

**SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE**

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2024 roku

**A. INFORMACJE OGÓLNE**

Tytuł zadania:

**Genetyczne i rozwojowe aspekty plonowania i jakości surowca kozłka lekarskiego**Numer zadania: **32**Planowany okres realizacji zadania: **2024 r.**Planowane nakłady w zł: **153 600****B. DANE WNIOSKODAWCY**

Imię i nazwisko osoby reprezentującej jednostkę badawczą, (tytuł lub stopień naukowy, stanowisko, nazwa i adres jednostki badawczej, telefon, fax)

**Prorektor ds. Nauki****Prof. dr hab. Tomasz Okruszko****Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie****ul. Nowoursynowska 166****02-787 Warszawa****tel.: 22 59 310 11, fax.: 22 59 310 53****e-mail: [prorektor\\_nauka@sggw.edu.pl](mailto:prorektor_nauka@sggw.edu.pl)**

## C. INFORMACJA O WYKONAWCACH

### 1. Zespół badawczy

<b>kierownik zadania</b>		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Katarzyna Bączek	dr hab., prof. SGGW	SGGW w Warszawie: Katedra Roślin Warzywnych i Lecznicych, Instytut Nauk Ogrodniczych
<b>wykonawcy zadania</b>		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Zenon Węglarz	prof. dr hab.	SGGW w Warszawie: Katedra Roślin Warzywnych i Lecznicych, Instytut Nauk Ogrodniczych
Anna Pawełczak	dr inż.	
Jarosław L. Przybył	dr inż.	
Olga Kosakowska	dr hab.	
Ewelina Pióro-Jabrucka	dr inż.	SGGW w Warszawie: Katedra Botaniki, Instytut Biologii
Dominika Dmitruk	mgr inż.	
Doktoranci, magistranci	2 studentów	SGGW w Warszawie: Katedra Roślin Warzywnych i Lecznicych, Instytut Nauk Ogrodniczych
Pracownicy techniczni	3 pracowników	SGGW w Warszawie: Katedra Roślin Warzywnych i Lecznicych, Instytut Nauk Ogrodniczych

### 2. Kierownik zadania

**dr hab. Katarzyna Bączek, prof. SGGW**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Katedra Roślin Warzywnych i Lecznicych  
Instytut Nauk Ogrodniczych  
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa  
tel. 22 59 322 31 (sekretariat), 22 59 322 58 lub 512 122 734  
fax 22 59 322 32  
e-mail: katarzyna\_baczek@sggw.edu.pl

Dane osoby do kontaktu w razie nieobecności kierownika zadania nr 32

**Prof. dr hab. Zenon Węglarz**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Katedra Roślin Warzywnych i Lecznicych  
Instytut Nauk Ogrodniczych  
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa  
tel. 22 59 322 31 (sekretariat), 22 59 322 30 lub 501 686 811  
fax 22 59 322 32  
e-mail: zenon\_weglarz@sggw.edu.pl

## D. OPIS ZADANIA

### 1. Cele zadania

Lp.	Cel	Czy cel został zrealizowany (tak/nie/częściowo)
1.	Wytypowanie genów markerowych syntaz seskwiterpenowych u kozłka lekarskiego	tak
2.	Ocena wpływu wybranych czynników agrotechnicznych na pośpiechowość u kozłka lekarskiego.	tak
3.	Badania nad dynamiką przyrostu masy organów surowcowych i gromadzenia się w nich związków czynnych w uprawie kozłka lekarskiego w cyku 1,5-letnim (ozimym).	tak
4.	Określenie czynników pozbiornych wpływających na parametry jakościowe nasion kozłka lekarskiego.	tak

### 2. Harmonogram realizacji zadania

Lp.	Nazwa tematu badawczego	Termin rozpoczęcia – zakończenia tematu w miesiącach w danym roku	Przewidywane koszty tematu
1	Wytypowanie genów markerowych syntaz seskwiterpenowych u kozłka lekarskiego (analiza na zawartość kwasów walerenowych na 100 roślinach; badania reakcji qPCR w 2 powtórzeniach technicznych; 12 genów analizowanych oraz 2 geny referencyjne).	I-XII	70 000
2	Ocena wpływu wybranych czynników agrotechnicznych na pośpiechowość u kozłka lekarskiego (4 terminy obserwacji roślin; liczba prób do analiz chemicznych – 3; analizy chemiczne na próbach zbiorczych, w 3 powtórzeniach)	III-XII	41 600
3	Badania nad dynamiką przyrostu masy organów surowcowych i gromadzenia się w nich związków czynnych w uprawie kozłka lekarskiego w cyku 1,5-letnim (ozimym) (zbiór surowców w 2 terminach; analizy prowadzone będą na 3 frakcjach – kłącza, grube i cienkie korzenie; w 3 powtórzeniach; analizy: na zawartość kwasów walerenowych - HPLC, oraz na zawartość i skład olejków eterycznych – GC/MS)	I-IX	23 000
4	Określenie czynników pozbiornych wpływających na parametry jakościowe nasion kozłka lekarskiego (badane czynniki: czas i warunki przechowywania nasion; analizy: masa 1000 nasion, zdolność kiełkowania, żywotność; 3 terminy wykonania badań; przewidywana liczba prób: 36).	I-XII	19 000
<b>Razem:</b>			<b>153 600</b>

### 3. OPIS TEMATÓW BADAWCZYCH

#### 3. 1. Temat badawczy 1

#### Wytypowanie genów markerowych syntaz seskwiterpenowych u kozłka lekarskiego

##### Cel tematu badawczego 1

Celem tematu realizowanego w 2024 roku było wytypowanie genów markerowych syntaz seskwiterpenowych u kozłka.

##### Materialy i metody

W 2022 r. z roślin kozłka lekarskiego uprawianych na polu doświadczalnym SGGW w Wilanowie (obiekty pochodzące z rozmnażania wegetatywnego roślin matecznych pozyskanych w 2021r. z plantacji produkcyjnych) zebrano nasiona. Nasiona te wysiane zostały latem 2023r. do skrzynek ogrodniczych wypełnionych substratem torfowym. Po 4 tygodniach od skielkowania nasion, siewki zostały wypikowane do wielodoniczek. Z uzyskanych 10- tygodniowych siewek (100 szt.) pozyskane zostały próby liści i korzeni do analiz genetycznych (badania przeprowadzone w 2023r.). Rośliny te zostały opatrzone odpowiednio symbolami i wysadzone w doświadczeniu polowym na polu doświadczalnym w Wilanowie. W kolejnym roku uprawy (2024r.) w sierpniu pobrano próby liści, a w listopadzie - próby korzeni i liści (Fot. 1). Zarówno liście jak i korzenie wykorzystane zostały do przeprowadzenia analiz genetycznych (Fot. 2), natomiast korzenie analizowano także chemicznie na zawartość kwasów seskwiterpenowych (syn. walerenowych).



Fot. 1. Zbiór korzeni do badań genetycznych i oceny chemicznej (listopad 2024r.)



Fot. 2. Pobieranie prób korzeni i liści do badań genetycznych (listopad 2024r.)



Fot. 3. Organy podziemne kozłka przed oczyszczeniem i umyciem.



Fot. 4. Organy podziemne pojedynczej rośliny – umyte i pokrojone; przygotowane do suszenia.

#### Przeprowadzone badania chemiczne:

Organy podziemne kozłka po wykopaniu zostały oczyszczone z zanieczyszczeń mineralnych (Fot. 3), umyte i pokrojone (fot. 4), a następnie wysuszone (każdej rośliny oddzielnie) w temp. 35st C. Następnie poddane zostały analizom chemicznym na zawartość kwasów seskwiterpenowych z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej (HPLC). W badaniach zastosowano metodę farmakopealną. Badaniom poddano 100 roślin.

#### Przeprowadzone badania genetyczne:

##### **a) pobranie oraz zabezpieczenie materiału roślinnego:**

Do analiz molekularnych pobrano i zamrożono w ciekłym azocie materiał roślinny ze 100 roślin kozłka w sierpniu 2024 r. (liście) oraz na początku listopada 2024 r. (liście i korzenie). Materiał był przechowywany w -80°C do czasu dalszego postępowania.

##### **b) izolacja RNA:**

RNA izolowano z wykorzystaniem zestawu do izolacji RNA: Gene Matrix Universal RNA Purification Kit firmy EURx (zgodnie z załączoną instrukcją) po uprzednim utarciu materiału w ciekłym azocie z dodatkiem poliwinylpolipirrolidonu (PVPP) w stosunku masowym 1:1. Dodatkowo w trakcie procedury izolacji wykonano krok z użyciem DNazy I w celu usunięcia pozostałości DNA w próbkach. Czystość oraz stężenie RNA w próbach sprawdzono za pomocą spektrofotometru BioSpectrometer (Eppendorf). Integralność RNA oceniono za pomocą rozdziału elektroforetycznego na 1% żelu agarozowym, jako marker wielkości wykorzystując Perfect Plus 2kb (EURx).

##### **c) synteza cDNA:**

Na matrycy wyizolowanego RNA przeprowadzono syntezę cDNA z użyciem zestawu do odwrotnej transkrypcji: High-Capacity cDNA ReverseTranscription Kit (Applied Biosystems™) zgodnie z instrukcją producenta. Reakcja przebiegała w objętości 20 µl w termocyklerze Mastercycler Nexus GX2 (Eppendorf). Poniższe tabele (Tab. 1, 2) przedstawiają skład mieszaniny reakcyjnej oraz warunki reakcji.

**Tab. 1. Skład mieszaniny reakcyjnej do syntezy cDNA**

Odczynnik	Objętość (μl)
10x Bufor RT	2
25X dNTP Mix (100 mM)	0,8
10X RT RandomPrimers	2
MultiScribe™ ReverseTranscriptase	1
Woda dejonizowana traktowana DEPC	4,2
RNA (100 ng/μl)	10

**Tab. 2. Warunki reakcji syntezy cDNA**

Temperatura (°C)	Czas (min)
25	10
37	120
85	5

**d) przeprowadzenie reakcji real-time PCR (qPCR) dla par liść – korzeń z każdej badanej rośliny:**

Przeprowadzono reakcje real-time PCR w celu sprawdzenia poziomu ekspresji wybranych genów kodujących białka związane z biosyntezą terpenoidów. Reakcje prowadzono w termocyklerze CFX Connect Real-Time System (BioRad) w objętości 15 μl. Odczyt fluorescencji następował po każdym cyklu. W tabelach 3 i 4 przedstawiono skład mieszaniny reakcyjnej oraz warunki reakcji. W tabeli 5 przedstawiono sekwencje użytych par starterów. Dodatkowo dla każdej pary starterów sporządzono kontrolę negatywną reakcji (NTC), w której do mieszaniny odczynników i starterów nie dodano cDNA.

Skrót	Pełna nazwa enzymu
AACT	acetoacetyl-CoA thiolase
HMGS	hydroxymethylglutaryl-CoA synthase
HMGR	hydroxymethylglutaryl-CoA reductase
MVD	mevalonate diphosphate decarboxylase
IDI	isopentenyl diphosphate isomerase
FPS	farnesyl diphosphate synthase
DXR	1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase
MCT	2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidyltransferase
HDS	4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate synthase;

**Tab. 3. Skład mieszaniny reakcyjnej do qPCR**

Odczynnik	Objętość (μl)
2x iTaq Universal (BioRad)	7,5
Starter F, 10mM (Genomed)	0,3
Starter R, 10mM (Genomed)	0,3
Woda dejonizowana	1,9
cDNA	5

**Tab. 4. Warunki reakcji qPCR**

Proces	Temperatura (°C)	Czas
Denaturacja wstępna	95	2min
Denaturacja	95	15sek
Przyłączenie starterów i wydłużanie	60	30sek

} x40

**Tab. 5. Startery do genów badanych i referencyjnych**

Lp.	Nazwa	Typ startera (F/R)	Sekwencja startera (5' → 3')
1	VfAACT	F	ATCGGGCATGAAAGCAACCA
		R	GATCCCTTCCCTTGCTTCCGCTA
2	VfHMGS	F	TGGTGGAACTGCAGCATTGTTC
		R	CCGCACTGTCTGTGCACACGA
3	VfHMGR	F	TCAGATGCCCTGCCTCTTCC
		R	GATCTTCTCGCGCCACCTTG
4	VfMVD	F	AATGGAATCGCGCTGAAGGA
		R	CACAGCATTCGGCCCAGCAT
5	VfIDI	F	AGCAGATGCAGGCGAAGAGG
		R	GCCTCGCTTAAGTTCCCCTTCT
6	VfFPS	F	TGATGACGACGGCAAGGAGA
		R	CACCAACCAAGTGAGCATGCAAGA
7	VfDXR	F	AGAACTCCGGTCATTGTGCCA
		R	CCGCCTCGATCTTTGCAAGTTA
8	VfMCT	F	TCAGTTGCTCTGCAAATGGGAGT
		R	TCCCATTCTTGTGCCCTTTCC
9	VfHDS	F	CTGACAGGCGGGCACAGTTT
		R	GCCGATTTCGCATAGCTCTTCC
10	nTPS3	F	TTGGAGCTTCCGAGGCATTT
		R	AGCAAGGAAGAATCAGCCCC
11	nTPS4	F	CTACCATTTGCACGCGATCG
		R	GGCAATGGTTTTGGCCAACT
12	nTPS7	F	TCCGGAGTACATGAGACCCA
		R	TGCGTATTCAACCCGGTAGG
13	VoAct	F	AAT TTC TCG CTC TGC TGT GG
		R	TCT CTC TCT GTA TGC CAG TGG
14	VoEF1	F	GACTGTCACTTCTCACATTGCC
		R	TCTCGACCACCATAGGTTTGGT

#### **e) analiza statystyczna otrzymanych wyników**

Wydajność reakcji dla każdej pary starterów liczona jest z wykorzystaniem narzędzia LinRegPCR [Ramakers i wsp. 2003]. Względny poziom akumulacji transkryptu określany jest metodą pojedynczej delty [Livak i Schmittgen 2001]. Istotność statystyczna różnic akumulacji transkryptu w każdej grupie roślin (z wysoką, średnią lub niską zawartością kwasów walerenowych) oceniana jest z wykorzystaniem analizy wariancji (one-way ANOVA) z testem Tukeya HSD w programie statystycznym Statgraphics *stratus* (Statgraphics Technologies, Inc.).



