

Raport z otrzymanych wyników z zadania badawczego pt.:

**Badanie wpływu wody orto-klastrowej G.R.A.I.L.,  
generowanej przy użyciu urządzenia do formowania orto-  
klastrow, na wydajność fotosyntetyczną wybranych  
gatunków roślin**

Prof. dr hab., dr. hc. Hazem M. Kalaji

Prof. dr hab. inż. Piotr Dąbrowski

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w  
Warszawie

Katedra Botaniki i Fizjologii Roślin

Instytut Biologii

Katedra Kształtowania Środowiska  
i Teledetekcji

Instytut Inżynierii Środowiska

Ul. Nowoursynowska 159

02-776 Warszawa

mohamed\_kalaji@sggw.edu.pl

www.sggw.edu.pl

Warszawa, 2026 r.

## Spis treści

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Wstęp                                                                   | 3  |
| 2. Materiał i metody                                                       | 6  |
| 2.1. Warunki wzrostu i plan eksperymentu                                   | 6  |
| 2.2. Pomiary fluorescencji chlorofilu <i>a</i>                             | 6  |
| 2.3. Analiza statystyczna                                                  | 7  |
| 3. Wyniki                                                                  | 8  |
| 3.1. Krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu <i>a</i> (OJIP)              | 8  |
| 3.2. Maksymalna wydajność kwantowa i wskaźnik funkcjonowania fotoukładu II | 20 |
| 4. Podsumowanie i wnioski                                                  | 27 |
| 5. Streszczenie popularnonaukowe                                           | 30 |
| 6. Literatura                                                              | 32 |
| 7. Załączniki                                                              | 34 |

## 1. Wstęp

Living Water Technology (LWT) to polska firma działająca od 2013 roku, oferująca urządzenia do tzw. "strukturyzacji wody" pod marką G.R.A.I.L. (skrót od angielskiego opisu technologii). Produkty są dostępne na stronie [livingwatertechnology.com](http://livingwatertechnology.com) oraz przez sieć certyfikowanych partnerów. Zwykła woda kranowa jest "martwa", ponieważ składa się w 95% z tzw. para-klastrów cząsteczek wody, a jedynie w 5% z orto-klastrów. Zmiana tych proporcji na korzyść orto-klastrów czyni wodę "żywą" i korzystną dla zdrowia. Technologię oparto na koncepcji wody wzorcowej. Mówi ona, że wewnątrz każdego urządzenia znajduje się specjalnie przygotowana woda, która ma "przeprogramowywać" strukturę przepływającej obok wody. Producent deklaruje, że woda przetworzona przez ich urządzenia ma lepsze właściwości i przenika przez błony komórkowe, przywraca równowagę kwasowo-zasadową (pH), wspiera wzrost roślin. Terminy "orto-woda" i "para-woda" odnoszą się do izomerów spinowych cząsteczki  $H_2O$ , różnica między nimi może mieć wpływ na właściwości biologiczne wody.

Kilka opublikowanych badań odnotowało pozytywny wpływ wody strukturyzowanej na rośliny. Były to m.in. badanie włoskie z 2020 r. (CREA-OF, Pescia, Włochy) przeprowadzone na lawendzie i rozmarynie. Wykazano, że rośliny podlewane wodą strukturyzowaną (urządzenie Alchewat) osiągnęły statystycznie istotny wzrost wysokości, biomasy wegetatywnej i korzeniowej, a także zwiększoną liczebność pożytecznych mikroorganizmów w ryzosferze w porównaniu do grupy kontrolnej. Badanie z 2023–2024 r. na kaktusniku (*Cleistocactus strausii*), prowadzone w tych samych włoskich szklarniach CREA-OF, potwierdziło podobne wyniki: wyższe rośliny, większa biomasa, więcej mikroorganizmów w podłożu. Informacje te jednak nigdy nie były zweryfikowane pod kątem oddziaływania wody strukturyzowanej na przebieg najważniejszego procesu życiowego u roślin – fotosyntezy.

Fluorescencja chlorofilu *a* jest perspektywicznym i prostym narzędziem do pomiaru reakcji roślin na stres (Baker i Rosenqvist, 2004; Maxwell and Johnson, 2000). Ta technika pozwala na pomiar witalności rośliny w niesprzyjających warunkach środowiskowych poprzez analizę stanów przejściowych fluorescencji. Zmierzone parametry są ściśle

skorelowane z funkcjonowaniem fotoukładu II (PSII). Stres wywierany na zieloną roślinę, który bezpośrednio lub pośrednio wpływa na metabolizm fotosyntetyczny, może zmienić wydajność fluorescencji chlorofilu, ponieważ sygnał ten bardzo silnie reaguje na zmiany aktywności PSII. Analizy gaszenia fluorescencji dostarczają informacji na temat absorpcji energii, wykorzystania i rozpraszania oraz transportu elektronów w PSII (Kalaji i in., 2014). Umożliwia to ocenę wydajności fotosyntezy rośliny i stopnia jej tolerancji na różne stresy (Maxwell and Johnson, 2000).

Najczęstsze są szybkie pomiary parametru  $F_v/F_m$  (tj. maksymalna wydajność kwantowa fotochemii), ale wykazano, że parametr ten jest niespecyficzny (Baker, 2008) i często niewrażliwy (Zivcák i in., 2008). Znacznie bardziej przydatne i powszechnie akceptowane są parametry uzyskane metodą impulsu nasycenia w liściach dostosowanych do światła. Pomiary są jednak czasochłonne, bardziej odpowiednie do celów badań podstawowych niż do praktycznych zastosowań w warunkach polowych (Kalaji i in., 2014).

Aby szybko ocenić funkcję fotosyntezy u dużej liczby roślin uprawianych w terenie, opracowano niedestrukcyjną analizę wielofazowego szybkiego przejścia fluorescencji chlorofilu (Strasser i Strasser, 1995). Metoda ta opiera się na zapisie w wysokiej częstotliwości fluorescencji chlorofilu emitowanej przez zaadoptowany do ciemności liść podczas krótkiego (zwykle trwającego jedną sekundę) impulsu silnego światła aktywnego emitowanego przez fluorymetr. Kinetyka fluorescencji odzwierciedla wydajność fotochemiczną aparatu fotosyntetycznego i dostarcza cennych informacji na temat funkcjonalnych i strukturalnych atrybutów składników biorących udział w fotosyntetycznym transporcie elektronów, głównie PSII (Stirbet i Govindjee, 2011).

Liczne badania wykazały zdolność metody OJIP do wykrywania zmian w fotochemii PSII spowodowanych czynnikami środowiskowymi lub genetycznymi, np. skutki naprężeń. Wzrost fluorescencji podczas pierwszej sekundy oświetlenia pokazuje sekwencję faz (oznaczoną jako O, K, J, I, P) od początkowej ( $F_0$ ) do maksymalnej ( $F_m$ ) wartości fluorescencji. Model matematyczny wielofazowego transjentu został opracowany i nazwany testem JIP. Test ten umożliwia szczegółową analizę przebiegu fluorescencji chlorofilu, dostarczając informacji o efektywności działania fotosystemu II oraz o stanie całego łańcucha transportu elektronów w procesie fotosyntezy (Strasser i Strasser, 1995). Umożliwia również

obliczenie określonych parametrów biofizycznych, uzysków kwantowych i prawdopodobieństw charakteryzujących strukturę i funkcję PSII. Parametry te zostaną opisane w części Materiały i metody.

Zasadniczo im większy jest stres rośliny, tym mniej dostępnych jest otwartych centrów reakcji, a stosunek  $F_v/F_m$  jest obniżony. W pomiarach tego parametru, po adaptacji do ciemności, mierzy się minimalną fluorescencję, stosując modulowane źródło światła. Jest to pomiar fluorescencji anten za pomocą modulowanego natężenia światła, które jest zbyt niskie, aby prowadzić fotosyntezę. Następnie stosuje się intensywny błysk światła lub puls nasycenia o ograniczonym czasie trwania, aby odsłonić próbkę i zamknąć wszystkie dostępne centra reakcji. Przy wszystkich dostępnych centrach reakcji zamkniętych lub chemicznie zredukowanych, mierzona jest maksymalna fluorescencja.

Różnica między maksymalną fluorescencją a minimalną fluorescencją wynosi  $F_v$  lub zmienna fluorescencja.  $F_v/F_m$  jest normalizowanym współczynnikiem utworzonym przez podzielenie zmiennej fluorescencji przez maksymalną fluorescencję. Jest to stosunek pomiaru reprezentujący maksymalną potencjalną wydajność kwantową PSII, gdyby wszystkie zdolne centra reakcji były otwarte. Wartość  $F_v/F_m$  w zakresie od 0,79 do 0,84 jest przybliżoną wartością optymalną dla wielu gatunków roślin, przy czym niższe wartości wskazują na stres roślin.

**Celem tych badań było określenie możliwości poprawy stanu fizjologicznego roślin bazylii, petunii i salaty zwyczajnej przy użyciu wody orto-klastrowej G.R.A.I.L.**

## 2. Materiał i metody

### 2.1. Warunki wzrostu i plan eksperymentu

Eksperyment przeprowadzono w dwóch niezależnych kamerach szklarni Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Rośliny bazylii (*Ocimum basilium*), petunii (*Petunia x atkinsiana*) i sałaty (*Phaseolus vulgaris* L.) wysiano do wazonów o pojemności 0,75 l wypełnionych podłożem organicznym (zdjęcia zamieszczone na końcu raportu, strony 34-36).

W szklarni podczas badań zapewniono jednolite i ściśle kontrolowane warunki środowiskowe. Temperatura wynosiła około 22°C w dzień oraz 18°C w nocy, przy fotoperiodzie 12 godzin światła o natężeniu około 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Wilgotność powietrza była utrzymywana na poziomie 60–70%, co sprzyja prawidłowemu wzrostowi siewek.

