field of agriculture has increased in order to achieve sufficient yields and quality. Chitosan and its derivatives have a great potential with various applications in agriculture. Minimal research on effect of chitosan oligomers with different molecular weight on growth ornamental plants has been published. *Ornithogalum saundersiae* is a valuable species, recommended for cultivation in gardens and green areas, as well as for cut and pot plant. This species can also be potentially used in pharmacology. In the experiment, 0.5% solutions of oligochitosan with molecular weights M_w 5000 and 100,000 $g \cdot mol^{-1}$ were used for coating *Ornithogalum saundersiae* bulbs. The biopolymers have been characterized using HPLC method. The results indicated that oligochitosan significantly enhanced the growth attributes, physiological parameters, as well as the weight and numerical coefficient of bulbs. Oligochitosan with M_w 100,000 $g \cdot mol^{-1}$ proved best and gave maximum width of inflorescence, number of flowers per inflorescence, stomatal conductance and weight of bulbs over the control.

Keywords: biopolymers, Giant Chinchinchee, biostimulants, oligochitosan, polysaccharides

WSTĘP

W ostatnim czasie obserwuje się w sektorze rolniczym wzrost zainteresowania bezpiecznymi dla środowiska stymulatorami, w tym biopolimerami [Kashyap i in. 2015]. Przykładem jest chitozan, pochodna chityny, związek bioaktywny, biokompatybilny i biodegradowalny [Pichyangkura i Chadchawan 2015]. Chitozan to amino-polisacharyd, kopolimer D-glukozaminy z jednostkami

N-acetylo-glukozaminy, połączony wiązaniami β -1/4 glikozydowymi [Katiyar i in. 2015]. Na skalę przemysłową chitozan otrzymuje się głównie w wyniku chemicznej lub enzymatycznej deacetylacji chityny, występującej przede wszystkim w pancerzach krewetek, homarów i krabów [Malerba i Cerana 2016]. W produkcji roślinnej chitozan stosowany jest jako biostymulator wzrostu roślin [Startek i in. 2005, Salachna i Bartkowiak 2008, Salachna i Zawadzińska 2015b, Nge

i in. 2016, Akter Mukta i in. 2017, Gomez i in. 2017, Mahmood i in. 2017] oraz elicytor odporności na patogeny [Wojdyła i Orlikowski 1997, Pospieszny 1997, Pięta i in. 2005, Salachna i in. 2007, Hadwiger 2013, Iriti i Varoni 2015]. Rośliny traktowane chitozanem łagodniej reagują na stresy takie jak susza, zasolenie czy metale ciężkie [Ma i in. 2012, Pichyangkura i Chadchawan 2015, Malerba i Cerana 2016]. Skuteczność chitozanu, jako regulatora wzrostu, w dużym stopniu zależy od genotypu, formy związku, stężenia czy sposobu traktowania materiału roślinnego [Limpanavech i in. 2008, Ramos-Garcia i in. 2009, Kumari i in. 2011, Salachna i in. 2007, Dzung i in. 2011, Salachna i Zawadzińska 2014a, Salachna i Zawadzińska 2015a, Phothi i in. 2017]. Z chitozanu o wysokim ciężarze cząsteczkowym otrzymuje się pochodne oligomery różniące się od produktu wyjściowego właściwościami fizyczno-chemicznymi [Bartkowiak 2001]. Zdepolimeryzowany oligochitozan może wykazywać silniejszą aktywność biologiczną względem roślin niż chitozan [Yin i in. 2010, Dzung i in. 2011, Kapił i in. 2016].