## Wyniki

### 1) Analizy chemiczne

Tabela 1. Zawartość kwasów seskwiterpenowych w badanych roślinach (1. kwas hydroksywalerenowy; 2. kwas acetoxywalerenowy; 3. kwas walerenowy) [%].

Kwasy seskw.	Nr rośliny																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01
2	0,02	0,14	0,13	0,29	0,25	0,16	0,01	0,02	0,01	0,18	0,26	0,08	0,11	0,21	0,03	0,08	0,18	0,15	0,06	0,16	0,06	0,21	0,19	0,14	0,22
3	0,30	0,10	0,02	0,06	0,08	0,23	0,44	0,37	0,28	0,05	0,16	0,03	0,03	0,15	0,33	0,03	0,13	0,06	0,01	0,06	0,08	0,04	0,02	0,18	0,16
1+2+3	0,33	0,24	0,16	0,36	0,33	0,40	0,46	0,39	0,29	0,24	0,43	0,11	0,15	0,36	0,36	0,11	0,32	0,22	0,08	0,22	0,14	0,26	0,22	0,32	0,39

Kwasy seskw.	Nr rośliny																								
	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
2	0,28	0,21	0,24	0,14	0,13	0,27	0,21	0,08	0,12	0,11	0,13	0,11	0,13	0,11	0,18	0,13	0,15	0,02	0,25	0,13	0,08	0,10	0,22	0,17	0,17
3	0,23	0,08	0,08	0,07	0,08	0,10	0,14	0,10	0,03	0,05	0,02	0,10	0,04	0,07	0,07	0,05	0,05	0,21	0,06	0,04	0,06	0,11	0,06	0,03	0,03
1+2+3	0,52	0,31	0,33	0,22	0,22	0,38	0,36	0,18	0,15	0,16	0,16	0,22	0,17	0,19	0,26	0,18	0,21	0,24	0,32	0,18	0,15	0,21	0,29	0,21	0,21

Kwasy seskw.	Nr rośliny																								
	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
1	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01
2	0,07	0,21	0,01	0,07	0,07	0,11	0,08	0,20	0,19	0,12	0,08	0,11	0,05	0,16	0,11	0,01	0,05	0,15	0,16	0,20	0,09	0,01	0,07	0,09	0,11
3	0,07	0,19	0,13	0,04	0,06	0,07	0,08	0,03	0,05	0,05	0,03	0,04	0,02	0,10	0,03	0,10	0,09	0,09	0,06	0,09	0,21	0,10	0,05	0,05	0,09
1+2+3	0,15	0,41	0,15	0,11	0,13	0,18	0,17	0,24	0,26	0,18	0,12	0,15	0,08	0,27	0,15	0,12	0,15	0,25	0,23	0,29	0,31	0,12	0,13	0,15	0,20

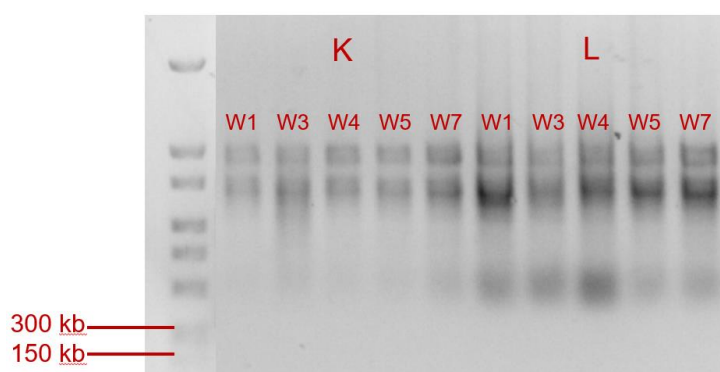
Kwasy seskw.	Nr rośliny																									
	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
1	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
2	0,11	0,13	0,06	0,07	0,09	0,16	0,06	0,12	0,07	0,25	0,19	0,11	0,01	0,01	0,28	0,03	0,13	0,14	0,06	0,09	0,01	0,03	0,04	0,08	0,11	0,11
3	0,09	0,08	0,11	0,06	0,06	0,05	0,07	0,17	0,04	0,08	0,11	0,06	0,16	0,31	0,15	0,04	0,03	0,04	0,02	0,05	0,13	0,03	0,02	0,01	0,03	0,16
1+2+3	0,20	0,22	0,18	0,14	0,16	0,22	0,13	0,30	0,12	0,34	0,31	0,18	0,18	0,33	0,44	0,08	0,17	0,19	0,09	0,15	0,15	0,07	0,07	0,10	0,14	0,28

Analiza chemiczna organów podziemnych (surowcowych) badanych roślin pozwoliła na wyodrębnienie trzech grup roślin, tj. o niskiej, średniej i wysokiej zawartości kwasów seskwiterpenowych (tab. 1). Jako odniesienie do wytypowania tych grup zastosowano wartości wskazane w monografii farmakopealnej dla korzenia kozłka lekarskiego (*Valeriana radix*), wg. których minimalna zawartość sumy kwasów seskwiterpenowych w surowcu nie powinna być niższa niż 0,17%. W badanych próbach zawartość ta wahała się od 0,07 do 0,52%. Wyniki te stanowią podstawę do przeprowadzenia analizy danych genetycznych.

## 2) Analizy genetyczne

### a) izolacja RNA:

W celu upewnienia się o poprawności stosowanej metody izolacji RNA kilka próbek rozdzielono elektroforetycznie, by ocenić integralność wyizolowanego RNA (Ryc. 1). Wyizolowany RNA był integralny i dobrej jakości (o czym świadczą widoczne na Ryc. 1 wyraźne prążki reprezentujące podjednostki rybosomowe: 28S i 18S - występują jako równe paski, nie ma smug świadczących o degradacji RNA).



**Ryc. 1.** Integralność RNA kilku wybranych prób po ucieraniu z PVPP. L – liście, K – korzenie. Wzorzec Perfect Plus2 kb (EURx).

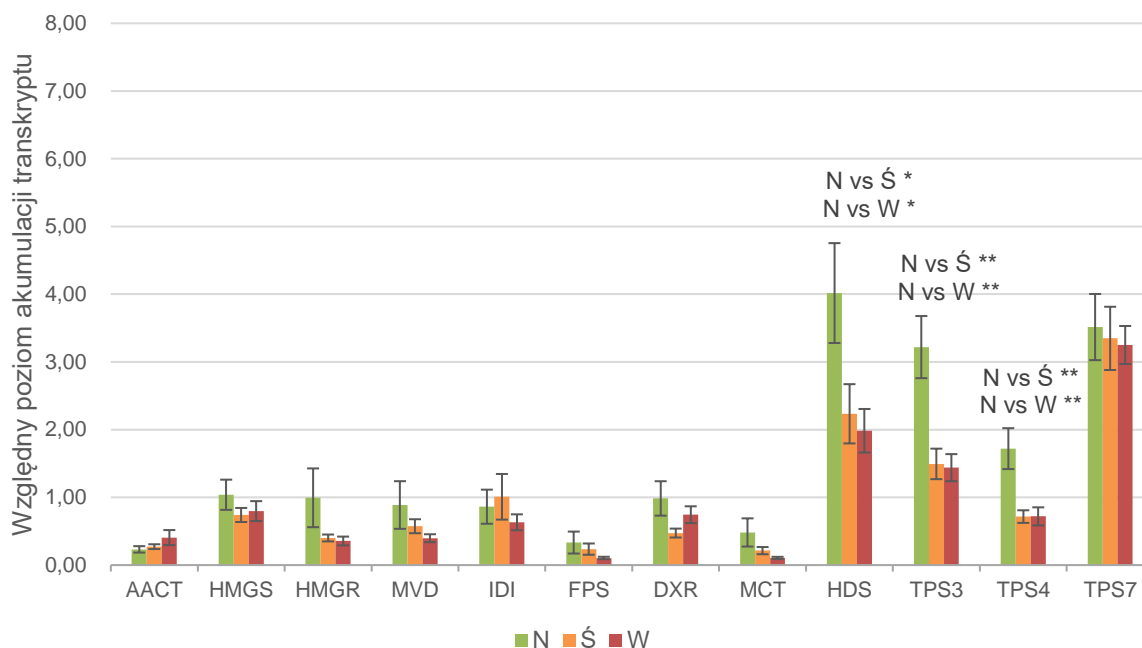
### b) analiza ekspresji genów kodujących syntazy seskwiterpenowe dla trzech grup kozłka o zróżnicowanej zawartości kwasu walerenowego i dla różnych faz rozwojowych roślin (siewki oraz rośliny w okresie zbioru surowców)

W 2024 r. wykonano analizy chemiczne zawartości kwasów seskwiterpenowych w korzeniach roślin zebranych na początku listopada 2024r. Dzięki tym analizom możliwe było przypisanie poszczególnych roślin do grup o wysokiej, średniej i niskiej zawartości kwasów. Wykonano analizę statystyczną wyników qPCR uzyskanych dla korzeni i liści siewek w 2023 r.

Otrzymane profile ekspresji dla liści i korzeni siewek wykazały znaczne różnice (Ryc. 2 i 3). Ogólna ekspresja genów w korzeniach była na podobnym poziomie jak w liściach. W korzeniach siewek większość genów miała najwyższą ekspresję w grupie o niskiej (N) zawartości kwasów, z istotnymi różnicami w przypadku genów *HDS*, *TPS3* i *TPS4*, przy czym ekspresja genów grup *S* i *W* nie różniła się (Ryc. 2). W liściach siewek geny *HDS*, *TPS3* i *TPS4* miały istotnie wyższą ekspresję w grupie *W* niż w grupie *N* (Ryc. 3).

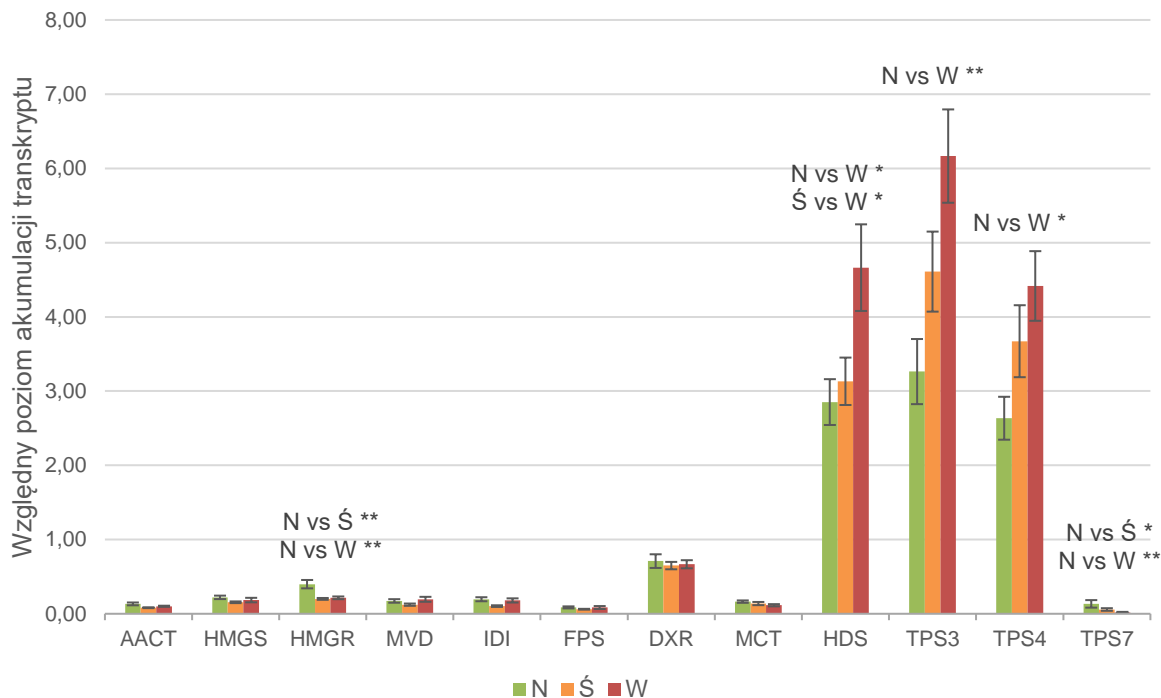
Zarówno w korzeniach, jak i liściach siewek grupa genów: *HDS*, *TPS3* i *TPS4* wyróżniała się kilkukrotnie wyższą ekspresją niż pozostałe badane geny.