Rośliny w jednej kamerze były podlewane wodą kranową, w drugiej były podlewane wodą ortoklastrowo G.R.A.I.L. Pomiary były wykonane w następujących terminach:

- 1) 30.04.2026 (TI);
- 2) 07.05.2026 (TII);
- 3) 14.05.2026 (TIII);
- 4) 21.05.2026 (TIV).

### 2.2. Pomiary fluorescencji chlorofilu *a*

Pomiary przeprowadzono na powierzchni liści 24 roślin po 30 min adaptacji do ciemności. Fluorymetr HandyPEA (Hansatech Instruments Ltd., Wielka Brytania) został użyty z następującym protokołem: czas trwania: 1,0 s i oświetlenie światłem aktywnym: 3500  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Ten aparat jest przenośnym, nieinwazyjnym przyrządem do pomiaru fluorescencji chlorofilu. Analizując odpowiedź fluorescencyjną chlorofilu na impulsy świetlne, umożliwia szybką ocenę stanu fizjologicznego roślin oraz wykrywanie oznak stresu (zdjęcia zamieszczone na końcu raportu, strony 34-36). W tym aparacie źródło światła wzbudzającego stanowi niebieska dioda LED (430 nm). Charakterystyczne przejścia fotoindukowanych punktów fluorescencji chlorofilu wykorzystano do obliczenia określonych parametrów fazy jasnej fotosyntezy zgodnie z algorytmem testu JIP, opisanym przez Strassera i in. (2010). Analizowane parametry opisano w tabeli 1.

Tabela 1. Parametry fluorescencji chlorofilu.

|                         |                                                      |
|-------------------------|------------------------------------------------------|
| $F_0 \sim F_{50 \mu s}$ | Fluorescencja minimalna, wartość punktu O krzywej    |
| $F_M$                   | Fluorescencja maksymalna, wartość punktu P           |
| $F_V = F_M - F_0$       | Fluorescencja zmienna                                |
| $F_V/F_M$               | Maksymalna wydajność kwantowa fotoukładu II          |
| $PI_{abs}$              | Wskaźnik funkcjonowania PSII w stosunku do absorpcji |

### 2.3. Analiza statystyczna

Wszystkie pomiary fluorescencji chlorofilu były wykonywane w 24 powtórzeniach. Otrzymane wyniki analizowano statystycznie za pomocą modelu ANOVA i testu Fischera post hoc na poziomie ufności 0,05 z użyciem programu Statistica 13.0 (Statsoft, Inc. Tulsa, USA).

### 3. Wyniki

#### 3.1. Krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu *a*

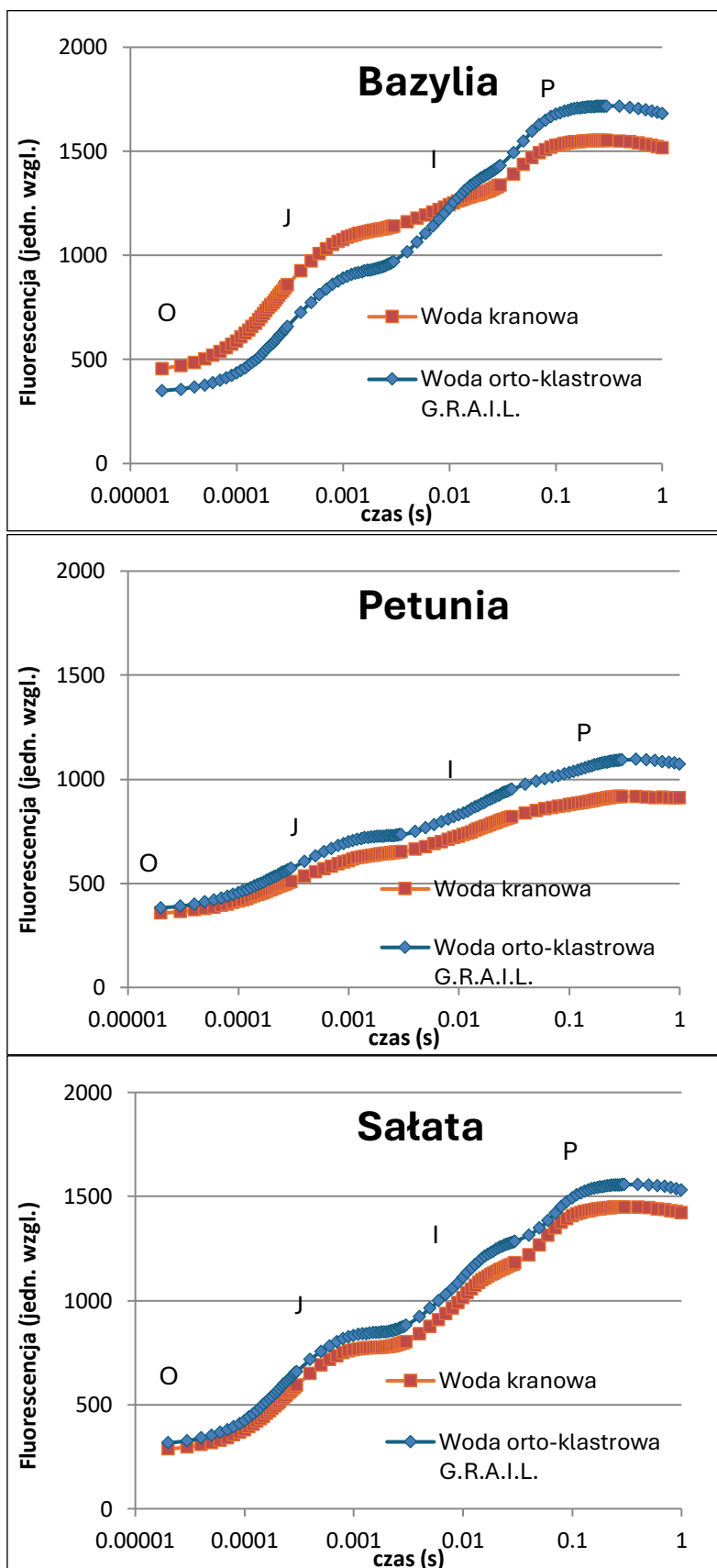
W pierwszym terminie pomiarowym (TI) u bazylii obserwowano wyraźny wpływ rodzaju stosowanej wody na przebieg krzywej indukcji fluorescencji chlorofilu *a* (ryc. 1). Już w punkcie O ( $F_0$ ), odpowiadającym minimalnej fluorescencji przy całkowicie otwartych centrach reakcji PSII, rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wykazywały niższe wartości fluorescencji niż rośliny podlewane wodą kranową. Niższe  $F_0$  może wskazywać na bardziej efektywne przekazywanie energii wzbudzenia do centrów reakcji oraz lepszą organizację kompleksów antenowych fotosystemu II. W fazie O–J wzrost fluorescencji był szybszy u roślin podlewanych wodą kranową, które osiągały wyższe wartości w punkcie J. Punkt ten odzwierciedla stopień redukcji pierwotnego akceptora elektronów  $Q_A$ , a jego podwyższenie może świadczyć o przejściowym ograniczeniu dalszego transportu elektronów poza  $Q_A$ . W dalszej części krzywej, w fazie J–I oraz I–P, przebieg fluorescencji ulegał odwróceniu i rośliny podlewane wodą G.R.A.I.L. osiągały wyraźnie wyższe wartości fluorescencji. Szczególnie widoczne było to w punkcie P, odpowiadającym maksymalnej fluorescencji ( $F_M$ ), gdzie wartości były znacznie wyższe niż w wariancie kontrolnym. Wskazuje to na większą zdolność do redukcji puli plastochinonowej i akceptorów elektronów po stronie PSI oraz na bardziej wydajny transport elektronów w całym łańcuchu fotosyntetycznym. Uzyskane wyniki sugerują, że u bazylii podlewanie wodą orto-klastrową mogło prowadzić do zwiększenia sprawności fotochemicznej fotosystemu II i poprawy funkcjonowania aparatu fotosyntetycznego.

W przypadku petunii różnice pomiędzy badanymi wariantami były mniej wyraźne niż u bazylii, jednak przez cały przebieg krzywej OJIP rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. charakteryzowały się nieco wyższymi wartościami fluorescencji. W punkcie O wartości fluorescencji początkowej były bardzo zbliżone w obu wariantach, co wskazuje na podobny stan funkcjonalny centrów reakcji PSII przed rozpoczęciem pomiaru. W fazie O–J krzywa dla roślin podlewanych wodą G.R.A.I.L. przebiegała nieco wyżej, sugerując większą redukcję  $Q_A$  oraz intensywniejszy przepływ elektronów przez fotosystem II. W kolejnych etapach indukcji, zwłaszcza w fazie J–I i I–P, różnice pomiędzy wariantami stopniowo się



zwiększały. Wyższe wartości fluorescencji w punktach I i P obserwowane u roślin podlewanych wodą orto-klastrową wskazują na sprawniejszą redukcję puli plastochinonowej oraz większą efektywność transportu elektronów pomiędzy fotosystemami. Maksymalna fluorescencja osiągnięta przez te rośliny była wyraźnie wyższa niż w przypadku roślin podlewanych wodą kranową, co może świadczyć o większej aktywności fotochemicznej i korzystniejszym funkcjonowaniu aparatu fotosyntetycznego. Efekt ten był jednak słabszy niż obserwowany u bazylii, co sugeruje gatunkowe zróżnicowanie odpowiedzi na zastosowany rodzaj wody.