Polska jest liczącym się producentem roślin cebulowych, których asortyment jest systematycznie poszerzany o nowe gatunki i odmiany. Szczególnie interesującą grupą roślin cebulowych są śniedki (*Ornithogalum* L.). Spośród 120 gatunków z tego rodzaju dotychczas zaledwie kilka zostało szerszej poznanych i wprowadzonych do uprawy [Duncan 2013]. Bardzo atrakcyjnym jest śniedek Saundersa (*Ornithogalum saundersiae* Bak.) pochodzący z Afryki Południowej [Salachna i Zawadzińska 2015a]. Ozdobą gatunku są białe kwiaty z charakterystyczną czarnoooliwkową załącznią, zebrane po kilkadziesiąt w okazałe kwiatostany [De Hertogh i Le Nard 1993]. Śniedek Saundersa uprawia się głównie na kwiaty cięte, których wartość sprzedaży na światowych giełdach z roku na rok systematycznie rośnie. Śniedek Saundersa to również atrakcyjna roślina ogrodowa i doniczkowa [Salachna i Zawadzińska 2013], tolerancyjna na zasolenie podłoża [Salachna i in. 2016]. Poza wartością dekoracyjną gatunek jest cenny w farmakologii ze względu na zawartość w cebulach wielu biologicznie czynnych związków o działaniu przeciwnowotworowym [Morzycki i Wojtkielewicz 2005, Chin i in. 2009, Iguchi i in. 2017]. W literaturze brakuje szczegółowych danych na temat nowoczesnych technologii produkcji tej perspektywicznej rośliny.

Mało jest prac dotyczących wykorzystania oligochitozanu o zróżnicowanym ciężarze czą-

steczkowym w uprawie roślin ozdobnych, stąd w niniejszej pracy podjęto próby określenia wpływu pochodnych chitozanu na wzrost, wybrane wskaźniki fizjologiczne, kwitnienie i plon cebul śniedka Saundersa.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono w latach 2013–2014 na terenie Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie (53° 25' N, 14° 32' E). Materiałem do badań były co roku cebule śniedka Saundersa o obwodzie 14–16 cm, pochodzące z holenderskich plantacji. Do czasu sadzenia cebule przechowywano na sucho, w ciemności, w temperaturze 22–25 °C. Cebule przed sadzeniem otoczkowano przez 30 minut w wodnych roztworach oligochitozanów o ciężarze cząsteczkowym M_w 5000 i 100 000 $g \cdot mol^{-1}$, w stężeniu 0,5% [Bartkowiak i in. 2008]. Obiektem kontrolnym były cebule moczone w wodzie destylowanej. Oligochitozany, o średnim stopniu deacetylacji $\approx 85\%$, otrzymano na drodze kontrolowanej degradacji wolnorodnikowej w Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Oligochitozany zostały oznaczone metodą HPLC (SmartLine Knauer, Niemcy; Tessek Separon HEMA-BIO 40 kolumna – Tessek, Republika Czeska). Cebule sadzono co roku w pierwszej dekadzie maja do polietylenowych skrzynek o wymiarach 60 cm \times 40 cm \times 19 cm, wypełnionych odkwaszonym torfem (Kronen, Polska) o pH 6,2 i średniej zawartości makroskładników: 18 $mg \cdot dm^{-3}$ N-NO₃, 57 $mg \cdot dm^{-3}$ P i 19 $mg \cdot dm^{-3}$ K. Do substratu dodawano nawóz Hydrocomplex (Yara International ASA, Norwegia) zawierający 12% N; 11% P₂O₅; 18% K₂O; 2,7% MgO; 8% S; 0,015% B; 0,2% Fe; 0,02% Mn i 0,02% Zn; w dawce 5 $g \cdot dm^{-3}$. W każdej skrzynce sadzono po 8 cebul, w rozstawie 10 cm \times 10 cm. Rośliny uprawiano w warunkach naturalnego fotoperiodu, w nie ogrzewanym tunelu foliowym z pompowaną podwójną folią. Temperaturę powietrza regulowano z pomocą wietrzników, które były otwierane, gdy temperatura przekraczała 20 °C. Określano liczbę dni od sadzenia do początku kwitnienia roślin, gdy otworzył się pierwszy kwiat w kwiatostanie. W stadium pełni kwitnienia roślin przeprowadzono pomiary cech morfologicznych oraz wskaźników fizjologicz-

nych. Pomiar indeksu zieloności liści mierzono w jednostkach niemianowanych, nazywanych odczytami SPAD (ang. Soil Plant Analysis System) przy użyciu miernika Chlorophyll Meter SPAD-502 (Minolta, Japonia). Przewodnictwo szparkowe było określane przy użyciu porometru SC1 (Dekagon Devices, USA). Pomiar wskaźników fizjologicznych wykonywano w godzinach 9.00–12.00, przy bezchmurnej pogodzie, na czterech w pełni rozwiniętych liściach każdej rośliny, po cztery odczyty na każdym liściu. Po zakończeniu uprawy, w połowie października, rośliny wyjmowano z podłoża i po lekkim przesuszeniu liczone i ważono cebule w celu obliczenia współczynników rozmnażania.

