

Genetyczne i rozwojowe aspekty plonowania i jakości surowca kozłka lekarskiego (zadanie 32)

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych
Instytut Nauk Ogrodniczych
(we współpracy z Katedrą Botaniki, Instytut Biologii SGGW)
2021-2024

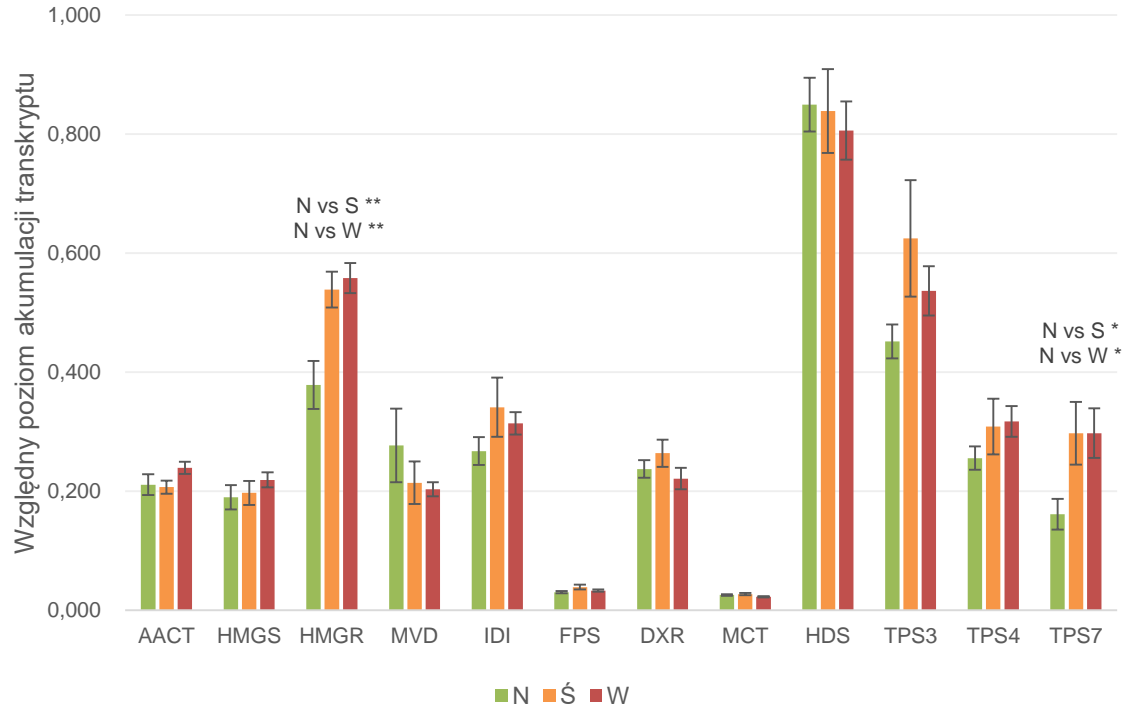
Zespół badawczy:

Kierownik zadania: Dr hab. Katarzyna Bączek, prof. SGGW
Prof. dr hab. Zenon Węglarz
Dr inż. Anna Pawełczak
Dr inż. Jarosław L. Przybył
Dr hab. Olga Kosakowska, prof. SGGW
Dr inż. Ewelina Pioro-Jabrucka
Mgr inż. Dominika Dmitruk; dr inż. Elżbieta Różańska (Instytut Biologii SGGW, Katedra Botaniki)
Doktorantki: mgr inż. Sylwia Styczyńska oraz mgr Kavana Raj