U sałaty krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu *a* w początkowym przebiegu dla obu wariantów przebiegały podobnie, jednak w kolejnych punktach rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. osiągały wyższe wartości fluorescencji. Już w punkcie O odnotowano nieznacznie wyższą fluorescencję początkową niż w przypadku roślin podlewanych wodą kranową. Wzrost fluorescencji w fazie O–J był szybszy dla wariantu z wodą orto-klastrową, a wyższe wartości osiągnięte w punkcie J wskazują na większą redukcję pierwotnych akceptorów elektronów PSII. Różnice pomiędzy wariantami stawały się bardziej widoczne w fazie J–I, gdzie rośliny podlewane wodą G.R.A.I.L. wykazywały wyższe wartości fluorescencji, co może świadczyć o intensywniejszej redukcji puli plastochinonowej i sprawniejszym przepływie elektronów w łańcuchu transportowym. Tendencja ta utrzymywała się również w fazie I–P. Maksymalna fluorescencja osiągnięta przez rośliny podlewane wodą orto-klastrową była wyższa niż u roślin podlewanych wodą kranową, co sugeruje większą zdolność do wykorzystania energii świetlnej w procesach fotochemicznych. Wyniki te wskazują, że zastosowanie wody orto-klastrowej mogło korzystnie wpływać na wydajność funkcjonowania fotosystemu II oraz efektywność transportu elektronów u sałaty, choć skala obserwowanego efektu była mniejsza niż u bazylii.

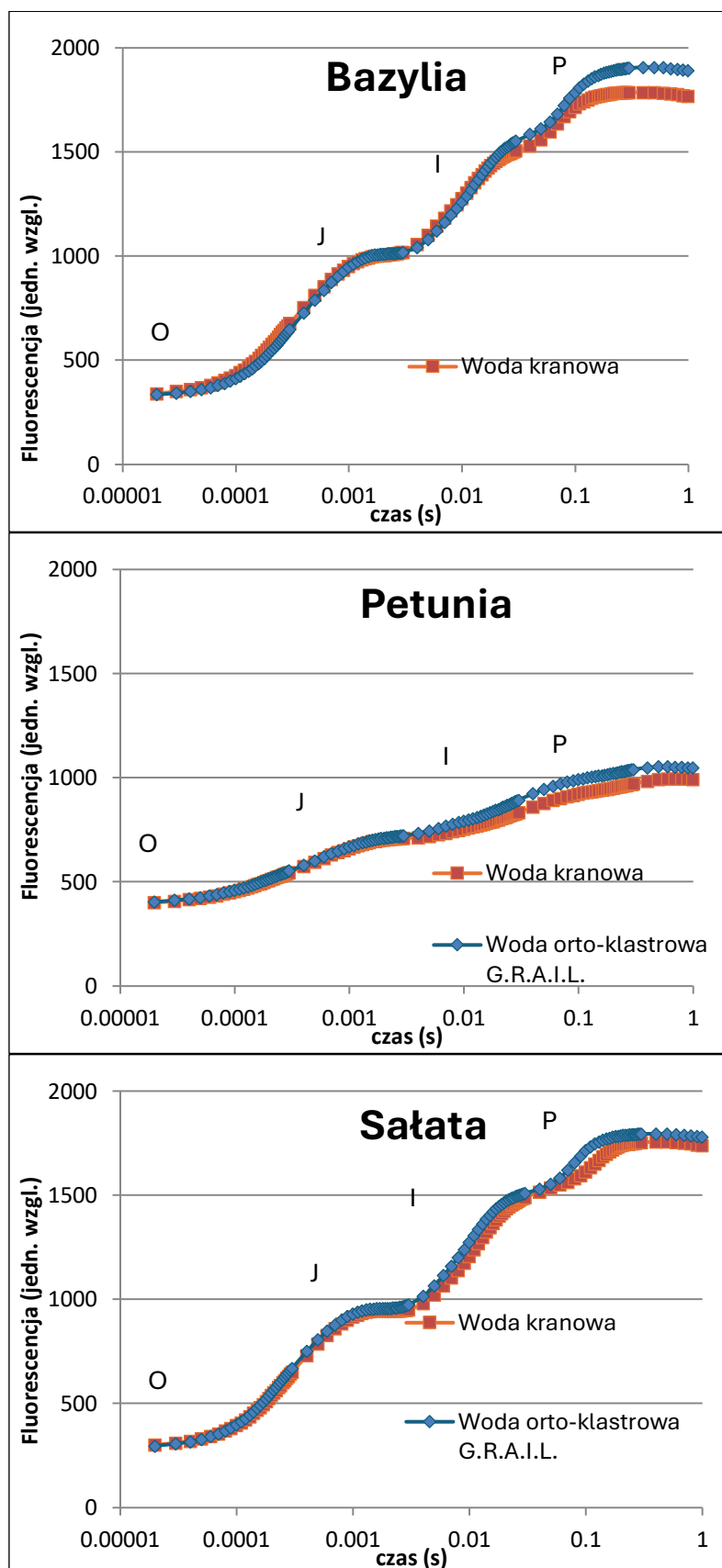


Ryc. 1. Krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu *a* u roślin bazylii, petunii i sałaty podlewanych wodą kranową i wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. w terminie TI

W drugim terminie pomiarowym (TII) u bazylii nadal obserwowano wyraźny wpływ rodzaju stosowanej wody na przebieg krzywej indukcji fluorescencji chlorofilu *a* (ryc. 2). W punkcie O ( $F_0$ ) wartości fluorescencji początkowej były bardzo zbliżone w obu wariantach, przy czym rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wykazywały nieznacznie niższe wartości. W fazie O–J przebieg krzywych był podobny, jednak rośliny podlewane wodą kranową osiągały nieco wyższe wartości fluorescencji w punkcie J. Może to wskazywać na większą akumulację zredukowanego akceptora  $Q_A$  i przejściowe spowolnienie dalszego transportu elektronów. W kolejnych etapach indukcji fluorescencji sytuacja ulegała zmianie. W fazie J–I oraz szczególnie w fazie I–P rośliny podlewane wodą orto-klastrową osiągały wyższe wartości fluorescencji niż rośliny kontrolne. Największe różnice obserwowano w punkcie P odpowiadającym maksymalnej fluorescencji ( $F_M$ ), gdzie wartości dla wariantu G.R.A.I.L. były wyraźnie wyższe. Może to świadczyć o większej zdolności do redukcji akceptorów elektronów po stronie PSI oraz o wyższej sprawności funkcjonowania całego łańcucha transportu elektronów. Uzyskane wyniki wskazują, że również w drugim terminie pomiarowym zastosowanie wody orto-klastrowej sprzyjało utrzymaniu wyższej aktywności fotochemicznej aparatu fotosyntetycznego bazylii.

W przypadku petunii różnice pomiędzy badanymi wariantami były umiarkowane, jednak wyraźnie zaznaczała się przewaga roślin podlewanych wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. W punkcie O wartości fluorescencji początkowej były niemal identyczne dla obu wariantów, co wskazuje na podobny stan wyjściowy centrów reakcji PSII. W fazie O–J krzywe przebiegały bardzo podobnie, a różnice pomiędzy nimi były niewielkie. Bardziej wyraźne rozbieżności pojawiły się w fazie J–I, gdzie rośliny podlewane wodą orto-klastrową osiągały wyższe wartości fluorescencji. Tendencja ta utrzymywała się również w fazie I–P. W punktach I i P wartości fluorescencji były wyższe w wariantcie G.R.A.I.L., co może świadczyć o sprawniejszej redukcji puli plastochinonowej oraz większej wydajności transportu elektronów między fotosystemami. Maksymalna fluorescencja osiągniana przez te rośliny była nieznacznie wyższa niż u roślin podlewanych wodą kranową. Otrzymane wyniki sugerują korzystny wpływ wody orto-klastrowej na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego petunii, choć skala efektu była mniejsza niż obserwowana u bazylii.

U sałaty przebieg krzywych indukcji fluorescencji chlorofilu *a* był zbliżony do obserwowanego u bazylii. W punkcie O wartości fluorescencji początkowej były bardzo podobne w obu wariantach, z nieznaczną przewagą roślin podlewanych wodą orto-klastrową. W fazie O–J krzywe praktycznie się pokrywały, a różnice pomiędzy wariantami były niewielkie. W kolejnej fazie indukcji (J–I) rośliny podlewane wodą G.R.A.I.L. wykazywały wyższe wartości fluorescencji, co może wskazywać na intensywniejszą redukcję puli plastochinonowej oraz sprawniejszy przepływ elektronów w obrębie fotosystemu II. Największe różnice pomiędzy wariantami obserwowano w fazie I–P. Rośliny podlewane wodą orto-klastrową osiągały wyższe wartości fluorescencji maksymalnej niż rośliny podlewane wodą kranową. Wyższe wartości  $F_M$  mogą świadczyć o większej efektywności wykorzystania energii świetlnej i lepszym funkcjonowaniu aparatu fotosyntetycznego. Wyniki uzyskane dla sałaty potwierdzają korzystny wpływ wody orto-klastrowej na procesy fotochemiczne, jednak podobnie jak w przypadku petunii efekt ten był mniej wyraźny niż obserwowany u bazylii.

