

WYKORZYSTANIE BIODEGRADOWALNYCH POLIMERÓW W ROZMNAŻANIU OZDOBNYCH ROŚLIN CEBULOWYCH

Piotr Salachna¹

¹ Katedra Ogrodnictwa, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin, e-mail: piotr.salachna@zut.edu.pl

STRESZCZENIE

Syntetyczne regulatory wzrostu mają negatywny wpływ na środowisko stąd coraz częściej w ogrodnictwie wykorzystuje się naturalne biostymulatory. Niektóre naturalne polimery wykazują stymulujący wpływ na wzrost i rozwój roślin. Związki te mogą być stosowane do tworzenia hydrożelowych otoczek na powierzchni organów roślinnych w celu ochrony przed niekorzystnym wpływem czynników zewnętrznych. Gatunki eukomis są powszechnie stosowane w tradycyjnej medycynie Afryki Południowej i znajdują szerokie zastosowanie jako ozdobne rośliny cebulowe. Celem badań było określenie wpływu otoczkowania w biopolimerach sadzonek dwułuskowych dwóch odmian eukomis czubatej ('Sparkling Burgundy' i 'Twinkly Stars') na plon i jakość uzyskanych cebul przybyszowych. Sadzonki otoczkowano w 1% roztworze gumy gellanowej (Phytigel) lub 0,5% roztworze oligochitozanu. Stwierdzono, że otoczkowanie sadzonek w gumie gellanowej miało stymulujący wpływ na liczbę i masę cebul przybyszowych. Najsilniejszy system korzeniowy wytworzyły cebule uformowane na sadzonkach otoczkowanych w oligochitozanie. Porównując odmiany wykazano, że 'Sparkling Burgundy' wytworzyła więcej cebul, które jednocześnie miały większą masę i dłuższe korzenie niż 'Twinkly Stars'.

Słowa kluczowe: eukomis czubata, oligochitozan, guma gellanowa, sadzonki dwułuskowe.

THE USE OF BIODEGRADABLE POLYMERS TO PROPAGATION OF ORNAMENTAL BULBOUS PLANTS

ABSTRACT

Synthesized growth regulators may cause a negative impact on the environment so the use of natural bio-stimulators in horticulture is becoming more popular. Some biopolymers can have a stimulating influence on the growth and development of plants. In addition, polymers can be used to form hydrogel coatings on the surface of plant organs to protect them against the adverse influence of external factors. Eucomis species are widely used in southern African traditional medicine and have a horticultural potential. This study was conducted in order to determine the effect of biopolymer coating of twin-scale cuttings on the yield of *Eucomis comosa* 'Sparkling Burgundy' and 'Twinkly Stars' bulblets. For coating of twin-scale cuttings, 1% solution of gellan gum (Phytigel) or 0.5% solution of oligochitosan were used. Coating of twin-scale cuttings in gellan gum had a positive impact on the number and weight of the bulblets. The highest number of roots and maximum root length were observed in bulblets derived from the twin scale cuttings coating in oligochitosan. A comparison of cultivars showed that 'Sparkling Burgundy' produced more bulblets with longer roots than 'Twinkly Stars'.

Keywords: *Eucomis comosa*, oligochitosan, gellan gum, twin-scale cuttings, pineapple lily.

WSTĘP

Coraz częściej zamiast syntetycznych hormonów roślinnych podejmowane są próby stosowania w rozmnażaniu roślin przyjaznych środowisku biopolimerów pochodzenia naturalnego [Salachna i Zawadzińska 2014a]. Przykładem

jest chitozan, związek zbudowany z cząsteczek D-glukoaminy i N-acetylo-D-glukoaminy liniowo połączonych wiązaniami β -1,4-glikozydowymi. Chitozan charakteryzuje się wysoką bioaktywnością, biodegradowalnością i biogodnością [Hadwiger 2013]. Z chitozanu otrzymuje się oligochitozany różniące się od

produktu wyjściowego właściwościami fizyczno-chemicznymi oraz aktywnością biologiczną [Yin i in. 2010]. Chitozan stymuluje u roślin wzrost i kwitnienie, wpływa na procesy fizjologiczne i biochemiczne, indukuje odporność na patogeny i stresy [Pichyangkura i Chadchawan 2015]. Innym przyjaznym dla środowiska biopolimerem jest guma gellanowa. Jest to rozpuszczalny w wodzie anionowy polisacharyd wytwarzany w wyniku fermentacji tlenowej przez bakterie *Sphingomonas elodea*. Udowodniono, że guma gellanowa stosowana w mikrorozmnażaniu jako alternatywa dla agaru, miała pozytywny wpływ na potencjał regeneracyjny niektórych roślin [Chevreau i in. 1997, Masondo i in. 2015].