## KORZENIE - SIEWKI 2023



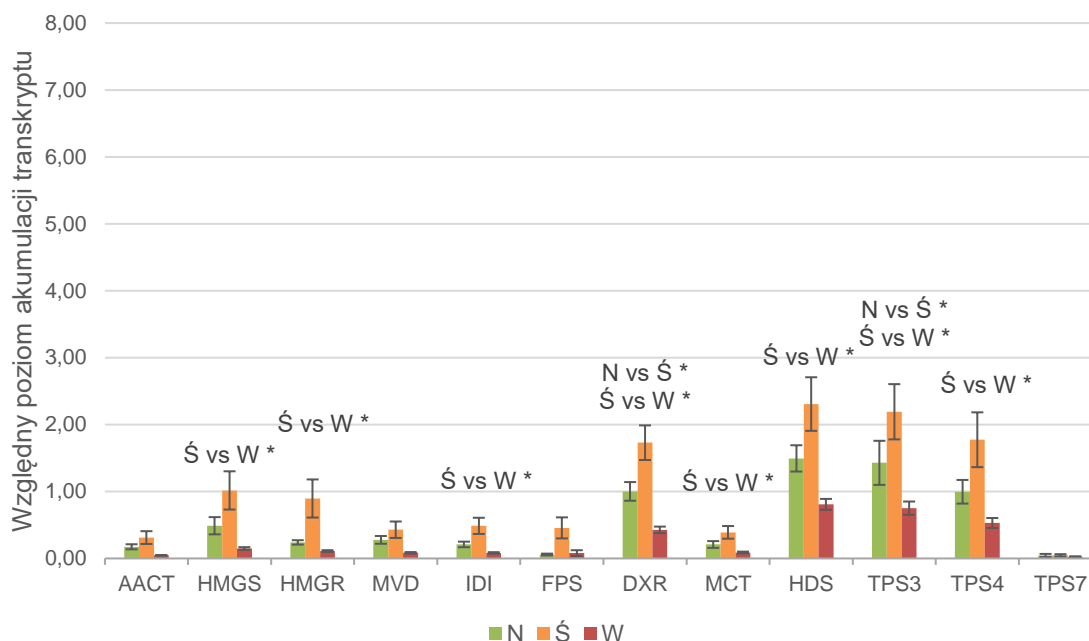
**Ryc. 2. Profil ekspresji genów syntezy kwasu walerenowego w korzeniach siewki dla trzech grup roślin o różnej zawartości kwasu walerenowego.** N – grupa o niskiej zawartości kwasu, Ś – grupa o średniej zawartości kwasu, W – grupa o wysokiej zawartości kwasu. Liczebność każdej grupy wynosiła ok. 30 roślin (n = 30). Słupki błędów przedstawiają błąd standardowy. Istotne różnice statystyczne zaznaczono nad odpowiednimi genami, przy czym: \* - p < 0,05; \*\* - p < 0,01.

## LIŚCIE - SIEWKI 2023



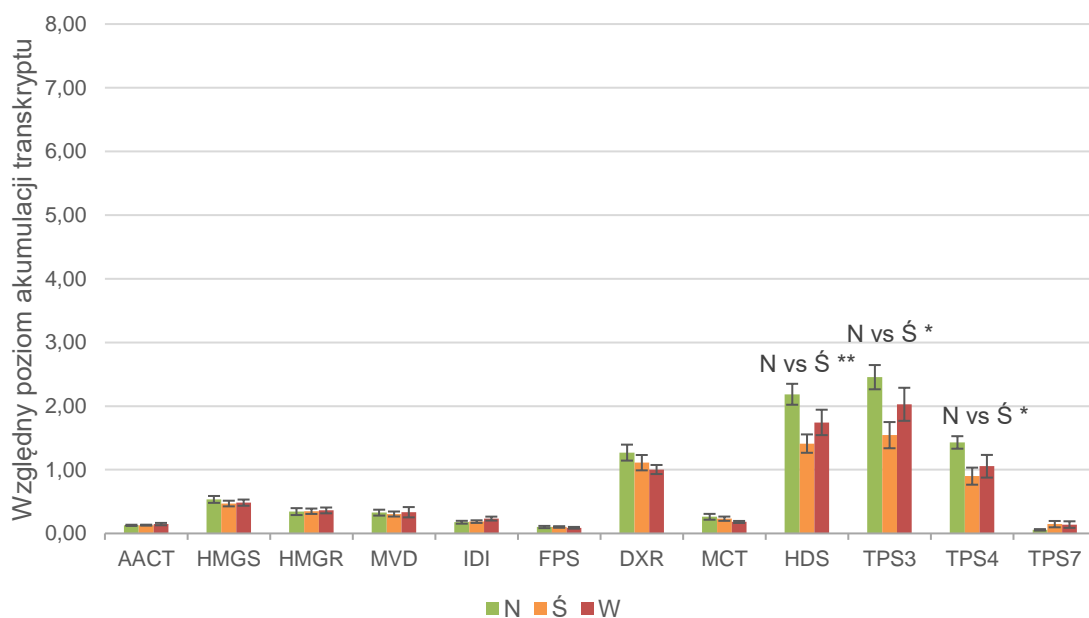
**Ryc. 3. Profil ekspresji genów syntezy kwasu walerenowego w liściach siewki dla trzech grup roślin o różnej zawartości kwasu walerenowego.** N – grupa o niskiej zawartości kwasu, Ś – grupa o średniej zawartości kwasu, W – grupa o wysokiej zawartości kwasu. Liczebność każdej grupy wynosiła ok. 30 roślin (n = 30). Słupki błędów przedstawiają błąd standardowy. Istotne różnice statystyczne zaznaczono nad odpowiednimi genami, przy czym: \* - p < 0,05; \*\* - p < 0,01.

## LIŚCIE - LATO 2024



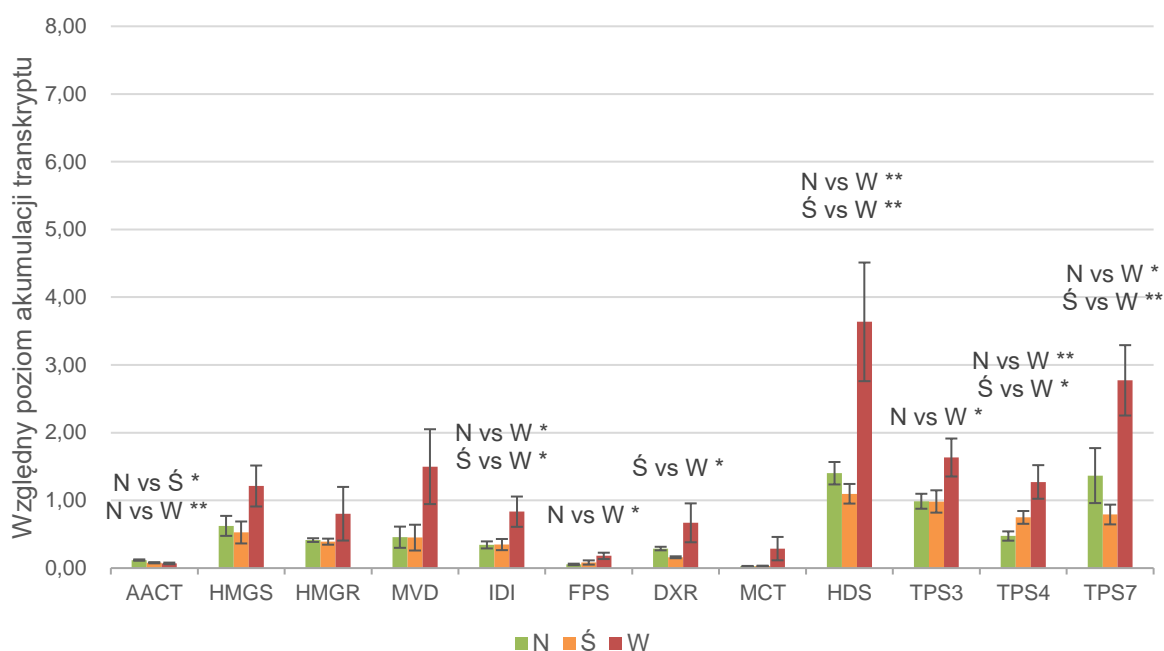
**Ryc. 4. Profil ekspresji genów syntezy kwasu walerenowego w liściach letnich kozłka dla trzech grup roślin o różnej zawartości kwasu walerenowego.** N – grupa o niskiej zawartości kwasu, Ś – grupa o średniej zawartości kwasu, W – grupa o wysokiej zawartości kwasu. Liczebność każdej grupy wynosiła ok. 30 roślin (n = 30). Słupki błędów przedstawiają błąd standardowy. Istotne różnice statystyczne zaznaczono nad odpowiednimi genami, przy czym: \* - p < 0,05; \*\* - p < 0,01.

## LIŚCIE - JESIEŃ 2024



**Ryc. 5. Profil ekspresji genów syntezy kwasu walerenowego w liściach jesiennych kozłka dla trzech grup roślin o różnej zawartości kwasu walerenowego.** N – grupa o niskiej zawartości kwasu, Ś – grupa o średniej zawartości kwasu, W – grupa o wysokiej zawartości kwasu. Liczebność każdej grupy wynosiła ok. 30 roślin (n = 30). Słupki błędów przedstawiają błąd standardowy. Istotne różnice statystyczne zaznaczono nad odpowiednimi genami, przy czym: \* - p < 0,05; \*\* - p < 0,01.

## KORZENIE - JESIEŃ 2024



**Ryc. 6. Profil ekspresji genów syntezy kwasu walerenowego w korzeniach jesiennych kozłka dla trzech grup roślin o różnej zawartości kwasu walerenowego.** N – grupa o niskiej zawartości kwasu, Ś – grupa o średniej zawartości kwasu, W – grupa o wysokiej zawartości kwasu. Liczebność każdej grupy wynosiła ok. 30 roślin (n = 30). Słupki błędów przedstawiają błąd standardowy. Istotne różnice statystyczne zaznaczono nad odpowiednimi genami, przy czym: \* - p < 0,05; \*\* - p < 0,01.

W liściach kozłka zebranych latem ekspresja wszystkich genów była „odwrócona” w stosunku do pozostałych badanych terminów – grupa W wykazywała najniższą ekspresję u wszystkich badanych genów, a Ś – najwyższą (Ryc. 4). W liściach zebranych jesienią nie wykazano korelacji ekspresji genów z zawartością kwasów walerenowych w korzeniach (surowcu) (Ryc. 5).

W korzeniach zebranych jesienią wykazano korelację poziomu ekspresji genów z zawartością kwasów w surowcu w przypadku prawie wszystkich genów (Ryc. 6). Ekspresja genów była istotnie najwyższa w grupie W w 6 z 12 badanych genów, a w przypadku 5 z 12 miała wyraźną tendencję w tym kierunku. Co ważne, istotne różnice występowały w ekspresji genów *HDS*, *TPS3* i *TPS4*, które wykazały takie same istotne różnice w liściach siewek (Ryc. 3). Geny te są obiecującymi kandydatami na geny markerowe syntezy kwasów walerenowych w surowcu kozłka.

### PODSUMOWANIE:

- ogólny poziom ekspresji genów był na zbliżonym poziomie we wszystkich badanych terminach zbioru i fazach rozwojowych kozłka, jedynie w siewkach grupa genów *HDS*, *TPS3* i *TPS4* wykazywała 2-3-krotnie wyższą ekspresję niż w innych terminach;
- grupa genów *HDS*, *TPS3* i *TPS4* wykazywała znacznie wyższą ekspresję niż inne pozostałe badane geny we wszystkich grupach N, Ś i W kozłka i we wszystkich badanych fazach rozwojowych;
- geny *HDS*, *TPS3* i *TPS4* są obiecującymi kandydatami na geny markerowe syntezy kwasów walerenowych w surowcu (korzeniach) kozłka lekarskiego, które mogłyby być wykorzystywane już na etapie siewek tej rośliny w badaniach selekcyjnych – w siewkach wykazano korelację poziomu ich ekspresji z zawartością kwasów w korzeniach pobranych z tych samych roślin zebranych na cele produkcyjne rok później.

**Mierniki dla tematu badawczego 1**

Lp.	Miernik <sup>1</sup>	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Liczba badanych genów	12	12
2	Liczba zastosowanych genów referencyjnych	2	2
3	Liczba prób do analiz chemicznych	100	100

---

<sup>1</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

### 3.2. Temat badawczy 2

#### Ocena wpływu wybranych czynników agrotechnicznych na pośpiechowość u kozłka lekarskiego.

Celem badań było określenie wpływu terminu usuwania pędów kwiatostanowych (pośpiechów) na masę i jakość korzeni kozłka lekarskiego.

#### Materiały i metody

Materiałem badawczym wykorzystanym podczas realizacji tego tematu był klon III 16/5 wyselekcjonowany z uprawnej populacji kozłka 'Lubelski' na podstawie wysokiej zawartości substancji aktywnych w surowcu. Klon ten został wprowadzony do kultur *in vitro* w roku 2021. Do inicjacji kultury wykorzystano eksplantaty z niedojrzałych kwiatostanów. Następnie podczas prac prowadzonych w latach 2022-23 opracowano metody mikrorozmnażania i aklimatyzacji *ex vitro* uzyskanych mikrosadzonek. Mikrosadzonki wybranego klonu ukorzenione na pożywce ½ MS/B5 bez regulatorów wysadzono do podłoża torfowego z dodatkiem piasku i zaaklimatyzowano w szklarni. Dobrze rozwinięte sadzonki wysadzono w pole 15.06.23 r. Na wiosnę w roku 2024 rośliny klonu III 16/5 będące w drugim roku wegetacji podzielono na trzy grupy liczące po 20 osobników. W przypadku dwóch grup usunięto pędy kwiatostanowe (pośpiechy), w dwóch terminach wyznaczonych w zależności od fazy rozwojowej roślin:

- I. 23.05.24 – przed kwitnieniem roślin,
- II. 07.06.24 – na początku pełni kwitnienia.