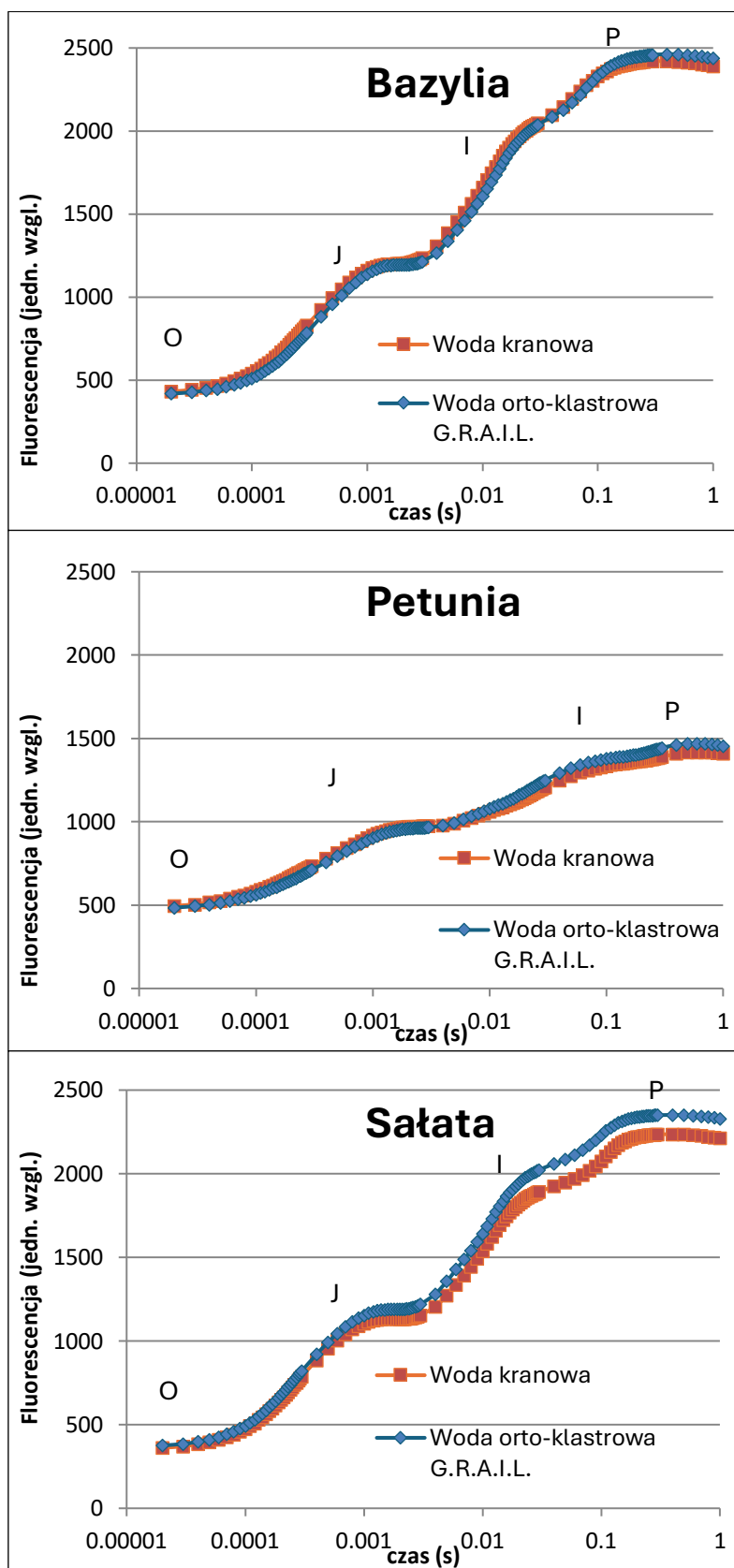


Ryc. 2. Krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu *a* u roślin bazylii, petunii i sałaty podlewanych wodą kranową i wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. w terminie TII

W trzecim terminie pomiarowym (TIII) u bazylii obserwowano dalsze różnice w przebiegu krzywych indukcji fluorescencji chlorofilu *a* pomiędzy badanymi wariantami (ryc. 3). W punkcie O ( $F_0$ ) wartości fluorescencji początkowej były bardzo zbliżone, jednak rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wykazywały nieznacznie niższe wartości niż rośliny podlewane wodą kranową. W fazie O–J krzywa dla roślin kontrolnych przebiegała wyżej, a punkt J osiągał większe wartości fluorescencji. Może to wskazywać na silniejszą akumulację zredukowanego akceptora  $Q_A$  i przejściowe ograniczenie dalszego transportu elektronów. W fazie J–I rośliny podlewane wodą kranową nadal wykazywały nieco wyższe wartości fluorescencji, jednak różnice stopniowo malały. W dalszej części krzywej, szczególnie w fazie I–P, przebieg fluorescencji ulegał odwróceniu i rośliny podlewane wodą orto-klastrową osiągały wyższe wartości fluorescencji. W punkcie P ( $F_M$ ) wartości te były nieznacznie wyższe niż w wariantcie kontrolnym. Wyniki wskazują, że mimo wyższych wartości fluorescencji w początkowych etapach indukcji u roślin podlewanych wodą kranową, zastosowanie wody orto-klastrowej mogło sprzyjać sprawniejszemu funkcjonowaniu dalszych etapów transportu elektronów oraz utrzymaniu wyższej aktywności fotochemicznej aparatu fotosyntetycznego w końcowej fazie indukcji.

U petunii w trzecim terminie pomiarowym różnice pomiędzy wariantami były umiarkowane, lecz wyraźnie zaznaczały się w późniejszych etapach krzywej OJIP. W punkcie O wartości fluorescencji początkowej były niemal identyczne, przy czym rośliny podlewane wodą kranową osiągały nieznacznie wyższe wartości. W fazie O–J krzywe przebiegały bardzo podobnie, a niewielka przewaga wariantu kontrolnego utrzymywała się do punktu J. W kolejnej fazie (J–I) obserwowano stopniowe wyrównywanie się przebiegu krzywych, a następnie rośliny podlewane wodą orto-klastrową zaczynały osiągać wyższe wartości fluorescencji. Różnice te były szczególnie widoczne w fazie I–P, gdzie wariant G.R.A.I.L. wykazywał wyraźnie większy wzrost fluorescencji. Maksymalna fluorescencja osiągnięta w punkcie P była wyższa u roślin podlewanych wodą orto-klastrową niż u roślin kontrolnych. Może to świadczyć o większej efektywności redukcji akceptorów elektronów po stronie PSI oraz sprawniejszym przepływie elektronów w całym łańcuchu fotosyntetycznym. Uzyskane wyniki sugerują, że korzystny wpływ wody orto-klastrowej na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego petunii utrzymywał się również w trzecim terminie pomiarowym.

W przypadku sałaty wpływ rodzaju stosowanej wody był najbardziej widoczny spośród analizowanych gatunków. Już w punkcie O rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wykazywały nieznacznie wyższe wartości fluorescencji początkowej niż rośliny podlewane wodą kranową. W fazie O–J krzywa dla wariantu G.R.A.I.L. przebiegała wyżej, a różnice pomiędzy wariantami stopniowo się zwiększały. Wyższe wartości fluorescencji osiągnęte w punkcie J mogą wskazywać na intensywniejszą redukcję pierwotnych akceptorów elektronów PSII. W fazie J–I obserwowano dalsze zwiększanie różnic pomiędzy badanymi wariantami. Rośliny podlewane wodą orto-klastrową osiągały wyraźnie wyższe wartości fluorescencji, co może świadczyć o sprawniejszej redukcji puli plastochinonowej oraz większej wydajności transportu elektronów pomiędzy fotosystemami. Tendencja ta utrzymywała się również w fazie I–P. W punkcie P wartości maksymalnej fluorescencji były zdecydowanie wyższe u roślin podlewanych wodą G.R.A.I.L. niż u roślin podlewanych wodą kranową. Uzyskane wyniki wskazują na wyraźnie korzystny wpływ wody orto-klastrowej na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego sałaty, przejawiający się zwiększoną sprawnością procesów fotochemicznych oraz większą efektywnością transportu elektronów w fotosystemach. W porównaniu z bazylią i petunią efekt ten był najbardziej wyraźny, co może świadczyć o większej wrażliwości sałaty na zastosowany rodzaj wody.



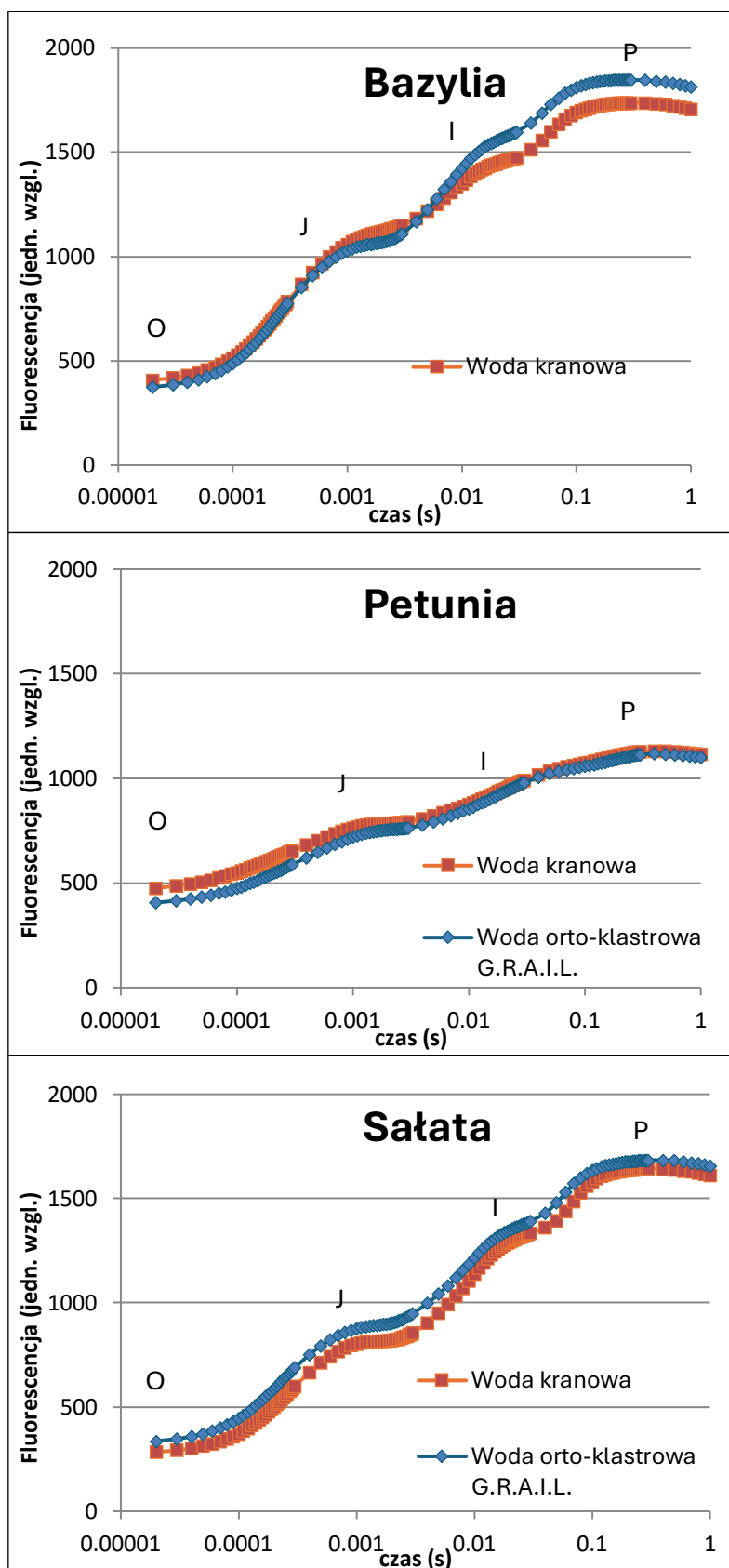
Ryc. 3. Krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu *a* u roślin bazylii, petunii i sałaty podlewanych wodą kranową i wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. w terminie TIII