Biopolimery mogą być stosowane do formowania hydrożelowych otoczek na powierzchni organów roślinnych celem ich zabezpieczenia przed wpływem negatywnych czynników zewnętrznych. Szczególnie obiecującą jest opatentowana metoda otoczkowania nasion, cebul czy bulw wykorzystująca kompleksy polielektrolitowe [Bartkowiak i in. 2008]. Kompleksy te tworzą się w wyniku oddziaływania anionowych grup funkcyjnych polielektrolitu z kationami metali wielowartościowymi lub w wyniku reakcji na granicy faz stykających się roztworów wodnych polielektrolitów, posiadających grupy funkcyjne o przeciwnych ładunkach. Korzystny wpływ stosowania otoczek z biopolimerów na wzrost i kwitnienie roślin oraz plon bulw i cebul wykazano u frezji, eukomis jesiennej i śniedka Saundersa, przy czym skuteczność działania badanych otoczek związana była z ich składem [Salachna i Zawadzińska 2014b, Salachna i in. 2015a,b].

Krajowy rynek roślin cebulowych wciąż charakteryzuje niski poziom konkurencyjności. W celu zwiększenia pozycji tego działu kwaciarstwa konieczne jest stałe rozszerzanie asortymentu przez wprowadzanie do uprawy gatunków i odmian wcześniej nieznanymi. Eukomis czubata (*Eucomis comosa* (Houtt.) Wehrh.), nazywana warkocznicą, to oryginalna roślina cebulowa z rodziny szparagowatych występująca jako endemit w południowej Afryce. W ofercie rynkowej znajduje się wiele odmian o bardzo dekoracyjnych kwiatostanach i liściach. Rośliny uprawia się na rabatach, w doniczkach i na kwiaty cięte [Carlson i Dole 2014, Carlson i in. 2015]. Gatunek od dawna znajduje zastosowanie w medycynie naturalnej ze względu na właściwości antybakteryjne i przeciwzapalne [Ma-

sondo i in. 2014]. Jak wynika z badań [Salachna i in. 2015c] *E. comosa* wyróżnia się wysoką aktywnością przeciwutleniającą i wysoką zawartością polifenoli, karotenoidów i chlorofili. W stanie naturalnym gatunki eukomis zagrożone są wyginięciem z powodu nadmiernego pozyskiwania dla celów farmakologicznych [Ndhala i in. 2012], dlatego poszukuje się prostych i wydajnych metod umożliwiających szybkie rozmnożenie roślin. Spośród wegetatywnych sposobów reprodukcji eukomis w warunkach *in vivo* opracowana jest segmentacja cebul [Fitchet i van de Venter 1988] i technika sadzonek liściowych [House 2003; Nndwambi i in. 2013; Nndwambi i in. 2014a, Nndwambi i in. 2014b] brakuje natomiast szerszych danych na temat rozmnażania przez sadzonki łuskowe.

W literaturze nie ma informacji na temat zastosowania biopolimerów w reprodukcji eukomis czubatej dlatego założeniem przeprowadzonego doświadczenia było określenie wpływu gumy gellanowej i oligochitozanu na plon i jakość cebul przybyszowych dwóch odmian gatunku, rozmnażanych techniką sadzonek dwułuskowych.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiałem roślinnym w doświadczeniu były sprowadzone z Holandii cebule eukomis czubatej (*Eucomis comosa*) ‘Sparkling Burgundy’ (cebule o obwodzie 16–18 cm) i ‘Twinkly Stars’ (cebule o obwodzie 12–14 cm). W celu ochrony przed chorobami cebule zaprawiano na mokro w zawieszynie Topsinu 0,7% i Kaptanu 1% przez 30 minut. Sadzonki sporządzano 15 marca 2011 r. i 20 marca 2012 roku, wykorzystując co roku po 20 cebul z każdej odmiany. Z każdej cebul usuwano korzenie, suche łuski okrywające i odcinano około 1/3 ich górnej części. Cebule odkażano przez zanurzenie na 30 sekund w 70% roztworze etanolu i cięto podłużnie na 6 segmentów. Z każdego segmentu nożem wycinano sadzonki dwułuskowe połączone fragmentem piętki u nasady. Gotowe sadzonki w celu dezynfekcji moczone 10 sekund w 70% roztworze etanolu. W celu powstania na powierzchni łusek kompleksów polielektrolitowych, sadzonki moczone 5 minut w 1% roztworze NaCl i po wyschnięciu otoczkowano gumą gellanową lub oligochitozanem. Jako źródło gumy gellanowej zastosowano preparat Phytigel (Sigma-Aldrich). Sadzonki moczone w 1%