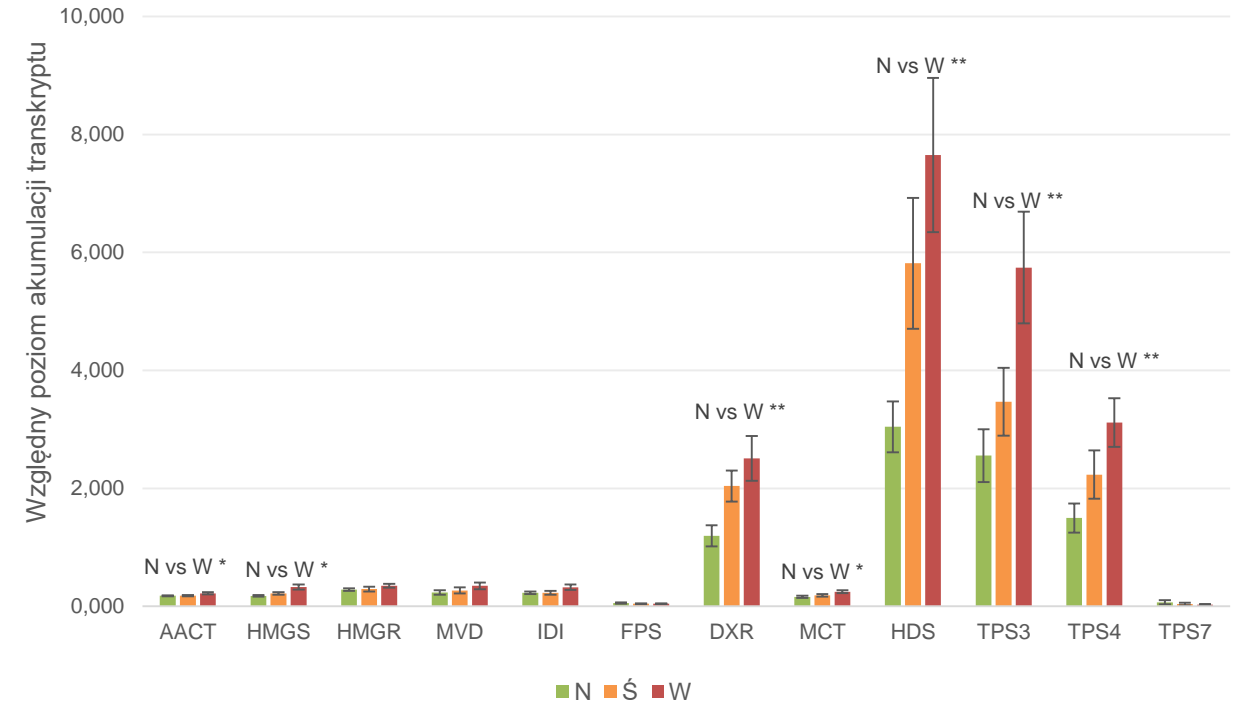
Warszawa 2.12.2024 r.

Opracowanie profilu ekspresji genów syntezy kwasu walerenowego w korzeniach i liściach roślin o zróżnicowanej zawartości kwasów seskwiterpenowych

KORZENIE



LIŚCIE



N – grupa o niskiej zawartości kwasów, **Ś** – grupa o średniej zawartości kwasów, **W** – grupa o wysokiej zawartości kwasów.

Liczebność każdej grupy wynosiła ok. 30 roślin (n = 30).

Ekspresja była normalizowana wobec 2 genów referencyjnych: aktyny i EF1.

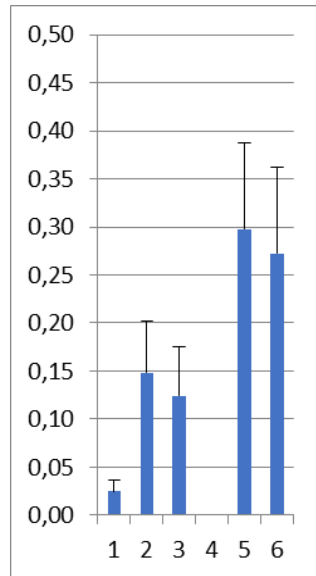
Słupki błędów przedstawiają błąd standardowy.

Istotne różnice statystyczne zaznaczono nad odpowiednimi genami, przy czym: * - p < 0,05; ** - p < 0,01.