W czwartym terminie pomiarowym (TIV) u bazylii obserwowano wyraźny wpływ rodzaju stosowanej wody na przebieg krzywej indukcji fluorescencji chlorofilu *a*, zbliżony do tendencji notowanych we wcześniejszych terminach (ryc. 4). W punkcie O rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wykazywały nieznacznie niższe wartości fluorescencji początkowej niż rośliny podlewane wodą kranową. Niższe  $F_0$  może świadczyć o efektywniejszym przekazywaniu energii wzbudzenia do centrów reakcji PSII oraz o lepszej organizacji kompleksów antenowych. W fazie O–J krzywe przebiegały bardzo podobnie, jednak rośliny podlewane wodą kranową osiągały nieco wyższe wartości w punkcie J, co może wskazywać na większą akumulację zredukowanego akceptora  $Q_A$  i przejściowe ograniczenie dalszego transportu elektronów. W fazach J–I oraz I–P sytuacja ulegała wyraźnemu odwróceniu — rośliny podlewane wodą orto-klastrową osiągały coraz wyższe wartości fluorescencji w stosunku do wariantu kontrolnego. Największe różnice obserwowano w punkcie P, gdzie wartości dla wariantu G.R.A.I.L. były wyraźnie wyższe niż u roślin podlewanych wodą kranową. Wskazuje to na większą zdolność do redukcji puli plastochinonowej oraz sprawniejszy transport elektronów po stronie PSI. Uzyskane wyniki potwierdzają utrzymywanie się korzystnego wpływu wody orto-klastrowej na aktywność fotochemiczną aparatu fotosyntetycznego bazylii również w czwartym terminie pomiarowym.

W przypadku petunii różnice pomiędzy badanymi wariantami w czwartym terminie pomiarowym były mniej wyraźne niż u bazylii, lecz konsekwentnie zaznaczały się na całej długości krzywej OJIP. W punkcie O rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wykazywały nieznacznie niższe wartości fluorescencji początkowej w porównaniu z roślinami podlewanych wodą kranową. W fazie O–J krzywe przebiegały zbliżenie, jednak wariant kontrolny osiągał nieco wyższe wartości w punkcie J. W kolejnych etapach indukcji, w fazach J–I oraz I–P, rośliny podlewane wodą orto-klastrową stopniowo wyrównywały, a następnie przewyższały wartości fluorescencji obserwowane u roślin kontrolnych. Wyższe wartości w punktach I i P w wariantcie G.R.A.I.L. mogą świadczyć o sprawniejszej redukcji puli plastochinonowej oraz większej efektywności transportu elektronów pomiędzy fotosystemami. Maksymalna fluorescencja osiągnięta przez rośliny podlewane wodą orto-klastrową była nieznacznie wyższa niż u roślin podlewanych wodą kranową. Wyniki te wskazują na utrzymywanie się umiarkowanego, lecz korzystnego wpływu wody orto-klastrowej na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego petunii, przy czym skala efektu pozostawała mniejsza niż obserwowana u bazylii.

U sałaty w czwartym terminie pomiarowym wpływ rodzaju stosowanej wody był wyraźnie zaznaczony na całym przebiegu krzywej indukcji fluorescencji chlorofilu a. Już w punkcie O rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wykazywały wyższe wartości fluorescencji początkowej niż rośliny podlewane wodą kranową. W fazie O–J krzywa dla wariantu G.R.A.I.L. przebiegała wyżej, a wyższe wartości osiągnięte w punkcie J wskazują na intensywniejszą redukcję pierwotnych akceptorów elektronów PSII. W fazie J–I różnice pomiędzy wariantami stopniowo się zwiększały — rośliny podlewane wodą orto-klastrową wykazywały wyraźnie wyższe wartości fluorescencji, co może świadczyć o sprawniejszej redukcji puli plastochinonowej oraz większej wydajności transportu elektronów pomiędzy fotosystemami. Tendencja ta utrzymywała się w fazie I–P, a maksymalna fluorescencja osiągnięta w punkcie P była zdecydowanie wyższa u roślin podlewanych wodą G.R.A.I.L. niż u roślin kontrolnych. Uzyskane wyniki potwierdzają wyraźnie korzystny wpływ wody orto-klastrowej na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego sałaty w czwartym terminie pomiarowym, przejawiający się zwiększoną sprawnością procesów fotochemicznych oraz większą efektywnością transportu elektronów. Spośród trzech analizowanych gatunków efekt ten był u sałaty najbardziej wyraźny, co pozostaje zgodne z tendencjami obserwowanymi we wcześniejszych terminach pomiarowych.



Ryc. 4. Krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu *a* u roślin bazylii, petunii i sałaty podlewanych wodą kranową i wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. w terminie TIV

### **3.2. Maksymalna wydajność kwantowa i wskaźnik funkcjonowania fotoukładu II**

U bazylii obserwowano istotne różnice w maksymalnej wydajności kwantowej fotosystemu II ( $F_v/F_m$ ) pomiędzy roślinami podlewanymi wodą kranową a roślinami podlewanymi wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. we wszystkich czterech terminach pomiarowych (ryc. 5). We wszystkich terminach wartości  $F_v/F_m$  były istotnie statystycznie wyższe u roślin podlewanych wodą orto-klastrową niż u roślin kontrolnych. Największą różnicę pomiędzy wariantami odnotowano w pierwszym terminie pomiarowym (TI), gdzie rośliny podlewane wodą kranową osiągały wartości  $F_v/F_m$  około 0,74, podczas gdy rośliny podlewane wodą G.R.A.I.L. około 0,82. W kolejnych terminach (TII, TIII) wartości  $F_v/F_m$  u roślin podlewanych wodą kranową wzrosły i zbliżyły się do wartości notowanych u roślin kontrolnych z wcześniejszych terminów, jednak nadal pozostawały istotnie niższe niż w wariantcie G.R.A.I.L. W czwartym terminie pomiarowym (TIV) wartości  $F_v/F_m$  u roślin podlewanych wodą kranową ponownie obniżyły się do około 0,79, natomiast u roślin podlewanych wodą orto-klastrową utrzymywały się na poziomie około 0,83, a różnica między wariantami pozostała istotna statystycznie.