roztworze gumy gellanowej przez 30 sekund. Oligochitozan o ciężarze cząsteczkowym M_w 48 000 $\text{mg}\cdot\text{mol}^{-1}$ i średnim stopniu deacetylacji DD 85% otrzymano w wyniku degradacji wolnorodnikowej, a jego parametry określono za pomocą metody HPLC (SmartLine Knauer, Tessek Separon Hema-Bio 40) w Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Sadzonki otoczono w 0,5% roztworze oligochitozanu przez 10 minut. Kontrolę stanowiły sadzonki nie traktowane biopolimerami.

Po wysuszeniu sadzonki wymieszano z torfem wysokim i perlitem (1:1, v:v) i umieszczono po 10 sztuk w workach foliowych. Sadzonki przechowywano w workach 20 tygodni w temperaturze 22–25 °C i wilgotności względnej około 80%. Po tym okresie określono liczbę i świeżą masę uzyskanych cebul przybyszowych oraz liczbę i długość korzeni wytworzonych przez cebule.

Doświadczenie założono w układzie całkowicie losowym jako dwuczynnikowe. Pierwszym czynnikiem była odmiana, zaś drugim sposób traktowania sadzonek. W każdej kombinacji wykorzystano 40 sadzonek, po 10 w jednym powtórzeniu. Wyniki z obu lat badań zweryfikowano statystycznie metodą analizy wariancji przy pomocy programu FR-ANALWAR autorstwa profesora Franciszka Rudnickiego z Uniwersytetu Techniczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy. Istotność zróżnicowania średnich oceniono według testu porównań wielokrotnych Tukey'a przy poziomie istotności wynoszącym 95%.

WYNIKI BADAŃ I DISKUSJA

W tabeli 1 przedstawiono wyniki dotyczące wpływu biopolimerów na liczbę i masę uzyskanych cebul przybyszowych dwóch odmian eukomis czubatej. Niezależnie od ocenianej odmiany, więcej cebul uformowało się na sadzonkach traktowanych przed inkubacją gumą gellanową. Zastosowanie tego polimeru wpłynęło korzystnie także na świeżą masę cebul. Z sadzonek otoczonych w oligochitozanie oraz z sadzonek kontrolnych otrzymano istotnie mniej cebul, które jednocześnie cechowały się mniejszą masą. Korzystne działanie gellanu wchodzącego w skład otoczki na liczbę i jakość cebul przybyszowych potwierdzają wcześniejsze badania nad śnieżnikiem Saundersa [Salachna i Zawadzińska 2014a]. Guma gellanowa zastosowana jako czynnik żelujący, miała pozytywny wpływ także na liczbę pędów wytworzonych w kulturach *in vitro* u gruszy [Chevreau i in. 1997], kauczukowca [Hadrami i in. 1993] i eukomis jesiennej [Masondo i in. 2015]. Zdaniem Hadrami i in. [1993] stymulujące działanie gellanu u kauczukowca mogło wynikać z niskiej zawartości w czynniku żelującym fenoli i wysokiej aktywności enzymatycznej, głównie dysmutazy ponadtlenkowej (SOD). Pozytywny wpływ gellanu na wzrost roślin można wytłumaczyć także tym, iż polimer zawiera rozpuszczalne w wodzie substancje o działaniu hormonalnym [Arthur i in. 2004], makroelementy [Scherer i in. 1988], kwas glikuronowy, ramnozę i glukozę [Chevreau i in. 1997].