Doświadczenie prowadzono jako jednoczynnikowe w układzie podbloków losowych, w pięciu powtórzeniach, po 8 roślin w każdym. Uśrednione wyniki pomiarów z dwóch lat badań zweryfikowano statystycznie wykorzystując model analizy wariancji (ANOVA), a uzyskane średnie pogrupowano, stosując test Tukeya na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Do obliczeń zastosowano program Statistica 12.0 (Statsoft, Polska).

WYNIKI BADAŃ I Dyskusja

Wyniki badań wskazały, że otoczkowanie cebul w roztworze oligochitozanu miało istotny wpływ na większość analizowanych cech (tab. 1). Niezależnie od ciężaru cząsteczkowego związku, rośliny traktowane biopolimerami były wyższe, miały dłuższe liście oraz szersze blaszki liściowe w porównaniu z kontrolą. Ponadto w wyniku działania oligochitozanu rośliny wytworzyły szersze i dłuższe kwiatostany, o zwiększonej liczbie kwiatów. Stwierdzono, że najdłuższe liście i najszersze kwiatostany, z największą liczbą kwiatów, miały rośliny po aplikowaniu oligochitozanu o ciężarze cząsteczkowym M_w 100 000 $g \cdot mol^{-1}$. Nie wykazano, aby otoczkowanie cebul w biopolimerach wpłynęło na liczbę liści i kwiatostanów oraz średnicę pojedynczego kwiatu. Uzyskane wyniki są zbieżne z wcześniejszymi badaniami [Salachna i in. 2015], w których wykazano stymulujący wpływ pochodnych chitozanu na wybrane cechy morfologiczne roślin. W wyniku moczenia bulw frezji w roztworze chitozanu o ciężarze cząsteczkowym 50 i 970 kDa uzyskano wyższe rośliny, o zwiększonej liczbie pędów i liści, w porównaniu do kontroli [Salachna i Zawadzińska 2014]. Dodanie do po-

żywki w kulturach *in vitro* chitozanu o ciężarze cząsteczkowym 16 kDa zwiększyło wysokość pędów i świeżą masę chryzantemy, zatrzianu, eustomy i truskawki [Luan i in. 2005]. Także u wielu rodzajów z rodziny storczykowatych wykazano pozytywny wpływ chitozanu na wzrost i rozwój roślin, przy czym efekt działania zależał od właściwości fizykochemicznych polimeru [Nge i in. 2006, Limpanavech i in. 2008, Kumari i in. 2011]. Stymulujące działanie chitozanu może być efektem zmian w metabolizmie roślin [Kashyap i in. 2015]. Udowodniono, że chitozan wpływa na morfologię tkanek i komórek, procesy fizjologiczne i biochemiczne oraz ekspresję genów [Limpanavech i in. 2008, Hadwiger 2013, Katiyar i in. 2015, Malerba i Cerana 2016]. Ponadto chitozan indukuje w roślinie mechanizmy obronne przed czynnikami stresowymi [Yang i in. 2009, Ma i in. 2012] oraz intensyfikuje procesy fizjologiczne [Pichyangkura i Chadchawan 2015], dzięki którym rośliny są wzmocnione i cechują się znaczącym przyrostem biomasy.