Pędy kwiatostanowe ścinano na wysokości 25-30 cm nad szyjką korzeniową, tak aby pozostawić 2-3 węzłowy fragment pędu z zielonymi liśćmi umożliwiającymi asymilację. Trzecia grupa roślin stanowiła kontrolę, w której nie usuwano kwiatostanów. W trakcie wegetacji przeprowadzono obserwacje odrastania pędów (pośpiechów) w 3 terminach:

- 07.06.24
- 14.06.24
- 23.06.24.

Każdorazowo obserwacje dotyczyły 6 losowo wybranych roślin pochodzących z grup różniących się terminem usunięcia pośpiechów. Podczas obserwacji określano:

- liczbę odrastających pędów/roślinę,
- długość odrastających pędów,
- fazę rozwoju kwiatostanów na odrastających pędach.

Wszystkie odrastające pędy (z obydwu badanych grup) usunięto pod koniec czerwca. W grupie kontrolnej kwiatostany/owocostany pozostawiono na roślinach do momentu dojrzenia nasion. Jesienią, w listopadzie 2024r. (4. termin obserwacji) wszystkie rośliny wykopano a następnie oceniono:

- liczbę i długość pędów,
- masę i strukturę organów podziemnych (surowiec),
- w surowcu - zawartość kwasów seskwiterpenowych (syn. walerenowych) i olejku eterycznego oraz jego skład chemiczny (analizy wykonano w 3. powtórzeniach).

Wyniki opracowano statystycznie wykorzystując jednoczynnikową analizę wariancji i test Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ .

## Wyniki

Fotografie 1-8 przedstawiają rośliny klonu III 16/5 z grupy kontrolnej w kolejnych fazach rozwoju kwiatostanów/owocostanów. Na początku drugiej dekady maja wszystkie rośliny miały wyraźnie widoczne wydłużone pędy kwiatostanowe (pośpiechy). Na wierzchołkach pędów znajdowały się liczne pąki kwiatowe o różowym zabarwieniu (fot. 1 i 2 – faza pąków kwiatowych). Rośliny zaczęły kwitnąć na przełomie maja i czerwca i już pod koniec pierwszej dekady czerwca osiągnęły pełnię kwitnienia, która trwała do końca tego miesiąca (fot. 3-6). Już na początku lipca obserwowano kwitnienie ostatnich kwiatów w kwiatostanach i masowe dojrzewanie owoców (niełupki), czego oznaką było ich brązowienie i rozwijanie się puchu kielichowego (fot. 7 i 8).



Fot. 1. Rośliny z wykształconymi pędami kwiatostanowymi przed kwitnieniem (23.05.24)



Fot. 2. Kwiatostan z wybarwionymi pąkami kwiatowymi (23.05.24)



Fot. 3. Rośliny z grupy kontrolnej na początku pełni kwitnienia (07.06.24)



Fot. 4. Kwiatostan na początku pełni kwitnienia (07.06.24)





Fot. 5. Rośliny z grupy kontrolnej w pełni kwitnienia (23.06.24)



Fot. 6. Kwiatostan w pełni kwitnienia (23.06.24)



Fot. 7. Rośliny z grupy kontrolnej w fazie dojrzewania i osypywania się nasion (05.07.24)



Fot. 8. Owocostan w fazie dojrzewania i osypywania nasion (05.07.24)

W przypadku grupy roślin, u której pościechy ścięto przed rozwinięciem kwiatów (23.05.24), już w pierwszym terminie stwierdzono obecność licznie odrastających młodych pędów (fot 9 i 10). Zlokalizowane były one w kątach liści na pozostawionych dolnych odcinkach pędów kwiatostanowych (pędy kątowe), lub wyrastały z szyjki korzeniowej (pędy odziomkowe). Odrosty szybko wytwarzały nowe kwiatostany (fot. 11). Po miesiącu od usunięcia pościechów na wszystkich odrośniętych bocznych pędach widoczne były kwiatostany w pełni kwitnienia (fot. 12).



Fot . 9. Rośliny po usunięciu pośpiechów w I terminie (23.05.24)



Fot. 10. Pędy kwiatostanowe odrastające z kątów liści po 2 tygodniach od usunięcia pośpiechów (07.06.24)



Fot. 11. Odrastające pędy z kwiatostanami na początku kwitnienia (14. 06. 24)



Fot.12. Odrosty w pełni kwitnienia (23.06.24)

W przypadku roślin, u których pośpiechy usunięto w późniejszym terminie – na początku pełni kwitnienia (7 czerwca), liście na dolnych (pozostawionych) odcinkach pędów kwiatostanowych zaczynały już żółknąć (fot.13). Mimo to na łodygach z kątów tych liści zaczęły wyrastać nowe pędy, które zakwitły już po 2 tygodniach od usunięcia pośpiechów (fot. 14 i 15).



Fot . 13. Rośliny po usunięciu pośpiechów w II terminie (07.06.24)



Fot. 14. Odrastające pędy z kwiatostanami na początku kwitnienia (14. 06. 24)



Fot. 15. Odrosty w pełni kwitnienia (23.06.24)

Rośliny u których usuwano pośpiechy w różnych terminach, różniły się pod względem liczby i długości odrastających pędów kątowych, natomiast wytwarzały podobną liczbę nowych pędów odziomkowych (tab. 1.). U roślin, z których pośpiechy usunięto przed kwitnieniem powstało więcej odrostów w kątach dolnych liści niż u roślin, których pośpiechy usunięto na początku pełni kwitnienia. Przy obydwu terminach usuwania pośpiechów (mimo dwutygodniowej różnicy), na nowo ukazujących się pędach kątowych kwiaty rozwinęły się w tym samym czasie.

Tabela 1. Liczba i długość odrastających pędów kwiatostanowych wytworzonych przez rośliny kozłka w zależności od terminu usunięcia pośpiechów

Termin usunięcia pośpiechów	Liczba pędów/roślinę		Długość pędów (cm)		Faza rozwojowa
	odziomkowych	kątowych	odziomkowych	kątowych	
I termin obserwacji (07.06.24)					
23.05.24	5,5	24,0	16,0	7,0	pąki kwiatowe
07.06.24	-	-	-	-	-
II termin obserwacji (14. 06.24)					
23.05.24	9,0	26,0*	41,6	23,8*	pąki kwiatowe lub początek kwitnienia
07.06.24	4,5	4,5	42,2	4,6	pąki kwiatowe lub początek kwitnienia
III termin obserwacji (23.06.24)					
23.05.24	10,0	23,0*	64,5	49,5*	pełnia kwitnienia
07.06.24	6,0	12,2	54,0	15,2	pełnia kwitnienia

Srednie oznaczone \* są wyższe na poziomie istotności  $\alpha=0,05$

Rośliny wszystkich badanych grup jesienią wytworzyły liście odziomkowe (fot. 16 - 21). Rośliny z grupy kontrolnej (z pozostawionymi pośpiechami) charakteryzowały się najmniej okazałą częścią nadziemną i podziemną. Najbujniejszy wzrost liści i kłączy z korzeniami obserwowano u roślin, których pośpiechy usunięto na początku pełni kwitnienia.



Fot. 16. Rozety liściowe roślin z grupy kontrolnej



Fot. 17. Rośliny z grupy kontrolnej



Fot. 18. Rozety liściowe roślin, z których pośpiechy usunięto przed kwitnieniem (23.05.24)



Fot. 19. Rośliny, z których pośpiechy usunięto przed kwitnieniem (23.05.24)



Fot. 20. Rozety liściowe roślin, z których pośpiechy usunięto na początku pełni kwitnienia (07.06.24)



Fot. 21. Rośliny, z których pośpiechy usunięto na początku pełni kwitnienia (07.06.24)

Analiza przeprowadzona po zbiorze wykazała, że najwyższą masę organów podziemnych (430,05 g/roślinę) wytworzyły rośliny, z których pędy kwiatostanowe (pośpiechy) zostały usunięte na początku pełni kwitnienia (07.06.24) (tab. 2.). Masa ta u roślin, u których pędy usunięto nieco wcześniej (23.05.24) była wyraźnie niższa (334,6 g/roślinę). Najniższą masę organów podziemnych (162,18 g/roślinę) uzyskano w przypadku roślin stanowiących grupę kontrolną (bez usuwania pośpiechów). Rośliny te wytworzyły także korzenie cieńsze niż rośliny poddane usunięciu pośpiechów. Charakteryzowały się one jednak najwyższą zawartością kwasów seskwiterpenowych i olejku eterycznego (tab. 2). Związkami dominującymi w oleju u wszystkich badanych grup roślin był  $\alpha$ -fenchon oraz octan bornylu, typowe składniki olejku walerianowego. W największej ilości wystąpiły one również w oleju roślin kontrolnych (tab. 3). Kłaczka wszystkich badanych grup roślin uległy fragmentacji, a podzielone części kłaczki dały początek nowym, samodzielnym roślinom (fot. 22-27). Najbardziej widoczne było to jednak w przypadku grupy kontrolnej (fot. 22 i 23).

Tabela 2. Charakterystyka morfologiczna i chemiczna roślin, w zależności od terminu usuwania z nich pośpiechów (**IV termin obserwacji**).

Termin usunięcia pośpiechów	Świeża masa (g)		Liczba pędów (szt./rośl.)	Długość (cm)		Grubość korzeni (mm)	Zawartość kwasów seskwiterpenowych [%]				Zawartość olejku eterycznego [mL/ kg s.m.]
	całej rośliny	kłącza z korzeniami		pędu	korzeni		1	2	3	1+2+3	
Kontrola (nie usunięte)	270,38 b	162,18 b	17,0 a	48,8 a	19,0 a	2,9 b	0,01	0,32	0,24	0,57a	8,0a
23.05.24	713,87 ab	334,6 ab	12,3 a	58,3 a	22,5 a	3,4 a	0,01	0,22	0,20	0,43b	6,8b
07.06.24	920,72 a	430,05 a	19,0 a	56,0 a	19,2 a	3,2 ab	0,01	0,29	0,22	0,52ab	7,3ab

Średnie oznaczone takimi samymi literami nie różnią się na poziomie istotności  $\alpha=0,05$  wg testu Tuckeya

1. kwas hydroksywalerenowy; 2. kwas acetoxywalerenowy; 3. kwas walerenowy

Tabela 3. Skład chemiczny olejku eterycznego roślin, w zależności od terminu usuwania z nich pośpiechów (**IV termin obserwacji**).

Lp.	Składniki chemiczne olejku	Termin usunięcia pośpiechów		
		kontrola*	23.05.24	07.06.24
1	pinene <alpha->	3,98	2,96	3,23
2	<b>fenchene &lt;alpha-&gt;</b>	<b>13,81</b>	<b>9,95</b>	<b>11,31</b>
3	pinene <beta->	2,44	1,89	2,19
4	limonene	0,64	0,51	0,71
5	phellandrene <beta->	0,45	0,54	0,15
6	p-cymene	0,12	0,11	0,12
7	hexyl n-valerate	0,10	0,09	0,21
8	elemene <delta->	0,48	0,54	0,18
9	alpha copaene	0,35	0,93	0,85
10	selinene <beta->/ alpha gurjenene	0,72	0,85	0,85
11	<b>bornyl acetate</b>	<b>37,29</b>	<b>30,88</b>	<b>35,42</b>
12	thymol methyl ether	0,57	0,49	0,46
13	caryophyllene <(e)->	0,15	0,11	0,10
14	beta gurjenene	0,47	0,49	0,47
15	humulene <alpha->	1,99	3,15	2,87
16	gamma muurolene	0,78	1,17	1,06
17	myrtenyl acetate	2,42	1,65	0,98
18	isovaleric acid	0,60	0,77	0,66
19	.alpha.-terpinyl acetate	0,45	0,26	0,58
20	valencene	0,26	0,10	0,11
21	borneol	0,43	0,43	0,44
22	germacrene D	1,84	1,52	1,47
23	kessane	0,12	0,56	0,09
24	myrtenol	0,10	śl.	0,08
25	2,5 dimetoxy p-cymen	0,11	0,10	0,10
26	myrtenyl isovalerate	śl.	śl.	1,03
27	ionone <(e)-, beta->	0,04	0,07	0,05
28	caryophyllene oxide / epoxy	2,15	2,44	2,50
29	pacifigorgiol	3,59	3,14	3,21
30	maaliol	0,49	0,21	0,40
31	ledol	0,71	0,06	0,08
32	valeranone/ bornyl isovalerate	0,19	0,18	0,15
33	spathulenol	5,17	5,41	5,35
34	valerenal	3,88	3,12	7,37
35	isospathulenol	3,54	2,34	3,98
36	trans-valerenyl acetate	0,13	0,36	0,17
37	kessanyl acetate / valerianol	0,26	0,17	0,34
38	selinene - 11,12 - diol	0,34	0,12	0,10
39	cis-valerenyl acetate	0,46	0,15	0,17
40	valeric acid	0,09	0,30	0,69

\*rośliny u których nie usunięto pośpiechów



Fot. 22. Kłacza z korzeniami roślin z grupy kontrolnej



Fot. 23. Przekrój przez kłacze rośliny z grupy kontrolnej



Fot. 24. Kłacza z korzeniami roślin, których pośpiechy usunięto przed kwitnieniem (23.05.24)



Fot. 25. Przekrój przez kłacze rośliny, której pośpiechy usunięto przed kwitnieniem (23.05.24)



Fot. 26. Kłacza z korzeniami roślin, których pośpiechy usunięto na początku pełni kwitnienia (07.06.24)



Fot. 27. Przekrój przez kłacze rośliny, której pośpiechy usunięto na początku pełni kwitnienia (07.06.24)