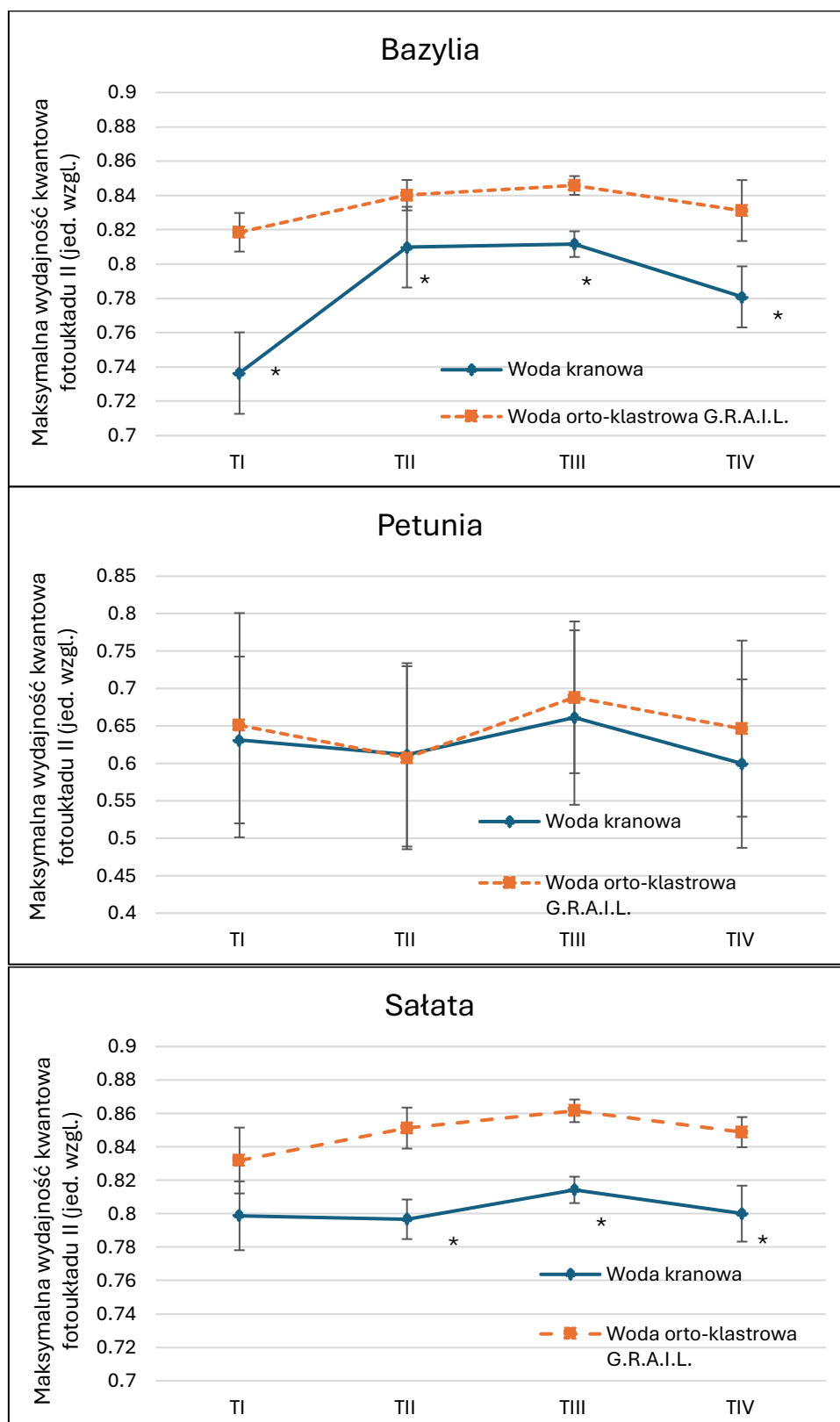
U petunii różnice w wartościach  $F_v/F_m$  pomiędzy badanymi wariantami były znacznie mniejsze niż u bazylii i w żadnym z czterech terminów pomiarowych nie osiągnęły istotności statystycznej. Wartości  $F_v/F_m$  oscylowały w przedziale 0,60–0,69 dla obu wariantów, przy czym rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wykazywały nieznacznie wyższe wartości we wszystkich terminach z wyjątkiem TII, gdzie wartości obu wariantów były niemal identyczne. Ogólny poziom  $F_v/F_m$  u petunii był wyraźnie niższy niż u bazylii i sałaty, co może wskazywać na większą podatność tego gatunku na czynniki środowiskowe ograniczające wydajność fotosystemu II lub na jego odmienną strategię fizjologiczną. Duże odchylenia standardowe obserwowane u petunii świadczą o znacznej zmienności osobniczej w obrębie tego gatunku, co mogło utrudniać wykrycie istotnych statystycznie różnic między wariantami.

U sałaty, podobnie jak u bazylii, obserwowano wyraźne i statystycznie istotne różnice w wartościach  $F_v/F_m$  pomiędzy roślinami podlewanymi wodą kranową a roślinami podlewanymi wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. Różnice istotne statystycznie stwierdzono w

terminach TII, TIII i TIV, natomiast w TI wartości obu wariantów były zbliżone, choć rośliny podlewane wodą orto-klastrową osiągały nieznacznie wyższe wartości (ok. 0,83 vs. ok. 0,80). W kolejnych terminach przewaga wariantu G.R.A.I.L. nad kontrolą utrzymywała się i była istotna statystycznie. Wartości  $F_v/F_m$  u roślin podlewanych wodą orto-klastrową wynosiły około 0,85–0,86, podczas gdy u roślin podlewanych wodą kranową oscylowały wokół 0,79–0,82. W czwartym terminie (TIV) różnica między wariantami była nadal wyraźna i istotna statystycznie, z wartościami  $F_v/F_m$  około 0,85 dla wariantu G.R.A.I.L. i około 0,80 dla kontroli.

Parametr  $F_v/F_m$  odzwierciedla maksymalną wydajność fotochemiczną fotosystemu II mierzoną w warunkach ciemności adaptacyjnej i jest powszechnie stosowanym wskaźnikiem kondycji aparatu fotosyntetycznego. Wartości zbliżone do 0,83 uznawane są za optymalne dla roślin niepoddanych stresowi (Björkman i Demmig 1987), natomiast wartości wyraźnie niższe wskazują na fotoinhibicję lub inne zaburzenia funkcjonowania PSII (Maxwell i Johnson 2000). Obniżone wartości  $F_v/F_m$  u roślin podlewanych wodą kranową, szczególnie widoczne w TI i TIV, mogą wskazywać na suboptymalne funkcjonowanie centrów reakcji PSII, prawdopodobnie związane z ograniczoną zdolnością do regeneracji utlenionych centrów reakcji lub zwiększoną liczbą nieaktywnych centrów. Wyższe i stabilniejsze wartości  $F_v/F_m$  u roślin podlewanych wodą orto-klastrową sugerują lepszą ochronę aparatu fotosyntetycznego przed uszkodzeniami fotoinhibicyjnymi oraz sprawniejsze funkcjonowanie centrów reakcji PSII przez cały okres doświadczenia. Konsekwentnie wyższe wartości  $F_v/F_m$  u roślin bazylii i sałaty podlewanych wodą orto-klastrową wskazują na lepszą kondycję fotosystemu II i mniejszy stopień fotoinhibicji przez cały okres doświadczenia. Wzrost wartości  $F_v/F_m$  w wariacie G.R.A.I.L. może być związany ze sprawniejszą naprawą uszkodzonych centrów reakcji PSII, w szczególności poprzez przyspieszoną wymianę białka D1, które jest szczególnie wrażliwe na fotoinhibicję (Aro i in. 1993). Wyniki wskazują, że sałata może być gatunkiem szczególnie responsywnym na właściwości wody nawadniającej, co czyni ją potencjalnie użytecznym modelem do dalszych badań nad wpływem wody orto-klastrowej na procesy fotosyntetyczne. Brak istotnych statystycznie różnic między wariantami u petunii może wynikać z mniejszej wrażliwości tego gatunku na właściwości fizykochemiczne wody nawadniającej lub z większej plastyczności fizjologicznej, pozwalającej na utrzymanie zbliżonej wydajności fotochemicznej niezależnie od rodzaju zastosowanej wody. Względnie niskie wartości  $F_v/F_m$  obserwowane u petunii w porównaniu z wartościami optymalnymi (ok.

0,83) mogą sugerować, że gatunek ten cechuje się odmienną regulacją procesów fotosyntetycznych (Demmig-Adams i Adams 1992).



Ryc. 5. Maksymalna wydajność kwantowa fotoukładu II ( $F_m/F_v$ ) (jedn. wzgl.)  $\pm$ S.D. u roślin bazylii, petunii i sałaty podlewanych wodą kranową i wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. w terminach I, II, III i IV. Średnie zaznaczone gwiazdką różnią się istotnie statystycznie ( $n=24$ ,  $p=0,05$ )

U bazylii obserwowano wyraźne i konsekwentne różnice we wskaźniku funkcjonowania fotosystemu II ( $PI_{abs}$ ) pomiędzy roślinami podlewanymi wodą kranową a roślinami podlewanymi wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. we wszystkich czterech terminach pomiarowych (ryc. 6), przy czym różnice te były istotne statystycznie we wszystkich terminach ( $p < 0,05$ ). W pierwszym terminie pomiarowym (TI) rośliny podlewane wodą kranową osiągały wartości  $PI_{abs}$  około 1,1, podczas gdy rośliny podlewane wodą G.R.A.I.L. około 2,8, a więc dwukrotnie więcej. W kolejnych terminach wartości  $PI_{abs}$  u obu wariantów wzrastały, osiągając maksimum w terminie TIII, gdzie rośliny podlewane wodą kranową uzyskiwały wartości około 3,3, a rośliny podlewane wodą orto-klastrową około 4,5. W czwartym terminie pomiarowym (TIV) wartości  $PI_{abs}$  w obu wariantach wyraźnie obniżyły się do około 1,1 u roślin podlewanych wodą kranową i około 2,5 u roślin podlewanych wodą G.R.A.I.L. Różnica między wariantami pozostała istotna statystycznie. Warto podkreślić, że rozpiętość wartości  $PI_{abs}$  między wariantami była znacznie większa niż w przypadku parametru  $F_v/F_m$ , co wskazuje na większą czułość wskaźnika  $PI_{abs}$  na zastosowany rodzaj wody.