Termin rozpoczęcia kwitnienia ma decydujące znaczenie w produkcji roślin ozdobnych, szczególnie na kwiaty cięte pod osłonami. W badaniach własnych otoczkowanie cebul w roztworze oligochitozanu przyspieszyło kwitnienie roślin o 13,5 dnia (tab. 1). Ciężar cząsteczkowy biopolimeru nie miał wpływu na analizowaną cechę. Uzyskane wyniki wydają się potwierdzać wcześniejsze obserwacje, że chitozan i jego pochodne mogą wpływać na przebieg faz rozwojowych roślin, przyspieszać wschody [Ramos-Garcia i in. 2009] i kwitnienie roślin (Ohta i in. 1999, Ohta i in. 2004, Limpanavech i in. 2008, Salachna i in. 2008, Salachna i Zawadzińska 2014).

W tabeli 2 przedstawiono wyniki dotyczące wpływu oligochitozanu na wskaźniki fizjologiczne roślin. U roślin traktowanych biopolimerem stwierdzono zwiększony indeks zazielenienia i wyższe przewodnictwo szparkowe liści. Zastosowanie różnych ciężarów cząsteczkowych polimeru nie spowodowało istotnych zmian w wartościach obu ocenianych wskaźników. Zwiększenie zawartości chlorofilu w efekcie stosowania chitozanu, potwierdzone w wielu pracach (Dzung i in. 2011, Salachna i Zawadzińska 2014, Salachna i Zawadzińska 2015c, Phothi i in. 2017, Salachna i in. 2017) związane może być z wynikiem zwiększonego pobierania składników pokarmowych przez rośliny, co miało miejsce w badaniach Dzung i in. (2011). Cytowani autorzy wykazali, że siewki kawy opryskiwane roztworem chito-

Tabela 1. Wpływ oligochitozanu o różnym ciężarze cząsteczkowym na cechy morfologiczne śniedka Saundersa
Table 1. Effects of oligochitosan with different molecular weight on morphological features of Giant Chinchinchee

| Cechy morfologiczne | Ciężar cząsteczkowy oligochitozanu ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) | | |
|-------------------------------|---|--------------------|-------------------|
| | 0 (kontrola) | M_w 5000 | M_w 100 000 |
| Wysokość roślin (cm) | 121 ^{b*} | 139 ^a | 145 ^a |
| Szerokość roślin (cm) | 32,7 ^b | 33,1 ^{ab} | 35,6 ^a |
| Długość liścia (cm) | 67 ^c | 70 ^b | 74 ^a |
| Szerokość liścia (cm) | 5,7 ^b | 6,2 ^a | 6,1 ^a |
| Liczba liści na roślinie | 6,9 ^a | 7,1 ^a | 7,0 ^a |
| Długość szypuła (cm) | 127 ^b | 136 ^a | 134 ^a |
| Liczba kwiatostanów z cebuli | 1,0 ^a | 1,0 ^a | 1,0 ^a |
| Wczesność kwitnienia (dni) | 87 ^b | 72 ^a | 75 ^a |
| Szerokość kwiatostanu (cm) | 8,3 ^c | 8,9 ^b | 9,5 ^a |
| Liczba kwiatów w kwiatostanie | 67 ^c | 79 ^b | 83 ^a |
| Średnica kwiatu (cm) | 3,7 ^a | 3,6 ^a | 3,6 ^a |

* Średnie w rzędach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się między sobą istotnie przy $\alpha = 0,05$.

Tabela 2. Wpływ oligochitozanu o różnym ciężarze cząsteczkowym na indeks zazielenienia i przewodnictwo szparkowe liści śniedka Saundersa
Table 2. Effects of oligochitosan with different molecular weight on stomatal conductance and green index (SPAD) of Giant Chinchinchee

| Wskaźniki fizjologiczne | Ciężar cząsteczkowy oligochitozanu ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) | | |
|-----------------------------|---|-------------------|--------------------|
| | 0 (kontrola) | M_w 5000 | M_w 100 000 |
| Indeks zazielenienia (SPAD) | 49,5 ^{b*} | 56,7 ^a | 57,55 ^a |
| Przewodnictwo szparkowe | 70,3 ^c | 80,2 ^b | 85,3 ^a |

* Średnie w rzędach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się między sobą istotnie przy $\alpha = 0,05$.

zanu o ciężarze cząsteczkowym 600 kDa miały większą zawartość w liściach azotu, fosforu oraz potasu. Ponadto w doświadczeniu tym udowodniono, że opryskiwanie chitozanem zwiększyło parametry fotosyntezy, co obserwowano również w niniejszej pracy analizując przewodność szparkową liści.