## Mierniki dla tematu badawczego 2

Lp.	miernik <sup>2</sup>	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Warianty doświadczenia – terminy usuwania pośpiechów i kontrola	3	3
2	Terminy obserwacji roślin	4	4
3	Liczba prób do analiz chemicznych	3	3
4	Liczba powtórzeń analiz chemicznych	3	3

---

<sup>2</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

### 3.3 Temat badawczy 3

#### **Badania nad dynamiką przyrostu masy organów surowcowych kozłka lekarskiego i gromadzenia się w nich związków biologicznie czynnych (badania w cyku 1,5 rocznym)**

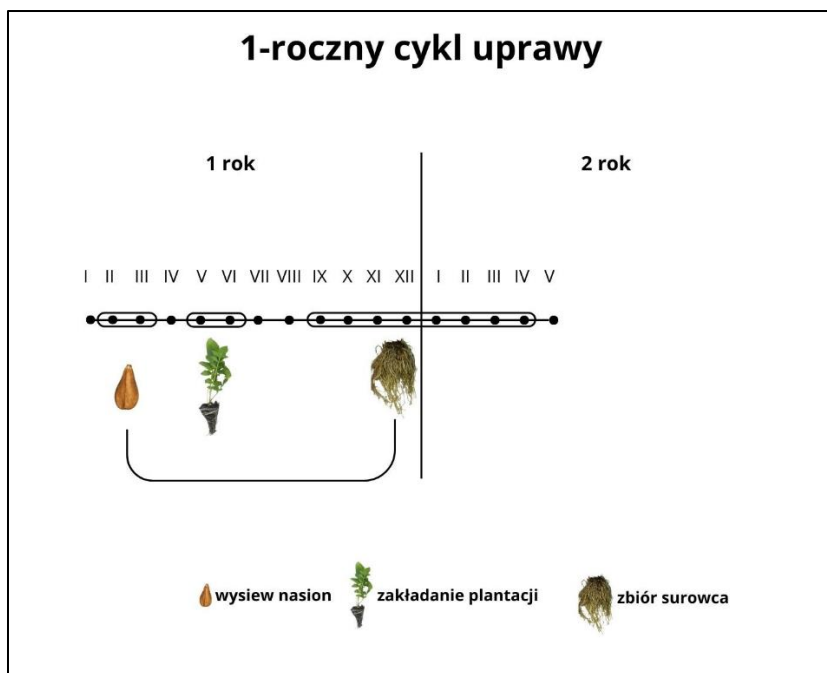
Celem badań planowanych do realizacji w 2024 roku było określenie dynamiki przyrostu masy organów surowcowych i gromadzenia się w nich związków czynnych w uprawie kozłka, w cyku 1,5 rocznym.

#### **Materiały i metody**

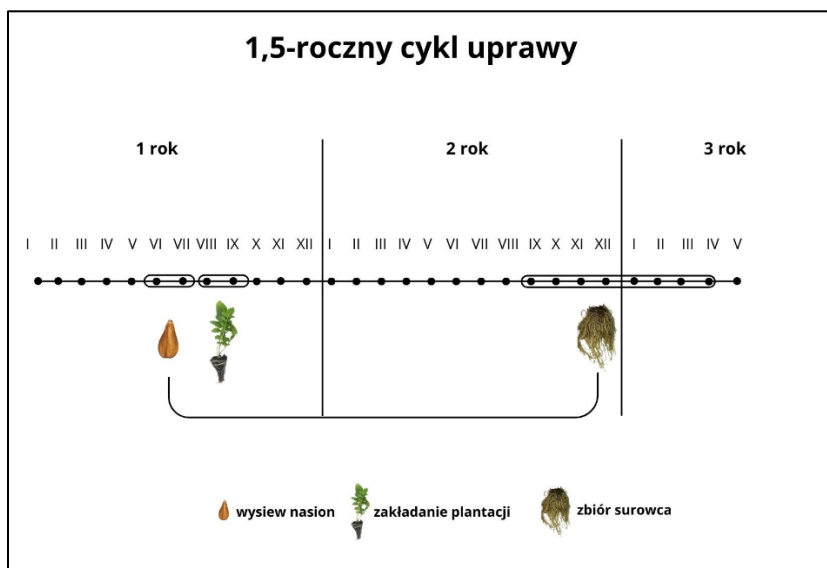
W 2022 r. założono doświadczenie, w którym kozłek uprawiany jest w cyklu 1,5 rocznym (ozimym). Wysiew nasion kozłka został przeprowadzony w lipcu 2022r. (bezpośrednio po dojrzaniu świeżo zebranych nasion), pikowana rozsada uzyskana z tych nasion wysadzona została w pole wczesną jesienią tego samego roku w gospodarstwie zielarskim w rejonie Płońska. Zbiór surowca (organów podziemnych) tych roślin przeprowadzony został w końcu września oraz w październiku 2023 r. W praktyce rolniczej coraz częściej zdarza się iż rolnicy wykopują korzenie kozłka również w kolejnym roku w styczniu lub nawet później (w zależności od przebiegu pogody). W 2024r. z doświadczenia tego surowce pozyskane zostały w styczniu (3. termin zbioru) i kwietniu (4. termin zbioru).

Surowce do badań (kłącza oraz grube korzenie i drobne korzenie), łącznie 6 prób (2 terminy zbioru x 3 frakcje) poddane zostały analizom chemicznym (ocena zawartości kwasów walerenowych – HPLC oraz ocena zawartości i składu chemicznego olejków eterycznych – GC/MS). Wszystkie analizy chemiczne przeprowadzono w 3 powtórzeniach.

W niniejszym sprawozdaniu, **przedstawiono wszystkie wyniki z lat 2022-2024 (łącznie z wynikami z 2024 roku)**, opracowane całościowo, obrazujące dynamikę przyrostu masy i gromadzenia się związków biologicznie czynnych u kozłka lekarskiego w uprawie, w cyklu 1-rocznym (schemat 1) i 1,5rocznym (schemat 2). Równoległe do prac realizowanych w ramach ścisłego doświadczenia polowego (zlokalizowanego w gospodarstwie zielarskim w okolicach Płońska), prowadzone były obserwacje porównawcze na roślinach z plantacji produkcyjnych, odpowiadające wiekowo założonemu doświadczeniu. Takie prowadzenie badań pozwoliło na weryfikację uzyskanych wyników na bieżąco i, w miarę potrzeby, dokonanie ich korekty.



Schemat 1. 1-roczyzny cykl uprawy



Schemat 2. 1,5-roczyzny cykl uprawy

W niniejszych badaniach, prowadzonych w latach 2022-2024, zbiór organów podziemnych kozłka w każdym cyklu uprawowym (1- i 1,5-roczyzny) prowadzony był w 4. terminach, tj. wczesną jesienią (IX), późną jesienią (XI), w okresie zimowym (I) oraz na początku wegetacji w kolejnym roku (IV).

## WYNIKI (2022-2024)

Tabela 1. Porównanie dynamiki przyrostu masy organów podziemnych kozłka pozyskanych z uprawy 1-roczonej i 1,5-roczonej (g s.m./roślinę).

Cykl uprawowy	Terminy zbioru															
	1 termin (IX)				2 termin (XI)				3 termin (I)				4 termin (IV)			
	KŁ	GK	DK	razem	KŁ	GK	DK	razem	KŁ	GK	DK	razem	KŁ	GK	DK	razem
1-roczyzny	16,2	23,6	17,8	<b>57,6</b>	26,0	38,3	29,0	<b>93,3</b>	20,2	36,8	21,5	<b>78,5</b>	15,0	34,3	17,5	<b>66,8</b>
1,5-roczyzny	27,7	46,3	34,8	<b>108,8</b>	39,2	52,7	42,4	<b>134,3</b>	35,5	48,1	26,3	<b>109,9</b>	28,6	44,1	25,0	<b>97,7</b>

Frakcje organów podziemnych: KŁ- kłącza; GK – grube korzenie; DK – drobne korzenie

Masa organów podziemnych była wyższa u roślin uprawianych w cyklu półtorarocznym niż w rocznym. Porównując poszczególne terminy zbioru, była ona najwyższa przy zbiorze późną jesienią (XI), niezależnie od cyklu uprawowego. Intensywny przyrost masy obserwowano zwłaszcza od wczesnej do późnej jesieni, z widocznym spadkiem na początku kolejnego roku (tab. 1). Ta tendencja może być związana ze sposobem rozwoju kozłka, obserwowanym wyraźnie u dziko rosnących populacji tego gatunku, u których po pierwszym roku wegetacji, już w okresie zimowym, następuje segmentacja kłącza. Jest to początek procesu, w którym rośliny produkują wiele nowych ramet, co prowadzi do powstania roślin potomnych. Zjawisko to obserwowano i opisano także w temacie badawczym nr 2. Podczas tego procesu, część kłącza obumiera, co powoduje utratę masy organów podziemnych.

Tabela 2. Zawartość kwasów seskwiterpenowych w organach surowcowych kozłka lekarskiego pochodzących z uprawy 1- i 1,5-letniej (%).

Kwasy seskwiterpenowe	Cykl uprawowy							
	1-letni				1,5-letni			
	KŁ	GK	DK	średnia	KŁ	GK	DK	średnia
1	0,08	0,10	0,07	<b>0,08</b>	0,05	0,04	0,07	<b>0,05</b>
2	0,07	0,11	0,09	<b>0,09</b>	0,13	0,24	0,16	<b>0,18</b>
3	0,28	0,28	0,22	<b>0,26</b>	0,23	0,40	0,26	<b>0,29</b>
1+2+3	<b>0,44</b>	<b>0,49</b>	<b>0,38</b>	<b>0,43</b>	<b>0,40</b>	<b>0,68</b>	<b>0,49</b>	<b>0,52</b>

(1. kwas hydroksywalerenowy; 2. kwas acetylowalerenowy; 3. kwas walerenowy)

Fracje organów podziemnych: KŁ- kłącza; GK – grube korzenie; DK – drobne korzenie

Tabela 3. Wpływ terminu zbioru na zawartość kwasów seskwiterpenowych w całym surowcu (%)

Kwasy seskwiterpenowe	Termin zbioru surowca			
	1 termin (IX)	2 termin (XI)	3 termin (I)	4 termin (IV)
1	0,02	0,04	0,13	0,17
2	0,13	0,18	0,07	0,07
3	0,29	0,28	0,29	0,29
<b>1+2+3</b>	<b>0,44</b>	<b>0,49</b>	<b>0,49</b>	<b>0,53</b>

(1. kwas hydroksywalerenowy; 2. kwas acetylowalerenowy; 3. kwas walerenowy)

Zawartość kwasów seskwiterpenowych była wyraźnie wyższa w organach podziemnych kozłka pochodzących z 1,5-letniego cyklu uprawowego (0,52%), w porównaniu z cyklem 1-letnim (0,43%). Porównując frakcje tych organów, tj. kłącza (KŁ), „grube” korzenie (GK) i „drobne” korzenie (DK), uzyskane wyniki wskazują, iż najbogatsza w te związki była frakcja grubych korzeni. Było to widoczne zwłaszcza w 1,5-letnim cyklu uprawy (0,68%) (tab. 2). Termin zbioru również wpływał na zawartość kwasów seskwiterpenowych w surowcu. Obserwowano wyraźny wzrost zawartości tych związków od wczesnej (IX) do późnej jesieni (XI). W kolejnych terminach, była ona podobna, przy nieznacznym wzroście na początku wegetacji kolejnego sezonu wegetacyjnego (IV) (tab. 3).

Zawartość olejku eterycznego w organach podziemnych kozłka była podobna niezależnie od cyklu uprawowego (z wyjątkiem ostatniego terminu zbioru). Zawartość ta wyraźnie wzrastała od pierwszego (4,3 mL/kg s.m.) do ostatniego terminu zbioru surowca (5,9 mL/kg s.m.) (Tab. 4). Porównując frakcje organów podziemnych najwięcej olejku, podobnie jak kwasów

seskwiterpenowych, stwierdzono w grubych korzeniach (5,85 mL/kg s.m.), przy czym zawartości ta wyraźnie wzrastała od wczesnej jesieni (IX) do początku wegetacji w kolejnym roku (IV) (tab. 5).

W olejkach eterycznych badanych frakcji surowca zidentyfikowano 44 związki chemiczne. Związkami dominującymi były octan bornylu (13) i walerenal (37). Są to typowe składniki olejku walerianowego. Zawartość octanu bornylu w olejku była najwyższa w okresie spoczynku zimowego, a walerenalu w 4. terminie zbioru surowca, tj. na początku kolejnego roku (tab. 4). Zawartość ta zależała również od badanej frakcji surowcowej, np. zawartość octanu bornylu była najwyższa w kłączach, a walerenalu – w drobnych korzeniach (tab. 5).

Tabela 4. Wpływ sposobu uprawy i terminu zbioru na zawartość i skład olejku eterycznego w organach podziemnych kozłka lekarskiego.