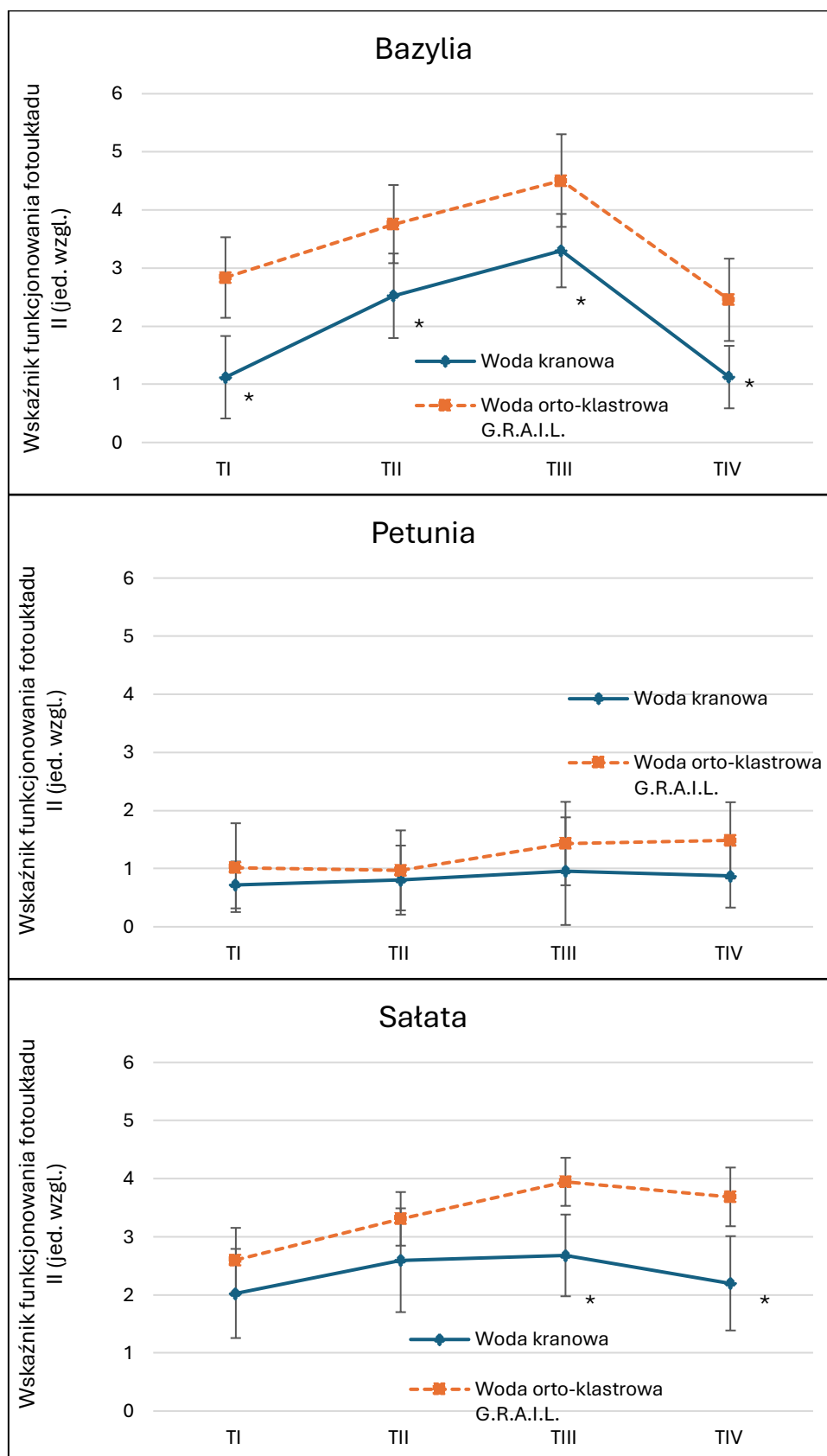
U petunii wartości  $PI_{abs}$  były wyraźnie niższe niż u bazylii i sałaty, a różnice pomiędzy badanymi wariantami były bardzo małe i w żadnym z czterech terminów pomiarowych nie osiągnęły istotności statystycznej. Wartości  $PI_{abs}$  oscylowały w przedziale 0,7–1,0 u roślin podlewanych wodą kranową oraz 1,0–1,4 u roślin podlewanych wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. Nieznaczną przewagę wariantu G.R.A.I.L. utrzymywała się przez cały okres doświadczenia, jednak duże odchylenia standardowe uniemożliwiły uzyskanie istotności statystycznej. Podobnie jak w przypadku parametru  $F_v/F_m$ , wyniki uzyskane dla petunii wskazują na mniejszą responsywność tego gatunku na rodzaj stosowanej wody nawadniającej lub na większą zmienność osobniczą maskującą rzeczywiste różnice między wariantami.

U sałaty różnice w wartościach  $PI_{abs}$  pomiędzy badanymi wariantami były wyraźne przez cały okres doświadczenia, przy czym istotność statystyczną osiągnęły w terminach TIII i TIV. W pierwszym terminie pomiarowym (TI) rośliny podlewane wodą kranową uzyskiwały wartości  $PI_{abs}$  około 2,0, podczas gdy rośliny podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. około 2,6. W kolejnych terminach wartości  $PI_{abs}$  wzrastały u obu wariantów, a różnice między nimi stopniowo się zwiększały. W terminie TIII, gdzie odnotowano największe wartości  $PI_{abs}$ , rośliny podlewane wodą orto-klastrową osiągały wartości około 3,9, podczas gdy rośliny



podlewane wodą kranową około 2,7 i różnica ta była istotna statystycznie. W czwartym terminie (TIV) wartości  $PI_{abs}$  nieznacznie się obniżyły w obu wariantach, jednak przewaga roślin podlewanych wodą G.R.A.I.L. (około 3,6 vs. około 2,2) pozostała istotna statystycznie.

Wskaźnik  $PI_{abs}$  jest złożonym parametrem wywodzącym się z testu JIP, który integruje informacje o gęstości aktywnych centrów reakcji PSII, sprawności przechwytywania energii wzbudzenia oraz wydajności transportu elektronów poza QA (Strasser i in. 2004). Jest on znacznie bardziej czułym wskaźnikiem kondycji aparatu fotosyntetycznego niż  $F_v/F_m$ , ponieważ obejmuje wiele etapów procesu fotosyntetycznego (Tsimilli-Michael i Strasser 2008). Wyższe wartości  $PI_{abs}$  u roślin podlewanych wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. wskazują na ogólnie sprawniejsze funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego, obejmujące zarówno lepszą organizację kompleksów antenowych, jak i efektywniejszy transport elektronów w łańcuchu fotosyntetycznym. Szczególnie duże różnice między wariantami obserwowane u bazylii w TI oraz wyraźny spadek wartości  $PI_{abs}$  w TIV u roślin podlewanych wodą kranową sugerują, że woda orto-klastrowa może sprzyjać utrzymaniu wyższej aktywności fotosyntetycznej w warunkach potencjalnie stresowych. Brak istotnych różnic u petunii oraz późniejsze pojawianie się istotnych różnic u sałaty (od TIII) w porównaniu z bazylią (od TI) wskazuje na gatunkowe zróżnicowanie odpowiedzi na zastosowany rodzaj wody nawadniającej.



Ryc. 6. Wskaźnik funkcjonowania fotoukładu II ( $PI_{abs}$ ) (jedn. wzgl.)  $\pm$ S.D. u roślin bazylii, petunii i sałaty podlewanych wodą kranową i wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. w terminach I, II, III i IV. Średnie zaznaczone gwiazdką różnią się istotnie statystycznie ( $n=24$ ,  $p=0,05$ )

#### 4. Podsumowanie i wnioski

Prezentowane badanie miało na celu ocenę wpływu wody orto-klastrowej G.R.A.I.L., generowanej przy użyciu urządzenia do formowania orto-klastów, na wydajność fotosyntetyczną, rozwój i wzrost trzech gatunków roślin: bazylii (*Ocimum basilicum*), petunii (*Petunia* × *hybrida*) oraz sałaty (*Lactuca sativa*). Analizę przeprowadzono w czterech terminach pomiarowych (TI–TIV), z zastosowaniem pomiarów kinetyki indukcji fluorescencji chlorofilu a (krzywe OJIP) oraz wybranych parametrów pochodnych testu JIP.

**Krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu a (OJIP).** We wszystkich czterech terminach pomiarowych rośliny podlewane wodą orto-klastową G.R.A.I.L. wykazywały odmienne przebiegi krzywych OJIP w porównaniu z roślinami podlewanymi wodą kranową. Charakterystycznym wzorcem obserwowanym u bazylii i – w mniejszym stopniu – u sałaty i petunii były: (1) niższe lub zbliżone wartości fluorescencji minimalnej  $F_0$ , sugerujące bardziej efektywne przekazywanie energii wzbudzenia do centrów reakcji fotosystemu II (PSII); (2) niższe lub zbliżone wartości fluorescencji w punkcie J, wskazujące na mniejszą akumulację zredukowanego pierwotnego akceptora elektronów  $Q_A$ ; (3) wyraźnie wyższe wartości fluorescencji maksymalnej  $F_M$  (punkt P), świadczące o większej zdolności do redukcji puli plastochinonowej i o sprawniejszym transporcie elektronów na etapach dalszych niż  $Q_A$ .

Zaobserwowany wzorzec był konsekwentny we wszystkich czterech terminach u bazylii, pojawiał się z umiarkowaną intensywnością u petunii, natomiast u sałaty nasilał się wraz z kolejnymi terminami pomiarowymi, osiągając największą wyrazistość w terminach TIII i TIV. Wyniki te wskazują na gatunkowe zróżnicowanie odpowiedzi na zastosowany rodzaj wody, przy czym bazylia wykazywała efekt najwcześniej i z największą magnitudą, a sałata – największą dynamiką narastania efektu w czasie.

**Maksymalna wydajność kwantowa fotosystemu II ( $F_v/F_m$ ).** Parametr  $F_v/F_m$ , uznawany za standardowy wskaźnik kondycji fotosystemu II, wykazywał istotne statystycznie różnice ( $p = 0,05$ ) między wariantami nawadniającymi we wszystkich terminach u bazylii oraz w terminach TII–TIV u sałaty. U bazylii wartości  $F_v/F_m$  u roślin podlewanych wodą ortoklastrową mieściły się w zakresie 0,82–0,83, oscylując wokół optymalnej wartości referencyjnej 0,83 (Björkman i Demmig 1987), podczas gdy rośliny kontrolne wykazywały wartości obniżone do 0,74–0,79. Niższe wartości parametru u roślin podlewanych wodą kranową wskazują na suboptymalne funkcjonowanie centrów reakcji PSII, prawdopodobnie związane ze zwiększoną fotoinhibicją lub ograniczoną zdolnością regeneracji uszkodzonego białka D1 (Aro i in. 1993).

U sałaty wartości  $F_v/F_m$  w wariantcie G.R.A.I.L. utrzymywały się w przedziale 0,85–0,86, przekraczając wartość optymalną i wskazując na wyjątkowo sprawne funkcjonowanie fotosystemu II. U petunii różnice między wariantami nie osiągnęły progu istotności statystycznej w żadnym terminie. Gatunek ten charakteryzował się ogólnie niższymi wartościami  $F_v/F_m$  (0,60–0,69) oraz dużą zmiennością osobniczą, co może wskazywać na odmienną regulację procesów fotosyntetycznych lub większą podatność na czynniki środowiskowe (Demmig-Adams i Adams 1992).