Jak wynika z tabeli 3, stosowanie oligochitozanu miało istotny wpływ na plon cebul. W stosunku do kontroli rośliny traktowane biopolimerem cechowały się zwiększonym współczynnikiem przyrostu liczby i masy cebul. Największy współczynnik przyrostu masy cebul zaobserwowano po aplikacji oligochitozanu o ciężarze czą-

steczkowym M_w 100 000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Podobny, korzystny efekt działania chitozanu i jego pochodnych na plon bulw wykazano we wcześniejszych badaniach u frezji [Salachna i Zawadzińska 2014] i mieczyka [Ramos-García i in. 2009]. Jak wynika z doniesień [Salachna i Zawadzińska 2014b, Salachna i in. 2015, Salachna 2016] chitozan stymuluje u geofitów rozwój systemu korzeniowego, polepsza efektywność pobierania przez korzenie składników odżywczych i wody [Dzung i in. 2011, Pichyangkura i Chadchawan 2015, Kashyap i in. 2015, Katiyar i in. 2015], co może w efekcie wiązać się ze intensyfikacją wzrostu i wytworzeniem większych cebul czy bulw.

Tabela 3. Wpływ oligochitozanu o różnym ciężarze cząsteczkowym na przyrost liczby i masy cebul śniedka Saundersa
Table 3. Effects of oligochitosan with different molecular weight on coefficient propagation of Giant Chinchinchee

| Współczynniki rozmnażania | Ciężar cząsteczkowy oligochitozanu ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) | | |
|---------------------------|---|------------------|------------------|
| | 0 (kontrola) | M_w 5000 | M_w 100 000 |
| Liczbowy | 1,3 ^{b*} | 1,8 ^a | 1,7 ^a |
| Wagowy | 1,6 ^c | 1,9 ^b | 2,2 ^a |

* Średnie w rzędach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się między sobą istotnie przy $\alpha = 0,05$.

PODSUMOWANIE

Przedstawione wyniki badań wykazały przydatność oligochitozanu, jako biostymulatora w uprawie śnieodka Saundersa. Najsilniejszy wpływ na jakość kwiatostanów, przewodność szparkową liści i masę cebul potomnych miało użycie oligochitozanu o ciężarze cząsteczkowym M_w 100 000 $g \cdot mol^{-1}$. Danych na temat nowoczesnych i proekologicznych metod technologii produkcji śnieodka Saundersa brakuje dlatego uzyskane wyniki mogą być źródłem cennych informacji dla producentów roślin ogrodniczych i zielarskich zainteresowanych uprawą tego gatunku.