Porównując obie odmiany wykazano, że z sadzonek 'Sparkling Burgundy' uzyskano więcej

Tabela 1. Wpływ otoczkowania sadzonek dwułuskowych w biopolimerach na liczbę i świeżą masę cebul przybyszowych dwóch odmian eukomis czubatej

Table 1. The effect of biopolymers coating of twin-scales cuttings on the number and the fresh weight of adventitious bulbs of *Eucomis comosa* cultivars

| Odmiana (A) | Traktowanie (B) | | | Średnia (A) |
|--|--|----------------|---------------|-------------|
| | kontrola | guma gellanowa | oligochitozan | |
| Liczba cebul przybyszowych uzyskanych z sadzonki | | | | |
| 'Sparkling Burgundy' | 0,31 | 0,40 | 0,31 | 0,34 |
| 'Twinkle Stars' | 0,22 | 0,26 | 0,22 | 0,23 |
| Średnia (B) | 0,26 | 0,33 | 0,26 | – |
| NIR _{0,05} | A = 0,032; B = 0,047; A × B = różnice nieistotne | | | |
| Świeża masa cebuli przybyszowej (g) | | | | |
| 'Sparkling Burgundy' | 1,44 | 2,10 | 1,90 | 1,81 |
| 'Twinkle Stars' | 1,04 | 1,49 | 0,88 | 1,14 |
| Średnia (B) | 1,24 | 1,79 | 1,39 | – |
| NIR _{0,05} | A = 0,363; B = 0,545; A × B = różnice nieistotne | | | |

cebul przybyszowych niż z sadzonek ‘Twinkle Stars’ (Tabela 1). Ponadto z sadzonek ‘Sparkling Burgundy’ otrzymano cebule przybyszowe o większej świeżej masie. Istotne różnice w plonie cebul przybyszowych w zależności od taksonu obserwowano również w badaniach nad rozmnażaniem eukomis przez sadzonki liściowe [Ndwambi i in. 2013]. Cytowani autorzy wykazali, że największym współczynnikiem rozmnażania cechowała się odmiana ‘Playa Blanca’, a najmniejszym - gatunek *Eucomis bicolor*. Ponadto stwierdzono, że przeżywalność sadzonek oraz liczba i masa otrzymanych z nich cebul przybyszowych zależały od terminu wykonywania sadzonek liściowych oraz sposobu sadzonkowania blaszek liściowych [Ndwambi i in. 2014a, Ndwambi i in. 2014b].

Niezależnie od sposobu traktowania sadzonek, cebule obu ocenianych odmian miały podobną liczbę korzeni natomiast istotnie różniły się ich długością (Tabela 2). Korzenie cebul odmiany ‘Sparkling Burgundy’ były dłuższe w stosunku do korzeni odmiany ‘Twinkle Stars’.

Stwierdzono stymulujący wpływ obu biopolimerów na jakość systemu korzeniowego cebul przybyszowych uformowanych na sadzonkach, niezależnie od odmiany (Tabela 2). Najwięcej korzeni miały cebule uzyskane z sadzonek traktowanych oligochitozanem. Istotnie mniej korzeni stwierdzono u cebul pochodzących z sadzonek moczonych w gumie gellanowej, zaś najmniej – w wariacie kontrolnym. Podobną zależność zaobserwowano analizując długość korzeni u wytworzonych cebul. Najdłuższe korzenie miały cebule otrzymane z sadzonek traktowanych oligo-

chitozanem, a najkrótsze cebule uformowane na sadzonkach nie otoczonych biopolimerami. Z praktycznego punktu widzenia silniejszy system korzeniowy gwarantuje szybszy wzrost roślin i osiągnięcie przez cebule w krótszym czasie wielkości handlowej gwarantującej kwitnienie. Ma i in. [2012] oceniali wpływ egzogenego oligochitozanu na cechy morfologiczne i biochemiczne siewek pszenicy uprawianych w kulturach wodnych. Cytowani autorzy wykazali, że rośliny traktowane biopolimerem w porównaniu do kontroli miały dłuższe korzenie, większy współczynnik fotosyntezy i przewodności szparkowej, zawierały więcej chlorofilu a i prolin, a także charakteryzowały się zwiększoną aktywnością enzymów antyoksydacyjnych SOD, CAT i POD. Mechanizm działania chitozanu i jego pochodnych u roślin jest wciąż poznawany [Katiyar i in. 2015]. Poza oddziaływaniem na aktywność enzymów rozkładających reaktywne formy tlenu, biopolimer bierze udział w wewnątrzkomórkowych szlakach transdukcji sygnału nadtlenu wodoru i tlenu azotu [Pichyangkura i Chadchawan 2015]. Najnowsze badania przeprowadzone u groszku wskazują, iż chitozan może również bezpośrednio oddziaływać na proces ekspresji genów w interakcji z chromatyną [Hadwiger 2015].