Termin zbioru surowca:		1 termin (IX)			2 termin (XI)			3 termin (I)			4 termin (IV)		
Cykl uprawowy:		1-roczyzny	1,5 roczny	średnia	1-roczyzny	1,5 roczny	średnia	1-roczyzny	1,5 roczny	średnia	1-roczyzny	1,5 roczny	średnia
<b>Zawartość olejku eterycznego:</b>		4,30	4,30	<b>4,30</b>	4,30	4,60	<b>4,45</b>	5,40	4,60	<b>5,00</b>	5,20	6,60	<b>5,90</b>
Lp.	Skład chemiczny olejku												
1	$\alpha$ -pinene	0,74	0,74	<b>0,74</b>	2,36	2,65	<b>2,51</b>	2,27	1,81	<b>2,04</b>	1,77	2,39	<b>2,08</b>
2	$\alpha$ -fenchene	2,44	2,48	<b>2,46</b>	8,16	8,81	<b>8,49</b>	7,27	6,49	<b>6,88</b>	5,08	7,41	<b>6,25</b>
3	$\beta$ -pinene	0,34	0,33	<b>0,34</b>	0,09	0,14	<b>0,12</b>	0,90	0,83	<b>0,87</b>	0,60	0,81	<b>0,71</b>
4	$\alpha$ -terpinene	0,08	0,10	<b>0,09</b>	0,34	0,70	<b>0,52</b>	0,40	0,36	<b>0,38</b>	0,17	0,01	<b>0,09</b>
5	limonene	0,37	0,45	<b>0,41</b>	0,14	1,42	<b>0,78</b>	0,28	0,24	<b>0,26</b>	0,03	0,26	<b>0,15</b>
6	$\beta$ -phellandrene	0,35	0,23	<b>0,29</b>	0,04	0,03	<b>0,04</b>	0,01	0,15	<b>0,08</b>	0,03	0,04	<b>0,04</b>
7	$\gamma$ -terpinene	0,15	0,22	<b>0,19</b>	0,05	0,07	<b>0,06</b>	0,20	0,04	<b>0,12</b>	0,01	0,04	<b>0,03</b>
8	p-cymene	0,08	0,08	<b>0,08</b>	0,12	0,06	<b>0,09</b>	0,05	0,02	<b>0,04</b>	0,17	0,01	<b>0,09</b>
9	n-hexyl isovalerate	0,11	0,12	<b>0,12</b>	0,66	0,38	<b>0,52</b>	0,04	0,02	<b>0,03</b>	0,34	0,04	<b>0,19</b>
10	$\delta$ -elemene	0,21	0,32	<b>0,27</b>	1,29	0,67	<b>0,98</b>	0,28	0,42	<b>0,35</b>	0,03	0,02	<b>0,03</b>
11	$\alpha$ -copaene	1,01	0,86	<b>0,94</b>	0,41	0,16	<b>0,29</b>	0,32	0,05	<b>0,19</b>	0,05	0,03	<b>0,04</b>
12	$\alpha$ -gurjunene	0,28	0,27	<b>0,28</b>	0,65	0,23	<b>0,44</b>	0,63	1,07	<b>0,85</b>	1,14	1,24	<b>1,19</b>
13	bornyl acetate	18,10	26,79	<b>22,45</b>	19,32	27,18	<b>23,25</b>	25,75	25,75	<b>25,75</b>	18,39	16,10	<b>17,25</b>
14	thymol. methyl ether	1,88	1,22	<b>1,55</b>	2,74	0,09	<b>1,42</b>	2,78	2,76	<b>2,77</b>	1,03	3,81	<b>2,42</b>
15	(E)- $\beta$ -caryophyllene	0,31	0,55	<b>0,43</b>	0,37	0,61	<b>0,49</b>	0,58	0,39	<b>0,49</b>	3,40	1,04	<b>2,22</b>
16	$\beta$ -gurjunene	0,25	0,29	<b>0,27</b>	0,16	0,21	<b>0,19</b>	0,16	0,15	<b>0,16</b>	0,98	1,96	<b>1,47</b>
17	$\alpha$ -caryophyllene (humulene)	4,12	4,24	<b>4,18</b>	4,93	3,26	<b>4,10</b>	2,55	3,03	<b>2,79</b>	4,59	3,44	<b>4,02</b>
18	$\gamma$ -muurolene	0,93	0,93	<b>0,93</b>	0,17	1,12	<b>0,65</b>	0,47	0,67	<b>0,57</b>	3,65	2,53	<b>3,09</b>
19	myrtenyl acetate	3,25	6,61	<b>4,93</b>	4,02	3,17	<b>3,60</b>	0,29	0,44	<b>0,37</b>	0,41	0,35	<b>0,38</b>
20	isovaleric acid	0,84	0,32	<b>0,58</b>	1,26	1,51	<b>1,39</b>	0,03	0,03	<b>0,03</b>	0,23	0,19	<b>0,21</b>
21	$\alpha$ -terpineol acetate	0,76	5,42	<b>3,09</b>	0,58	0,22	<b>0,40</b>	4,16	3,55	<b>3,86</b>	0,23	0,10	<b>0,17</b>
22	valencene	0,79	0,62	<b>0,71</b>	1,19	0,57	<b>0,88</b>	0,13	0,13	<b>0,13</b>	0,34	0,11	<b>0,23</b>
23	borneol	4,18	4,52	<b>4,35</b>	3,78	3,85	<b>3,82</b>	0,56	0,23	<b>0,40</b>	0,30	0,19	<b>0,25</b>

24	germacrene D	0,71	0,78	<b>0,75</b>	0,28	0,73	<b>0,51</b>	0,34	0,18	<b>0,26</b>	0,25	0,31	<b>0,28</b>
25	kessane	1,36	1,01	<b>1,19</b>	1,41	0,18	<b>0,80</b>	0,30	0,21	<b>0,26</b>	0,49	0,54	<b>0,52</b>
26	myrtenol	0,86	0,94	<b>0,90</b>	0,95	0,98	<b>0,97</b>	0,03	0,04	<b>0,04</b>	0,54	1,25	<b>0,90</b>
27	3-methylvaleric acid	0,19	0,25	<b>0,22</b>	0,13	0,40	<b>0,27</b>	1,12	0,47	<b>0,80</b>	0,88	1,26	<b>1,07</b>
28	2.5-dimethoxy-p-cymene	0,59	0,90	<b>0,75</b>	0,79	0,39	<b>0,59</b>	0,08	0,05	<b>0,07</b>	0,41	0,51	<b>0,46</b>
29	myrtenyl isovalerate	0,50	1,31	<b>0,91</b>	0,65	0,34	<b>0,50</b>	0,81	2,92	<b>1,87</b>	1,56	0,42	<b>0,99</b>
30	$\beta$ -ionone	0,14	0,78	<b>0,46</b>	0,72	0,81	<b>0,77</b>	0,61	0,67	<b>0,64</b>	4,48	3,58	<b>4,03</b>
31	caryophyllene oxide	1,84	0,25	<b>1,05</b>	2,35	0,38	<b>1,37</b>	2,79	0,54	<b>1,67</b>	0,72	0,52	<b>0,62</b>
32	pacifgorgiol	0,23	2,26	<b>1,25</b>	0,18	2,27	<b>1,23</b>	0,93	3,23	<b>2,08</b>	0,38	0,35	<b>0,37</b>
33	maaliol	0,49	0,30	<b>0,40</b>	0,70	0,50	<b>0,60</b>	0,68	0,50	<b>0,59</b>	0,28	0,28	<b>0,28</b>
34	ledol	0,36	0,59	<b>0,48</b>	0,58	0,13	<b>0,36</b>	0,24	0,59	<b>0,42</b>	1,11	1,28	<b>1,20</b>
35	valeranone	1,23	0,63	<b>0,93</b>	2,25	0,76	<b>1,51</b>	0,53	0,56	<b>0,55</b>	0,66	0,10	<b>0,38</b>
36	spathulenol	0,71	1,10	<b>0,91</b>	0,34	2,92	<b>1,63</b>	4,33	4,77	<b>4,55</b>	5,48	5,61	<b>5,55</b>
37	valerenal	13,29	14,34	<b>13,82</b>	15,20	11,46	<b>13,33</b>	12,28	11,55	<b>11,92</b>	14,66	14,47	<b>14,57</b>
38	isospathulenol	3,37	4,01	<b>3,69</b>	2,44	2,15	<b>2,30</b>	0,17	1,18	<b>0,68</b>	0,35	0,34	<b>0,35</b>
39	<i>trans</i> -valerenyl acetate	1,21	1,34	<b>1,28</b>	0,23	5,56	<b>2,90</b>	0,23	0,29	<b>0,26</b>	0,28	0,33	<b>0,31</b>
40	kessanyl acetate	0,22	0,51	<b>0,37</b>	0,46	0,39	<b>0,43</b>	0,84	0,44	<b>0,64</b>	1,44	1,61	<b>1,53</b>
41	4(15)-selinene-11,12-diol	0,47	0,30	<b>0,39</b>	0,68	0,21	<b>0,45</b>	0,92	0,83	<b>0,88</b>	0,40	0,12	<b>0,26</b>
42	<i>cis</i> -valerenyl acetate	0,33	0,38	<b>0,36</b>	0,51	0,23	<b>0,37</b>	0,06	0,07	<b>0,07</b>	0,09	0,11	<b>0,10</b>
43	palmitic acid	0,18	0,21	<b>0,20</b>	0,30	śl.	<b>0,30</b>	0,21	0,12	<b>0,17</b>	0,06	0,04	<b>0,05</b>
44	valeric acid	2,93	2,22	<b>2,58</b>	5,78	3,47	<b>4,63</b>	4,41	2,03	<b>3,22</b>	2,04	2,20	<b>2,12</b>



Tabela 5. Wpływ terminu zbioru na zawartość i skład chemiczny olejku eterycznego w poszczególnych organach podziemnych kozłka lekarskiego.

Organ surowcowy:		Kłaczka					Grube korzenie					Cienkie korzenie				
Termin zbioru:		1 termin (IX)	2 termin (XI)	3 termin (I)	4 termin (IV)	średnia	1 termin (IX)	2 termin (XI)	3 termin (I)	4 termin (IV)	średnia	1 termin (IX)	2 termin (XI)	3 termin (I)	4 termin (IV)	średnia
Zawartość olejku eterycznego:		3,60	3,90	5,10	4,10	<b>4,18</b>	5,20	4,70	5,20	8,20	<b>5,83</b>	4,90	4,40	5,70	6,60	<b>5,40</b>
Lp.	Skład chemiczny olejku															
1	$\alpha$ - pinen	3,68	2,19	0,76	1,06	<b>1,92</b>	4,22	2,87	1,90	1,97	<b>2,74</b>	5,38	1,98	1,87	1,09	<b>2,58</b>
2	$\alpha$ - fenchon	11,18	8,52	3,13	4,56	<b>6,85</b>	11,48	9,11	7,05	7,27	<b>8,73</b>	6,69	6,14	6,91	4,26	<b>6,00</b>
3	$\beta$ - pinen	0,04	0,26	0,43	0,51	<b>0,31</b>	1,46	0,12	0,94	0,78	<b>0,83</b>	0,08	0,15	0,89	0,49	<b>0,40</b>
4	$\alpha$ -terpinene	0,04	0,80	0,17	0,24	<b>0,31</b>	0,00	1,52	0,34	0,36	<b>0,56</b>	0,06	1,01	0,36	0,01	<b>0,36</b>
5	limonene	0,05	0,69	0,25	0,04	<b>0,26</b>	0,65	1,14	0,19	0,07	<b>0,51</b>	0,82	0,18	0,11	0,01	<b>0,28</b>
6	$\beta$ -phellandrene	0,76	0,11	0,03	0,09	<b>0,25</b>	0,27	0,07	0,01	0,06	<b>0,10</b>	0,19	0,07	0,17	0,00	<b>0,11</b>
7	$\gamma$ -terpinene	0,02	0,15	0,08	0,02	<b>0,07</b>	0,13	0,46	0,16	0,02	<b>0,19</b>	0,21	0,12	0,05	0,09	<b>0,12</b>
8	p-cymene	0,13	0,07	0,02	0,04	<b>0,07</b>	0,11	0,03	0,04	0,02	<b>0,05</b>	0,17	0,21	0,03	0,02	<b>0,11</b>
9	n-hexyl isovalerate	0,12	0,12	0,02	0,03	<b>0,07</b>	0,23	0,19	0,02	0,02	<b>0,12</b>	0,14	0,40	0,18	0,08	<b>0,20</b>
10	$\delta$ -elemene	0,12	0,45	0,03	0,03	<b>0,16</b>	0,25	0,10	0,02	0,02	<b>0,10</b>	0,21	0,58	0,31	nd	<b>0,37</b>
11	$\alpha$ -copaene	0,83	0,08	0,41	0,13	<b>0,36</b>	1,02	0,04	0,70	0,02	<b>0,45</b>	1,92	0,18	0,37	nd	<b>0,82</b>
12	$\alpha$ -gurjenene	0,41	0,16	0,26	1,10	<b>0,48</b>	0,46	0,22	0,19	1,73	<b>0,65</b>	0,73	0,59	0,40	2,41	<b>1,03</b>
13	bornyl acetate	21,44	26,47	28,98	27,47	<b>26,09</b>	19,10	25,13	33,33	22,11	<b>24,92</b>	15,37	23,37	30,14	21,04	<b>22,48</b>
14	Thymo, methyl ether	2,59	0,76	1,53	3,03	<b>1,98</b>	2,41	0,64	2,32	5,13	<b>2,63</b>	3,36	0,86	2,61	2,31	<b>2,29</b>
15	(E)- $\beta$ -caryophyllene	0,53	0,32	0,56	0,63	<b>0,51</b>	0,24	0,54	0,50	1,91	<b>0,80</b>	0,32	0,22	0,43	5,79	<b>1,69</b>
16	$\beta$ -gurjunene	0,44	0,15	0,12	0,49	<b>0,30</b>	0,28	0,16	0,20	0,55	<b>0,30</b>	0,35	0,09	0,28	1,09	<b>0,45</b>
17	$\alpha$ -caryophyllene (humulene)	3,92	3,12	3,25	11,22	<b>5,38</b>	5,28	0,70	3,86	4,84	<b>3,67</b>	3,91	2,81	3,83	4,69	<b>3,81</b>
18	$\gamma$ -muurolene	0,77	0,21	0,86	0,39	<b>0,56</b>	0,67	0,20	0,65	1,96	<b>0,87</b>	0,82	0,67	0,72	3,25	<b>1,37</b>
19	myrtenyl acetate	4,50	3,32	0,54	0,67	<b>2,26</b>	3,00	2,81	0,44	1,84	<b>2,02</b>	3,35	3,35	0,55	0,34	<b>1,90</b>
20	isovaleric acid	3,53	0,98	0,04	0,42	<b>1,24</b>	1,46	0,69	0,02	0,31	<b>0,62</b>	1,81	1,26	nd	0,41	<b>1,16</b>
21	$\alpha$ -terpineol acetate	0,58	0,31	3,36	4,63	<b>2,22</b>	0,66	0,23	3,91	0,60	<b>1,35</b>	0,64	nd	4,09	0,35	<b>1,69</b>
22	borneol	2,23	5,93	3,81	0,22	<b>3,05</b>	4,26	4,51	0,94	0,32	<b>2,51</b>	5,05	3,67	2,30	0,18	<b>2,80</b>
23	germacrene D	2,79	0,96	4,20	0,65	<b>2,15</b>	0,39	1,11	0,61	0,25	<b>0,59</b>	1,04	1,17	0,43	0,36	<b>0,75</b>