LITERATURA

1. Akter Mukta J., Rahman M., As Sabir A., Gupta D.R., Surovy M.Z., Rahman M., Islam M.T. 2017. Chitosan and plant probiotics application enhance growth and yield of strawberry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11, 9–18.
2. Bartkowiak A. 2001. Binary polyelectrolyte microcapsules based on natural polysaccharides. Wydawnictwo Politechniki Szczecińskiej, Szczecin.
3. Bartkowiak A., Startek L., Żurawik P., Salachna P. 2008. Sposób wytwarzania otoczek hydrożelowych na powierzchni organów roślinnych. Patent PL Nr 197101. Departament Wydawnictw Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej, 1–6.
4. Chin Y.W., Yoon K.D., Kim J. 2009. Cytotoxic anticancer candidates from terrestrial plants. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 9 (8), 913–942.
5. De Hertogh A.A., Le Nard M. 1993. *Ornithogalum*. W: A.A. De Hertogh, M. Le Nard (red.), *The Physiology of Flower Bulbs*. Elsevier, Amsterdam.
6. Duncan G.D. 2013. Geophyte research and production in South Africa. W: *Ornamental geophytes: From basic science to sustainable production*, Kamenetsky, R., Okubo, H. (red.). Taylor and Francis Group LLC, Boca Raton, 487.
7. Dzung N.A., Khanh V.T.P., Dzung T.T. 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymers*, 84, 751–755.
8. Gomez H.G., Godina F.R., Ortiz H.O., Mendoza A.B., Torres V.R., De La Fuente M.C. 2017. Use of chitosan-PVA hydrogels with copper nanoparticles to improve the growth of grafted watermelon. *Molecules*, 22 (7), 1031.
9. Hadwiger L.A. 2013. Plant science review: Multiple effects of chitosan on plant systems: Solid science or hype. *Plant Science*, 208, 42–49.
10. Iguchi T., Kuroda M., Naito R., Watanabe T., Matsuo Y., Yokosuka A., Mimaki Y. 2017. Structural characterization of cholestane rhamnosides from *Ornithogalum saundersiae* bulbs and their cytotoxic activity against cultured tumor cells. *Molecules*, 22 (8), 1243
11. Iriti M., Varoni E.M. 2015. Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(4), 2935–2944.
12. Kapil K., Kumar N.S., Rakesh N., Vivek G., Kumar C.H. 2016. Synthetic strategies and pharmaceutical importance of structurally modified chitosans. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 20 (2), 42–60.
13. Kashyap P.L., Xiang X., Heiden P. 2015. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 77, 36–51.
14. Katiyar D., Hemantaranjan A., Singh B. 2015. Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(1), 1–9.
15. Kumari, S., Singh, J., Panj, F.G., Gupta, P. and Sangwan, A. 2011. Effect of chitosan on vegetative propagation and growth of orchid (*Dendrobium cv. Sonia*). *Annals of Biology*, 27(2), 175–178.
16. Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A. and Bangyeekhun, T. 2008. Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid. *Scientia Horticulturae*, 116(1), 65–72.
17. Luan L.Q., Ha V.T.T., Nagasawa N., Kume T., Yoshii F., Nakanishi T.M. 2005. Biological effect of irradiated chitosan on plants in vitro. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 41, 49–57.
18. Ma L., Li Y., Yu C., Wang Y., Li X., Chen Q., Bu N. 2012. Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress. *Protoplasma*, 249, 393–399.
19. Mahmood N., Abbasi N.A., Hafiz I.A., Ali I., Zakhia S. 2017. Effect of biostimulants on growth, yield and quality of bell pepper cv. Yolo wonder. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 54 (2), 311–317.
20. Malerba M., Cerana R. 2016. Chitosan effects on plant systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 17 (7), 996.
21. Morzycki J., Wojtkielewicz A. 2005. Synthesis of a highly potent antitumor saponin OSW-1 and its analogues. *Phytochemistry Reviews*, 4, 259–277.
22. Nge K.L., New N., Chandkrachang S., Stevens