**Wskaźnik funkcjonowania fotosystemu II ( $PI_{abs}$ ).** Złożony wskaźnik funkcjonowania fotosystemu II  $PI_{abs}$ , integrujący gęstość aktywnych centrów reakcji, sprawność przechwytywania energii wzbudzenia oraz wydajność transportu elektronów poza  $Q_A$  (Strasser i in. 2004; Tsimilli-Michael i Strasser 2008), okazał się parametrem bardziej czułym niż  $F_v/F_m$  w różnicowaniu efektów zastosowanego rodzaju wody. U bazylii różnice były istotne statystycznie we wszystkich czterech terminach, przy czym największe rozbieżności odnotowano w TI oraz utrzymywały się w TIV. U sałaty istotność statystyczna różnic pojawiła się od terminu TIII i utrzymywała się w TIV. U petunii, podobnie jak w przypadku  $F_v/F_m$ , różnice nie osiągnęły istotności statystycznej.

## Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

1. Zastosowanie wody orto-klastrowej G.R.A.I.L. jako medium nawadniającego wywarło statystycznie istotny, korzystny wpływ na wydajność fotochemiczną fotosystemu II u bazylii i sałaty, mierzony zarówno parametrem  $F_v/F_m$ , jak i wskaźnikiem  $PI_{abs}$ .
2. Efekt stosowania wody orto-klastrowej był gatunkowo zróżnicowany: najsilniejszy i najwcześniej ujawniający się u bazylii, narastający w czasie u sałaty, a nieznamienisty statystycznie u petunii.
3. Wskaźnik  $PI_{abs}$  okazał się czulszym narzędziem różnicowania efektów nawadniania niż  $F_v/F_m$ , co jest zgodne z jego złożoną, wieloparametrową naturą i potwierdza rekomendacje stosowania testu JIP do oceny kondycji aparatu fotosyntetycznego roślin.
4. Sałata (*Lactuca sativa*) wykazała szczególną responsywność na właściwości wody nawadniającej i może stanowić wartościowy model biologiczny do dalszych badań nad mechanizmami oddziaływania wody orto-klastrowej na procesy fotosyntetyczne.
5. Uzyskane wyniki wskazują na potrzebę rozszerzenia badań o pomiary wzrostu i plonowania roślin, parametry biochemiczne (zawartość chlorofilu, aktywność enzymów antyoksydacyjnych) oraz badania ultrastrukturalne chloroplastów, co pozwoliłoby na pełniejsze wyjaśnienie mechanizmów leżących u podstaw obserwowanego efektu.

## 5. Streszczenie popularnonaukowe

Czy rodzaj wody, którą podlewamy rośliny, może decydować o tym, jak dobrze fotosyntetyzują i jak szybko rosną? Wyniki niniejszego badania sugerują, że odpowiedź brzmi: tak, choć reakcja roślin zależy też od samego gatunku. Zwykła woda z kranu składa się z cząsteczek w nieuporządkowanym układzie. Woda orto-klastrowa G.R.A.I.L. to woda poddana specjalnemu procesowi fizycznemu, który zmienia sposób grupowania się jej cząsteczek. Tworzą one bardziej regularne struktury, tzw. orto-klastry. Badacze postanowili sprawdzić, czy rośliny podlewane taką wodą zachowują się inaczej niż te nawadniane zwykłą wodą z kranu. Przez kilka miesięcy obserwowano trzy popularne rośliny: bazylię, petunię i sałatę, mierząc regularnie wydajność ich fotosyntezy, czyli jak sprawnie każda roślina zamienia światło słoneczne w energię potrzebną do wzrostu.

Fotosynteza to proces, dzięki któremu rośliny wykorzystują energię światła słonecznego do wytwarzania związków organicznych. W zielonych komórkach liści znajdują się chloroplasty, wewnątrz których działają mikroskopijne kompleksy zwane fotosystemami. To właśnie one pochłaniają światło i rozpoczynają proces przekształcania energii słonecznej w energię chemiczną. Im sprawniej pracują, tym więcej energii roślina wytwarza. A co za tym idzie, tym szybciej rośnie, kwitnie i wydaje owoce lub liście. Naukowcy mają specjalne narzędzia do oceny tej sprawności: mierzą m.in. to, ile energii świetlnej jest rzeczywiście przetwarzane przez roślinę, a ile wraca jako blask (fluorescencja chlorofilu). Analizując te sygnały, można bardzo precyzyjnie ocenić, czy roślina jest zdrowa i wydajna.

Rośliny bazylii podlewane wodą orto-klastrową cechowały się większą wydajnością fotosyntetyczną. Ich aparat fotosyntezujący pracował sprawniej już od pierwszego terminu pomiarowego i ta zależność utrzymywała się przez cały czas trwania doświadczenia. Różnica była wyraźna i mierzalna. Wydajność aparatu fotosyntetycznego była nawet ponad dwukrotnie wyższa niż u roślin z grupy kontrolnej (podlewanych wodą z kranu). Efekt u sałaty pojawił się nieco później niż u bazylii, ale z był coraz wyraźniejszy. Po kilku tygodniach sałata podlewana wodą orto-klastrową osiągała znacznie wyższe wyniki

wydajności fotosyntezy niż sałata podlewana wodą kranową. Co ciekawe, u sałaty różnica była w pewnych pomiarach nawet bardziej wyraźna niż u bazylii, co sugeruje, że ten gatunek jest szczególnie wrażliwy na właściwości wody. W przypadku petunii wyniki były mniej jednoznaczne. Zaobserwowano pewną tendencję korzystną dla wody orto-kłastrowej, jednak różnice były na tyle małe i zmienne, że nie można ich uznać za statystycznie pewne. Może to oznaczać, że petunia jest po prostu mniej wrażliwa na ten rodzaj bodźca lub że jej reakcja wymaga innego sposobu pomiaru.

Wyniki niniejszego badania są obiecujące i uzasadniają dalsze zainteresowanie wodą orto-kłastrową jako potencjalnym narzędziem poprawy wydajności roślin. Sprawniejsza fotosynteza to w praktyce lepsza kondycja rośliny, szybszy wzrost, a w przypadku roślin użytkowych to potencjalnie wyższy plon i lepsza jakość produktu (np. większa zawartość substancji odżywczych w sałacie, intensywniejszy aromat bazylii).

Jednocześnie, aby sformułować pełną rekomendację wdrożeniową dla rolnictwa i ogrodnictwa, niezbędne są kolejne badania obejmujące: bezpośrednie pomiary plonu (masy liści, liczby owoców), jakości plonu (zawartości witamin, smaku, aromatu), a także ekonomicznej opłacalności stosowania urządzenia G.R.A.I.L. na większą skalę. Obecne wyniki dotyczą wyłącznie wydajności fotosyntezy. Są one ważnym wskaźnikiem, ale nie zastępują pomiarów agronomicznych.

Podsumowując: woda orto-kłastrowa G.R.A.I.L. wykazuje realny, mierzalny potencjał do poprawy kondycji fotosyntetycznej roślin, szczególnie bazylii i sałaty. To zachęcający sygnał dla producentów tych roślin. Rekomenduje się kontynuację badań w warunkach polowych i półpolowych z uwzględnieniem pełnego cyklu uprawowego, co pozwoli ostatecznie potwierdzić lub zweryfikować wpływ tej technologii nawadniania na plon i jakość produkcji roślinnej.

## 6. Literatura

Aro E.M., Virgin I., Andersson B. (1993) Photoinhibition of Photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Bioenergetics* 1143(2): 113–134.

Baker N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89–113.

Baker N. R., & Rosenqvist E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1607–1621.

Björkman O., Demmig B. (1987) Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489–504.  
[Springer](#)

Demmig-Adams B., Adams W.W. III (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 599–626.

Kalaji, H.M., Schansker, G., Brestič, M., Bussotti, F., Calatayud, A., Ferroni, L., Goltsev, V., Guidi, L., Jajoo, A., Li, P., Losciale, P., Mishra, V.K., Misra, A.N., Nebauer, S.G., Pancaldi, S., Penella, C., Pollastrini, M., Suresh, K., Tambussi, E., Yanniccari, M., Zivčák, M. (2017). Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynthesis Research*, 132, 13–66.

Kalaji H. M., Schansker G., Ladle R. J., et al. (2014). Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: Practical issues. *Photosynthesis Research*, 122(2), 121–158.

Maxwell, K., Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659–668.



Strasser R.J., Strasser B.J. (1995). Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP test. [W:] Mathis P. (red.), *Photosynthesis: from Light to Biosphere*, vol. V. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 977–980.

Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M., Srivastava, A. (2004). Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou G.C., Govindjee (eds.), *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Springer, Dordrecht, s. 321–362.

Stirbet A., Govindjee (2011). On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 104(1–2), 236–257.

Tsimilli – Michael M., Strasser R.J. (2008). In vivo assessment of stress impact on plant's vitality: application in detecting and evaluating the beneficial role of mycorrhization on host plants. W; Varma A. (red.) *Mycorrhiza*. Springer, Berlin, s. 679 – 703.

Zivčák M., Brestič M., Olšovská K., & Slamka, P. (2008). Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant, Soil and Environment*, 54(4), 133–139.

## 7. Załączniki



Załącznik 1. Fotografia prezentująca wykonanie pomiarów fluorescencji chlorofilu *a* na sałacie (fot. H. Kalaji)





Załącznik 2. Fotografia prezentująca wykonanie pomiarów fluorescencji chlorofilu *a* na bazylii (fot. H. Kalaji)





Załącznik 3. Fotografia prezentująca 3 gatunki roślin podlewane wodą orto-klastrową G.R.A.I.L. (bazylia, sałata i petunia) podczas eksperymentu (fot. H. Kalaji)