24	valencene	1,30	0,50	1,34	0,26	<b>0,85</b>	0,49	4,81	0,45	0,45	<b>1,55</b>	0,68	0,70	0,09	0,25	<b>0,43</b>
25	kessane	1,08	0,26	0,50	0,74	<b>0,65</b>	1,51	0,32	0,54	0,91	<b>0,82</b>	2,53	0,12	0,18	0,66	<b>0,87</b>
26	myrtenol	0,85	0,31	0,29	1,98	<b>0,86</b>	0,96	0,91	0,21	1,83	<b>0,98</b>	0,61	0,76	0,04	2,10	<b>0,88</b>
27	3-methylvaleric acid	0,16	0,28	0,86	1,02	<b>0,58</b>	0,11	0,23	0,15	1,18	<b>0,42</b>	0,25	0,19	0,12	1,65	<b>0,55</b>
28	myrtenyl isovalerate	0,48	0,76	3,36	0,93	<b>1,38</b>	0,61	0,56	2,40	0,12	<b>0,92</b>	1,06	0,35	2,55	0,85	<b>1,20</b>
29	2.5-dimethoxy-p-cymene	0,48	0,24	0,92	0,62	<b>0,57</b>	0,57	0,21	0,17	0,63	<b>0,40</b>	0,65	0,54	0,15	0,46	<b>0,45</b>
30	$\beta$ -ionone	0,70	0,55	0,85	2,87	<b>1,24</b>	0,69	0,32	0,63	3,19	<b>1,21</b>	0,61	0,76	0,59	3,52	<b>1,37</b>
31	caryophyllene oxide	0,38	0,20	2,84	0,00	<b>0,86</b>	0,36	0,19	1,13	0,17	<b>0,46</b>	0,38	0,28	1,70	nd	<b>0,79</b>
32	pacifgorgiol	2,00	2,21	0,54	0,55	<b>1,33</b>	2,44	2,61	3,94	0,53	<b>2,38</b>	2,22	2,45	3,51	0,69	<b>2,22</b>
33	maaliol	0,52	0,26	0,75	0,20	<b>0,43</b>	0,29	0,23	1,08	0,17	<b>0,44</b>	0,41	0,41	1,01	0,38	<b>0,55</b>
34	ledol	0,63	0,46	0,20	0,22	<b>0,38</b>	0,65	0,63	0,28	0,94	<b>0,63</b>	0,64	0,68	0,34	1,02	<b>0,67</b>
35	valeranone	0,53	0,48	0,29	0,56	<b>0,47</b>	0,38	0,52	0,98	0,13	<b>0,50</b>	0,44	0,69	0,37	0,41	<b>0,48</b>
36	spathulenol	1,73	2,30	3,76	4,30	<b>3,02</b>	1,33	2,11	4,47	4,56	<b>3,12</b>	1,35	2,54	4,37	5,21	<b>3,37</b>
37	valerenal	7,80	13,72	7,50	11,80	<b>10,21</b>	11,72	17,47	7,18	12,88	<b>12,31</b>	10,20	22,66	7,81	14,26	<b>13,73</b>
38	isospathulenol	2,09	3,17	5,34	5,00	<b>3,90</b>	4,16	3,67	5,21	3,36	<b>4,10</b>	4,15	1,78	6,03	2,59	<b>3,64</b>
39	trans-Valerenyl acetate	1,99	1,29	1,02	0,15	<b>1,11</b>	1,85	1,48	0,97	0,18	<b>1,12</b>	1,14	4,85	0,82	0,26	<b>1,77</b>
40	kessanyl acetate	0,96	0,52	0,22	0,02	<b>0,43</b>	0,53	0,27	0,23	0,06	<b>0,27</b>	0,51	nd	0,14	0,06	<b>0,24</b>
41	4(15)-selinene-11.12-diol	0,99	1,48	0,05	0,17	<b>0,67</b>	0,75	1,68	0,02	0,09	<b>0,64</b>	1,02	1,55	0,41	0,04	<b>0,76</b>
42	cis-valerenyl acetate	1,06	1,07	0,71	0,71	<b>0,89</b>	1,08	0,31	0,50	0,90	<b>0,70</b>	0,56	0,21	0,66	1,10	<b>0,63</b>
43	palmitic acid	0,35	0,16	0,08	0,11	<b>0,18</b>	0,36	0,00	0,04	0,08	<b>0,12</b>	0,25	0,28	0,19	0,13	<b>0,21</b>
44	valeric acid	5,97	1,72	3,30	2,08	<b>3,27</b>	3,48	1,03	3,12	1,17	<b>2,20</b>	3,18	0,00	2,95	1,66	<b>1,95</b>

**Mierniki dla tematu badawczego 3**

Lp.	miernik <sup>3</sup>	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Terminy zbioru surowców	2	2
2	Liczba prób do analiz chemicznych	6	6
3	Liczba powtórzeń analiz chemicznych	3	3

---

<sup>3</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

### 3.4 Temat badawczy 4

#### Określenie wpływu czynników pozbiornych na parametry jakościowe nasion kozłka lekarskiego.

##### Cel tematu badawczego

Celem badań zrealizowanych w 2024 roku było określenie wpływu wybranych czynników pozbiornych, tj. czasu i warunków przechowywania, na wartość siewną nasion kozłka lekarskiego.

##### Materiały i metody

W 2022 r. z roślin kozłka lekarskiego uprawianych na polu doświadczalnym SGGW w Wilanowie (obiekty pochodzące z rozmnażania wegetatywnego roślin matecznych pozyskanych w 2021r. z plantacji produkcyjnych w zadaniu 1.) zebrano nasiona. W ramach niniejszego zadania badania realizowane były na próbie mieszanej tych nasion. W styczniu 2023r. zostały one ocenione pod względem wartości siewnej, a następnie założone zostało doświadczenie dotyczące wpływu warunków przechowywania na ich jakość. Nasiona przechowywane były w szklanych słojkach, woreczkach foliowych - strunowych oraz workach papierowych, w temperaturze 21°C, 10°C, 4°C, -20°C (próby po 10 g każda, tab. 1). Ich wartość siewna oceniona została po 3 oraz po 10 miesiącach przechowywania (2023r.). W 2024r. ocenę jakości nasion przeprowadzono w kolejnych 3 terminach tj.: po 16 (III), 20 (VII) i 24 (XI) miesiącach.

Tabela 1. Układ doświadczenia

Rodzaj opakowania	Temperatura przechowywania/nr próby			
	21°C	10°C	4°C	-20°C
szklany słoik szczelnie zamykany (metalowa zakrętka)	21/1S	10/1S	4/1S	-21/1S
	21/2S	10/2S	4/2S	-21/2S
	21/3S	10/3S	4/3S	-21/3S
worek foliowy ze strunowym zamknięciem	21/1F	10/1F	4/1F	-21/1F
	21/2F	10/2F	4/2F	-21/2F
	21/3F	10/3F	4/3F	-21/3F
worek papierowy jednowarstwowy	21/1P	10/1P	4/1P	-21/1P
	21/2P	10/2P	4/2P	-21/2P
	21/3P	10/3P	4/3P	-21/3P

#### **METODYKA ANALIZ LABORATORYJNYCH**

Ocenę jakości nasion przeprowadzono zgodnie z metodami ISTA (2019).

##### Wilgotność nasion (WN)

Wilgotność nasion została oznaczona metodą suszarkową, stosowaną do oznaczeń seryjnych. Oznaczenie zostało przeprowadzone na dwóch niezależnych próbach (ISTA 2019). Nasiona umieszczono w szklanych naczynkach wagowych, zważono, a następnie poddano suszeniu w temperaturze 103°C przez 24 godziny. Po tym czasie próbki ostudzono w ekzykatorze i ponownie zważono. Wilgotność nasion została określona z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku według następującego wzoru:

$$(M_2 - M_3) \times \frac{100}{M_2 - M_1}$$

gdzie:

$M_1$  – Masa naczynka wagowego z przykrywką (g)

$M_2$  – Masa naczynka z przykrywką oraz zawartością przed suszeniem (g)

$M_3$  – Masa naczynka z przykrywką oraz zawartością po suszeniu (g)

#### Masa 1000 nasion (MTM)

Badanie przeprowadzono wydzielając losowo z próbki analitycznej osiem próbek (powtórzeń), po 100 nasion w każdym powtórzeniu. Każdą próbkę zważono na wadze analitycznej z dokładnością do czterech miejsc po przecinku. Wynik, stanowił średnią z ośmiu powtórzeń i podany został z dokładnością do tej samej liczby znaków po przecinku, z jaką wykonano ważenie (ISTA 2019).

#### Zdolność kiełkowania (ZK)

Test zdolności kiełkowania przeprowadzono w czterech powtórzeniach po 100 nasion, w każdym powtórzeniu. Nasiona kiełkowały w szalkach Petriego, umieszczone w komorach klimatycznych firmy Sanyo, w warunkach podanymi poniżej:

- podłoże: bibuła filtracyjna, nawilżona w 60%
- temperatura: 21°C/24h
- warunki świetlne: dzień (natężenie światła: 150  $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ )

Test zdolności kiełkowania trwał 21 dni. Od dnia założenia testu (fot. 1a i b), do końca jego trwania liczono wschody, określając w ten sposób dynamikę kiełkowania. Dla 8 dnia testu podano energię kiełkowania, a dla 21 dnia testu – zdolność kiełkowania. Wartości te, stanowiły średnią z czterech powtórzeń.

#### Żywotność nasion

Do oceny żywotności nasion zastosowano test tetrazolinowy, który umożliwia szybką ocenę nasion, znajdujących się w stanie spoczynku późniwego. Ocenę przeprowadzono w czterech powtórzeniach po 25 nasion w każdym powtórzeniu. Przed właściwą oceną nasiona moczone w wodzie przez 48 h, co ułatwiło wnikanie chlorku terazoliny do wnętrza nasienia oraz późniejsze jego preparowanie. Następnie umieszczono nasiona w 0,1% roztworze 2,3,5-chlorku trifenylotetrazoliny o pH 7. Nasiona znajdowały się w tym roztworze przez 48 h, a następnie zostały przepłukane pod bieżącą wodą. Każde nasiono zostało przekrojone oraz poddane ocenie przy użyciu binokularu. Żywe nasiona powinny charakteryzować się zabarwieniem wszystkich tkanek, które są niezbędne do rozwoju normalnych siewek (ISTA 2016) (fot. 1). W przeprowadzonych badaniach za żywe uznano nasiona wybarwione powyżej 75% swojej powierzchni, przy czym musiały być to tkanki niezbędne do normalnego rozwoju siewek. Nasiona nie odpowiadające podanym kryteriom zostały uznane za nieżywe.