- W.F. 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. *Plant Science*, 170, 1185–1190.
23. Ohta K., Morishita S., Suda K., Kobayashi N., Hosoki T. 2004. Effects of chitosan soil mixture treatment in the seedling stage on the growth and flowering of several ornamental plants. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 73, 66–68.
 24. Ohta K., Taniguchi A., Konishi N., Hosoki T. 1999. Chitosan treatment affects plant growth and flower quality in *Eustoma grandiflorum*. *HortScience*, 34, 233–234.
 25. Phothi R., Theerakarunwong C.D. 2017. Effect of chitosan on physiology, photosynthesis and biomass of rice (*Oryza sativa* L.) under elevated ozone. *Australian Journal of Crop Science*, 11 (5), 624–630.
 26. Pichyangkura R., Chadchawan S. 2015. Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 49–65.
 27. Pięta D., Patkowska E., Pastucha A. 2005. Efektywność ochronnego działania biopreparatów stosowanych jako zaprawy do fasoli zwykłej (*Phaseolus vulgaris* L.) i grochu (*Pisum sativum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 4(2), 59–67.
 28. Pospieszny H. 1997. Niektóre aspekty stosowania chitozanu w ochronie roślin. *Progress in Plant Protection*, 37 (1), 306–309.
 29. Ramos-García M., Ortega-Centeno S., Hernández-Lauzardo A.N., Alia-Tejagal I., Bosquez-Molina E., Bautista-Baños S. 2009. Response of gladiolus (*Gladiolus* spp) plants after exposure corms to chitosan and hot water treatments. *Scientia Horticulturae*, 121(4), 480–484.
 30. Salachna P. 2016. Wykorzystanie biodegradowalnych polimerów w rozmnażaniu ozdobnych roślin cebulowych. *Inżynieria Ekologiczna*, 46, 143–148.
 31. Salachna P., Bartkowiak A. 2008. Wpływ miejsca uprawy i chitozanu o różnym ciężarze cząsteczkowym na wzrost i plonowanie frezji odmiany ‘Lisa’. Część I. Cechy morfologiczne i kwitnienie. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 525, 367–374.
 32. Salachna P., Bartkowiak A., Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Placek M. 2007. Ocena wpływu chitozanu na plon i zdrowotność bulw frezji (*Freesia* Eckl. ex Klatt) odmiany ‘Versailles’. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu CCCLXXXIII, Ogrodnictwo*, 41, 177–181.
 33. Salachna P., Byczyńska B., Jeziorska I., Udytc E. 2017. Plant growth of *Verbena bonariensis* L. after chitosan, gellan gum or iota-carrageenan foliar applications. *World Scientific News*, 62, 111–123.
 34. Salachna P., Wilas J., Zawadzińska A. 2015. The effect of chitosan coating of bulbs on the growth and flowering of *Ornithogalum saundersiae*. *Acta Horticulturae*, 1104, 115–118.
 35. Salachna P., Zawadzińska A. 2014. Effect of chitosan on plant growth, flowering and corms yield of potted freesia. *Journal of Ecological Engineering*, 15 (3), 97–102.
 36. Salachna P., Zawadzińska A. 2014a. Optimization of *Ornithogalum saundersiae* Baker propagation by twin scale cuttings with the use of biopolymers. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 10, 514–518.
 37. Salachna P., Zawadzińska A. 2015b. Comparison of growth, flowering and bulbs yield of four *Ornithogalum* L. species grown in the ground. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*, 318(34) 2, 57–64
 38. Salachna P., Zawadzinska A. 2015c. Comparison of morphological traits and mineral content in *Eucomis autumnalis* (Mill.) Chitt. plants obtained from bulbs treated with fungicides and coated with natural polysaccharides. *Journal of Ecological Engineering*, 16 (2), 136–142.
 39. Salachna P., Zawadzińska A., Podsiadło C. 2016. Response of *Ornithogalum saundersiae* Bak. to salinity stress. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 15(1), 123–134.
 40. Salachna P., Zawadzińska P., Wilas J. 2015. The use of natural polysaccharides in *Eucomis autumnalis* (Mill.) Chitt. propagation by twin-scale cuttings. *Acta Horticulturae*, 1104, 225–227.
 41. Salachna P., Zawadzińska, A. 2013. The effects of flurprimidol concentrations and application methods on *Ornithogalum saundersiae* Bak. grown as a pot plant. *African Journal of Agricultural Research*, 8(49), 6625–6628.
 42. Startek L., Bartkowiak A., Salachna P., Kaminska M., Mazurkiewicz-Zapałowicz K. 2005. The influence of new methods of corm coating on freesia growth, development and health. *Acta Horticulturae*, 673, 611–616.
 43. Wojdyła A., Orlikowski L. 1997. Chitozan w zwalczaniu grzybów doglebowych i nalistnych. *Progress in Plant Protection*, 37 (1), 300–305.
 44. Yang F., Hu J., Li J., Wu X., Qian Y. 2009. Chitosan enhances leaf membrane stability and antioxidant enzyme activities in apple seedlings under drought stress. *Plant Growth Regulation*, 58, 131–136.
 45. Yin H., Zhao X., Du Y. 2010. Oligochitosan: A plant diseases vaccine – A review. *Carbohydrate Polymers*, 82 (1), 1–8.