PODSUMOWANIE

Zastosowana metoda rozmnażania dwóch odmian eukomis czubatej przez sadzonki dwułuskowe okazała się skuteczna, a wykorzystane w badaniach biopolimery w praktyce mogą być wyko-

Tabela 2. Wpływ otoczkowania sadzonek dwułuskowych w biopolimerach na liczbę i długość korzeni u cebul przybyszowych dwóch odmian eukomis czubatej

Table 2. The effect of biopolymers coating of twin-scales cuttings on the number and the length of roots on adventitious bulbs of *Eucomis comosa* cultivars

| Odmiana (A) | Traktowanie (B) | | | Średnia (A) |
|---|---|----------------|---------------|-------------|
| | kontrola | guma gellanowa | oligochitozan | |
| Liczba korzeni wytworzonych u cebuli przybyszowej | | | | |
| ‘Sparkling Burgundy’ | 0,55 | 0,67 | 0,89 | 0,70 |
| ‘Twinkle Stars’ | 0,49 | 0,69 | 0,87 | 0,68 |
| Średnia (B) | 0,52 | 0,68 | 0,88 | – |
| NIR _{0,05} | A = różnice nieistotne; B = 0,129; A × B = różnice nieistotne | | | |
| Długość korzenia (cm) | | | | |
| ‘Sparkling Burgundy’ | 4,65 | 5,15 | 5,95 | 5,25 |
| ‘Twinkle Stars’ | 3,25 | 3,85 | 4,65 | 3,92 |
| Średnia (B) | 3,95 | 4,50 | 5,30 | – |
| NIR _{0,05} | A = 0,458; B = 0,703; A × B = różnice nieistotne | | | |

rzystywane jako surowiec do tworzenia hydrożelowych otoczek na sadzonkach łuskowych. Guma gellanowa miała stymulujący wpływ na liczbę i masę otrzymanych cebul przybyszowych. Najkorzystniej na system korzeniowy cebul wpłynęło otoczkowanie sadzonek w roztworze oligochitozanu. Odmiana ‘Sparkling Burgundy’ wytworzyła więcej cebul przybyszowych, które jednocześnie miały większą masę i dłuższe korzenie w porównaniu do odmiany ‘Twinkle Stars’.

Podziękowanie

Praca wykonana w ramach tematu badań: Opracowanie rozmnażania eukomis czubatej (*Eucomis comosa*) przez sadzonki dwułuskowe z zastosowaniem wybranych biopolimerów. Nr 517-07-014-3261/17, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie.