Fot. 1. Nasiona kozłka lekarskiego w teście żywotności:

- od lewej: nasiona niewybarwione, nieżywotne
- po prawej: nasiona wybarwione, żywotne

## WYNIKI

### Wilgotność nasion (WN)

Tabela 3. Zawartość wody w nasionach **po szesnastu miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	7,39	7,38	7,35	7,35	<b>7,37c</b>
worek foliowy ze strunowym zamknięciem	7,56	7,55	7,44	7,34	<b>7,47b</b>
worek papierowy jednowarstwowy	7,60	7,58	7,53	7,34	<b>7,51a</b>
<b>Średnia dla temperatury</b>	<b>7,52a</b>	<b>7,50a</b>	<b>7,44b</b>	<b>7,34c</b>	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,0$

Tabela 4. Zawartość wody w nasionach **po dwudziestu miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	21°C	10°C	4°C	-21°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	7,42	7,39	7,36	7,35	<b>7,38c</b>
worek foliowy ze strunowym zamknięciem	7,56	7,54	7,43	7,35	<b>7,47b</b>
worek papierowy jednowarstwowy	7,59	7,54	7,57	7,36	<b>7,52a</b>
<b>Średnia dla temperatury</b>	<b>7,53a</b>	<b>7,49b</b>	<b>7,45b</b>	<b>7,35c</b>	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 5. Zawartość wody w nasionach **po dwudziestu czterech miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	21°C	10°C	4°C	-21°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	7,41	7,39	7,37	7,35	<b>7,38c</b>
worek foliowy ze strunowym zamknięciem	7,55	7,52	7,42	7,34	<b>7,46b</b>
worek papierowy jednowarstwowy	7,60	7,56	7,54	7,36	<b>7,52a</b>
<b>Średnia dla temperatury</b>	<b>7,52a</b>	<b>7,49a</b>	<b>7,44b</b>	<b>7,35c</b>	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 6. Zestawienie wyników oceny zawartości wody w nasionach (średnie dla temperatury) (%)

Temperatura	bepośrednio po zbiorze	po 3 miesiącach przechowywani a	po 10 miesiącach przechowywani	po 16 miesiącach przechowywani	po 20 miesiącach przechowywani	po 24 miesiącach przechowywani
		7,34	-	-	-	-
20°C	-	7,50	7,51	7,52	7,53	7,52
10°C	-	7,49	7,49	7,50	7,49	7,49
4°C	-	7,44	7,44	7,44	7,45	7,44
-20°C	-	7,34	7,35	7,34	7,35	7,35

Tabela 7. Zestawienie wyników oceny zawartości wody w nasionach (średnie dla opakowania) (%)

Opakowanie	bepośrednio po zbiorze	po 3 miesiącach przechowywani a	po 10 miesiącach przechowywani	po 16 miesiącach przechowywani	po 20 miesiącach przechowywani	po 24 miesiącach przechowywani
		7,34	-	-	-	-
szczelnie zamykany szklany słoik	-	7,37	7,36	7,37	7,38	7,38
worek foliowy ze strunowym zamknięciem	-	7,45	7,46	7,47	7,47	7,46
worek papierowy jednowarstwowy	-	7,51	7,51	7,51	7,52	7,52

**Masa 1000 nasion**Tabela 8. Masa 1000 nasion **po szesnastu miesiącach** ich przechowywania (g)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	0,538	0,547	0,541	0,542	0,542a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	0,530	0,537	0,541	0,545	0,539a
worek papierowy jednowarstwowy	0,521	0,534	0,529	0,510	0,523b
<b>Średnia dla temperatury</b>	0,529b	0,539a	0,537a	0,532a	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 9. Masa 1000 nasion **po dwudziestu miesiącach** ich przechowywania (g)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	0,543	0,540	0,542	0,542	0,542a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	0,531	0,532	0,541	0,545	0,537a
worek papierowy jednowarstwowy	0,520	0,532	0,521	0,515	0,522b
<b>Średnia dla temperatury</b>	0,531a	0,535a	0,535a	0,534a	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 10. Masa 1000 nasion **po dwudziestu czterech miesiącach** ich przechowywania (g)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	0,542	0,541	0,544	0,542	0,542a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	0,530	0,532	0,542	0,544	0,537a
worek papierowy jednowarstwowy	0,522	0,539	0,522	0,513	0,524b
<b>Średnia dla temperatury</b>	0,531a	0,537a	0,536a	0,533a	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$



Tabela 11. Zestawienie wyników oceny MTN (średnie dla temperatury) (g)

	bepośrednio po zbiorze	po 3 miesiącach przechowywania	po 10 miesiącach przechowywania	po 16 miesiącach przechowywania	po 20 miesiącach przechowywania	po 24 miesiącach przechowywania
	0,536	-	-	-	-	-
20°C	-	0,536	0,527	0,529	0,531	0,531
10°C	-	0,535	0,528	0,539	0,535	0,537
4°C	-	0,536	0,546	0,537	0,535	0,536
-20°C	-	0,537	0,537	0,532	0,534	0,533

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (w kolumnie) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 12. Zestawienie wyników oceny MTN (średnie dla opakowania) (g)

	bepośrednio po zbiorze	po 3 miesiącach przechowywania	po 10 miesiącach przechowywania	po 16 miesiącach przechowywania	po 20 miesiącach przechowywania	po 24 miesiącach przechowywania
	0,536	-	-	-	-	-
szczelnie zamykany szklany słoik	-	0,536	0,538	0,542	0,542	0,542
worek foliowy ze strunowym zamknięciem	-	0,537	0,534	0,539	0,537	0,537
worek papierowy jednowarstwowy	-	0,535	0,530	0,523	0,522	0,524

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (w kolumnie) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

### Zdolność kiełkowania

Tabela 13. Zdolność kiełkowania nasion **po szesnastu miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	73	65	71	76	71,3
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	72	75	73	72	73,0
worek papierowy jednowarstwowy	64	75	74	73	71,5
<b>Średnia dla temperatury</b>	69,7	71,7	72,7	73,7	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 14. Zdolność kiełkowania nasion **po dwudziestu miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	65	64	68	77	68,5
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	63	70	67	75	68,8
worek papierowy jednowarstwowy	49	59	61	68	59,3
<b>Średnia dla temperatury</b>	59,0	64,3	65,3	73,3	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 15. Zdolność kiełkowania nasion **po dwudziestu czterech miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	62	63	68	73	66,5
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	41	58	64	75	59,5
worek papierowy jednowarstwowy	38	49	55	70	53,0
<b>Średnia dla temperatury</b>	47,0	56,7	62,3	72,7	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 16. Zestawienie wyników oceny zdolności kiełkowania nasion (średnie dla temperatury) (%)

	bezpśrednio po zbiorze	po 3 miesiącach przechowywania	po 10 miesiącach przechowywania	po 16 miesiącach przechowywania	po 20 miesiącach przechowywania	po 24 miesiącach przechowywania
	86	-	-	-	-	-
20°C	-	85,3	83,0	69,7	59,0	47,0
10°C	-	84,6	83,7	71,7	64,3	56,7
4°C	-	82,6	83,3	72,7	65,3	62,3
-20°C	-	85,6	84,7	73,7	73,3	72,7

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (w kolumnie) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 17. Zestawienie wyników oceny zdolności kiełkowania nasion (średnie dla opakowania) (%)

	bezpśrednio po zbiorze	po 3 miesiącach przechowywania	po 10 miesiącach przechowywania	po 16 miesiącach przechowywania	po 20 miesiącach przechowywania	po 24 miesiącach przechowywania
	86	-	-	-	-	-
szczelnie zamykany szklany słoik	-	85,2	84,3	71,3	68,5	66,5
worek foliowy ze strunowym zamknięciem	-	82,7	82,3	73,0	68,8	59,5
worek papierowy jednowarstwowy	-	85,7	84,5	71,5	59,3	53,0

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (w kolumnie) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$



Etapy kiełkowania i rozwoju siewki kozłka lekarskiego

## Żywotność nasion

Tabela 18. Żywotność nasion **po dwunastu miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	79	79	80	85	80,8
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	81	82	80	89	83,0
worek papierowy jednowarstwowy	74	81	84	82	80,3
<b>Średnia dla temperatury</b>	78,0	80,7	81,3	85,3	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (w kolumnie) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,050$

Tabela 19. Żywotność nasion **po dwudziestu miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	65	72	79	82	74,5
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	60	62	79	80	70,3
worek papierowy jednowarstwowy	58	64	73	78	68,3
<b>Średnia dla temperatury</b>	61,0	66,0	77,0	80,0	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 20. Żywotność nasion **po dwudziestu czterech miesiącach** ich przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	20°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	67	68	72	80	71,8
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	62	65	70	80	69,3
worek papierowy jednowarstwowy	52	59	68	75	63,5
<b>Średnia dla temperatury</b>	60,3	64,0	70,0	78,3	

\*Wartości oznaczone tymi samymi literami (odpowiednio dla czynnika doświadczenia) nie różnią się między sobą istotnie statystycznie na poziomie  $\alpha = 0,05$

Tabela 21. Zestawienie wyników oceny żywotności nasion (średnie dla temperatury) (%)

Temperatura przechowywania	Termin oceny nasion			
	bezpośrednio po zbiorze	po 12 miesiącach przechowywania	po 20 miesiącach przechowywania	po 24 miesiącach przechowywania
	92,0	-	-	-
20°C	-	78,0	61,0	60,3
10°C	-	80,7	66,0	64,0
4°C	--	81,3	77,0	70,0
-20°C		85,3	80,0	78,3

Tabela 22. Zestawienie wyników oceny żywotności nasion (średnie dla opakowania) (%)

Temperatura przechowywania	Termin oceny nasion			
	bezpośrednio po zbiorze	po 12 miesiącach przechowywania	po 24 miesiącach przechowywania	po 36 miesiącach przechowywania
	92,0	-	-	-
szczerlnie zamykany szklany słoik	-	80,8	83,0	80,3
worek foliowy ze strunowym zamknięciem	-	74,5	70,3	68,3
worek papierowy jednowarstwowy	-	71,8	69,3	63,5

Wyjściowa wilgotność badanych nasion wynosiła 7,34%. Po 24 miesiącach przechowywania uległa niewielkim zmianom, tj. u nasion przechowywanych w workach foliowych podniosła się do 7,46%, a w workach papierowych do 7,52% (tab. 3-7).

Masa 1000 nasion nie zmieniała się w czasie ich przechowywania w słoikach i torbach foliowych, natomiast obniżyła się przy przechowywaniu w torbach papierowych. Nie obserwowano wpływu temperatury na ten parametr (tab. 8-12).

Wyraźny wpływ zastosowanych czynników obserwowano w przypadku kiełkowania nasion.

Najwyższą zdolnością kiełkowania (po 24 m-cach) charakteryzowały się nasiona przechowywane w temp.  $-20^{\circ}\text{C}$  (72,7%), a najniższą te z  $20^{\circ}\text{C}$  (47%). Z opakowań najlepsze okazały się opakowania szklane (66,5%), a najgorsze – papierowe (53%) (tab. 13-17).

Żywotność nasion obniżyła się wyraźnie w okresie od 12. do 24. miesiąca przechowywania we wszystkich warunkach, najbardziej przy przechowywaniu w temp.  $20^{\circ}\text{C}$  (odpowiednio z 78,0 do 60,3%) i zastosowaniu opakowań papierowych (odpowiednio z 71,8 do 63,5%) (tab. 18-22).

**Mierniki dla tematu badawczego 4**

Lp.	miernik <sup>4</sup>	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Terminy wykonywania testów	3	3
2	Liczba testów zdolności kiełkowania	36	36

---

<sup>4</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

#### 4. Mierniki dla zadania - prezentacja wyników badań

Prezentacja wyników na konferencjach				
lp.	konferencja	miernik <sup>5</sup>	wartość miernika podana we wniosku	wartość miernika zrealizowana
1	Konferencja naukowa	Liczba prezentacji	2	2
1a.	Symposium międzynarodowe: MESMAP-10, Istanbul University, Turcja, 25-27 kwietnia 2024r. - 1 osoba	Katarzyna Bączek, Kavana Raj, Olga Kosakowska, Jarosław L. Przybył, Sylwia Styczyńska, Zenon Węglarz „Accumulation of terpene compounds in valerian ( <i>Valeriana officinalis</i> L.)” – wystąpienie ustne Wystąpienie dotyczące wyników przedstawionych w sprawozdaniu za 2023r.: <ul style="list-style-type: none"> <li>temat badawczy 2 część b oraz d str. 11-20</li> <li>temat badawczy 4 część b str. 26-35</li> </ul> temat badawczy 5 str.39-44		
1b.	Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Innowacyjne ogrodnictwo źródłem produktów wysokiej jakości”, w dniach 4-6 czerwca 2024 roku w Centrum Kongresowym Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie- 1 osoba	Kavana Raj, Zenon Węglarz, Ewelina Pióro-Jabrucka, Katarzyna Bączek. „Wpływ wybranych zabiegów agrotechnicznych na plon i jakość nasion kozłka lekarskiego ( <i>Valeriana officinalis</i> L.)” - poster Prezentacja dotycząca wyników przedstawionych w sprawozdaniu za 2023r.: temat badawczy 3 str. 21-25		
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych				
lp.	monografia/czasopismo	miernik <sup>6</sup>	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1.	-	-	-	-

\*Kserokopie plakatów w załączeniu

#### 5. Adres, pod którym wyniki badań są dostępne na stronie internetowej wnioskodawcy

Wyniki badań dla wszystkich ww. zadań będą dostępne na stronie internetowej SGGW w Warszawie w zakładce „Dotacje MRiRW: Badania podstawowe na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w latach 2021-2025”

#### 6. Mierniki zadania – stopień realizacji

Lp.	Miernik <sup>7</sup>	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
1	2	3	4	5
<b>temat badawczy 1</b>				
1	Liczba badanych genów	12	12	100%
2	Liczba zastosowanych genów referencyjnych	2	2	100%
3	Liczba prób do analiz chemicznych	100	100	100%
<b>temat badawczy 2</b>				
1	Warianty doświadczenia – terminy usuwania pośpiechów i kontrola	3	3	100%
2	Terminy obserwacji roślin	4	4	100%
3	Liczba prób do analiz chemicznych	3	3	100%
4	Liczba powtórzeń analiz chemicznych	3	3	100%
<b>temat badawczy 3</b>				
1	Terminy zbioru surowców	2	2	100%
2	Liczba prób do analiz chemicznych	6	6	100%
3	Liczba powtórzeń analiz chemicznych	3	3	100%

<sup>5</sup> Podać, czy chodzi o wykład plenarny, doniesienie konferencyjne czy poster.

<sup>6</sup> Podać, czy chodzi o publikację oryginalną, czy np. polemika, list do edytora, rozdział w monografii etc.

<sup>7</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.



<b>temat badawczy 4</b>				
1	Terminy wykonywania testów	3	3	100%
2	Liczba testów zdolności kiełkowania	36	36	100%
			ŚREDNIA	1
			% REALIZACJI ZADANIA	100%

Sporządzono: Warszawa, 31 grudnia 2024 r.

Pieczęć jednostki

Osoba reprezentująca jednostkę

Kierownik zadania

podpis i pieczęć

podpis