LITERATURA

1. Arthur G.D., Stirk W.A., Van Staden J. 2004. Screening of aqueous extracts from gelling agents (Agar and Gelrite) for root-stimulating activity. *South African Journal of Botany*, 70, 595–601.
2. Bartkowiak A., Startek L., Żurawik P., Salachna P. 2008. Sposób wytwarzania otoczek hydrożelowych na powierzchni organów roślinnych. Patent PL Nr 197101.
3. Carlson A.S., Dole J.M. 2014. Postharvest handling recommendations for cut pineapple lily. *HortTechnology*, 24 (6), 731–735.
4. Carlson A.S., Dole J.M., Whipker B.E. 2015. Plant growth regulator drenches suppress foliage and inflorescence height of ‘Leia’ pineapple lily. *HortTechnology*, 25 (1), 105–109.
5. Chevreau E., Mourgues F., Neveu M., Chevalier M. 1997. Effect of gelling agents and antibiotics on adventitious bud regeneration from in vitro leaves of pear. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 33(3), 173–179.
6. Fitchet M., van de Venter H.A. 1998. Rapid vegetative propagation of pineapples by crown sectioning. *South African Journal of Plant and Soil*, 5(1), 27–31.
7. Hadrami E., Housti F., Miehaux-Ferriere N., Carron M.P., D’Auzac J. 1993. Effects of gelling agents and liquid medium on embryogenic potential, polyamines and enzymatic factors in browning in *Hevea brasiliensis* calli. *Journal of Plant Physiology*, 141, 230–233.
8. Hadwiger L.A. 2013. Plant science review: Multiple effects of chitosan on plant systems: Solid science or hype. *Plant Science*, 208, 42–49.
9. Hadwiger L.A. 2015. Anatomy of a nonhost disease resistance response of pea to *Fusarium solani*: PR gene elicitation via DNase, chitosan and chromatin alterations. *Frontiers in Plant Science*, 12(6), 373.
10. House J.C. 2003. The successful propagation of *Eucomis comosa* ‘Purple’. *Proceedings of the International Plant Propagator’s Society*, 53, 128–131.
11. 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.
12. 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.
13. Masondo N.A., Aremu A.O., Finnie J.F., Van Staden J. 2015. Growth and phytochemical levels in micropropagated *Eucomis autumnalis* subspecies *autumnalis* using different gelling agents, explant source, and plant growth regulators. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 51 (1), 102–110.
14. Masondo N.A., Finnie J.F., Van Staden J. 2014. Pharmacological potential and conservation prospect of the genus *Eucomis* (*Hyacinthaceae*) endemic to southern Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 151 (1), 44–53.
15. Ndhala, A.R., Mulaudzi, R.B., Kulkarni, M.G., Van Staden, J. 2012. Effect of environmental factors on seedling growth, bulb development and pharmacological properties of medicinal *Eucomis autumnalis*. *South African Journal of Botany*, 79, 1–8.
16. Ndwambi D., Kleynhans R., Matsiliza-Mlathi B. 2014a. Effects on leaf section and growth regulator application on bulblet production from leaf cuttings of *Eucomis*. *Proceedings of the 29th International Horticultural Congress: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes* (Aug. 17-22), Brisbane, Australia.
17. Ndwambi D., Matsiliza-Mlathi B., Kleynhans R. 2013. Optimizing *in vivo* bulblet formation on leaf cuttings in *Eucomis* spp. *South African Journal of Botany*, 86, 179.
18. Ndwambi D., Matsiliza-Mlathi B., Kleynhans R. 2014b. Effects of planting time on production of bulblets from leaf cuttings of *Eucomis*. *Proceedings of the 29th International Horticultural Congress: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes* (Aug. 17-22), Brisbane, Australia.
19. Pichyangkura R., Chadchawan S. 2015. Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 49–65.

20. 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.
21. Salachna P., Zawadzińska A. 2014b. Effect of chitosan on plant growth, flowering and corms yield of potted freesia. Journal of Ecological Engineering 15 (3), 97–102
22. Salachna P., Zawadzinska A. 2015. 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.
23. Salachna P., Wilas J., Zawadzińska A. 2015a. The effect of chitosan coating of bulbs on the growth and flowering of *Ornithogalum saundersiae*. Acta Horticulturae, 1104, 115–118.
24. Salachna P., Zawadzińska P., Wilas J. 2015b. The use of natural polysaccharides in *Eucomis autumnalis* (Mill.) Chitt. propagation by twin-scale cuttings. Acta Horticulturae, 1104, 225–227.
25. Salachna P., Grzeszczuk M., Wilas J. 2015c. Total phenolic content, photosynthetic pigment concentration and antioxidant activity of leaves and bulbs of selected *Eucomis* L'Hér. taxa. Fresenius Environmental Bulletin, 24(11c), 4220–4225.
26. Scherer P.A., Müller E., Lippert H., Wolff G. 1988. Multielement analysis of agar and gelrite impurities investigated by inductively coupled plasma emission spectrometry as well as physical properties of tissue culture media prepared with agar or the gellan gum gelrite. Acta Horticulturae, 226, 655–658.
27. Startek L., Bartkowiak A., Salachna P., Kamińska M., Mazurkiewicz-Zapałowicz K. 2005. The influence of new method of corm coating on freesia growth, development and health. Acta Horticulturae, 673, 611–616.
28. Yin H., Zhao X., Du Y. 2010. Oligochitosan: A plant diseases vaccine-A review. Carbohydrate Polymers, 82 (1), 1–8.