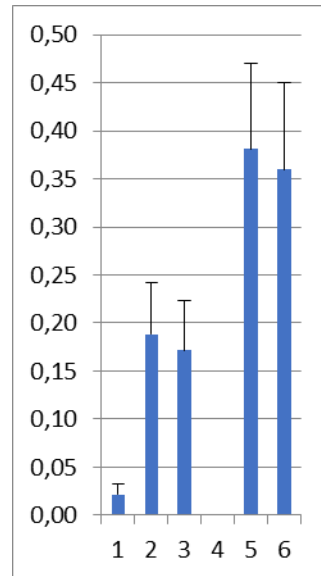
Określenie zakresu zróżnicowania chemicznego populacji uprawnej kozłka lekarskiego

Zawartość kwasów seskwiterpenowych (%)

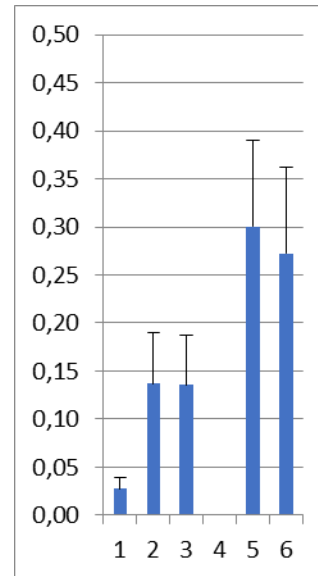
POPULACJA VI



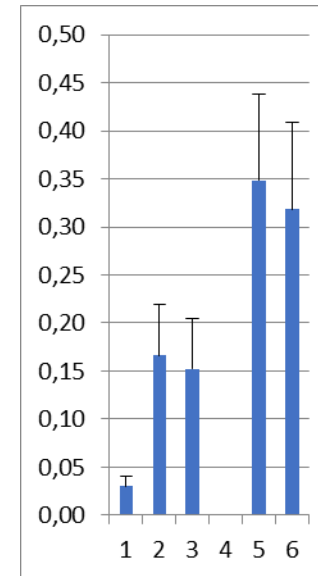
POPULACJA VII



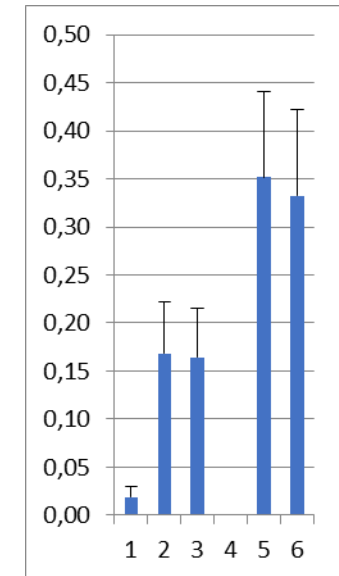
POPULACJA VIII



POPULACJA IX



POPULACJA X



1. Kwas hydroksywalerenowy
2. Kwas acetoksywalerenowy
3. Kwas walerenowy

5. suma kwasów walerenowych (1+2+3)
6. suma kwasów hydroksy walerenowego i walerenowego (2+3)

VI populacja Kujawy (liczba roślin:16),
VII populacja Płońsk (liczba roślin: 37),
VIII populacja Włodawa (liczba roślin: 19),
IX populacja Lubelszczyzna (liczba roślin: 21).
X populacja SGGW (liczba roślin: 10)
Łącznie: 103 obiekty

Określenie ploidalności w obrębie populacji uprawnej kozłka lekarskiego

MATERIAŁ ROŚLINNY

Wierzchołki wzrostu korzeni siewek:

1. odmiany 'Lubelski' zbiór nasion 2020,
2. populacji SGGW, zbiór nasion 2019.

Skracanie chromosomów:

0,002 M roztwór 8-hydroksychinoliny, 3 h, 16°C.

Utrwalenie materiału:

mieszanina absolutnego alkoholu etylowego i kwasu octowego lodowatego (3:1), 24 h.

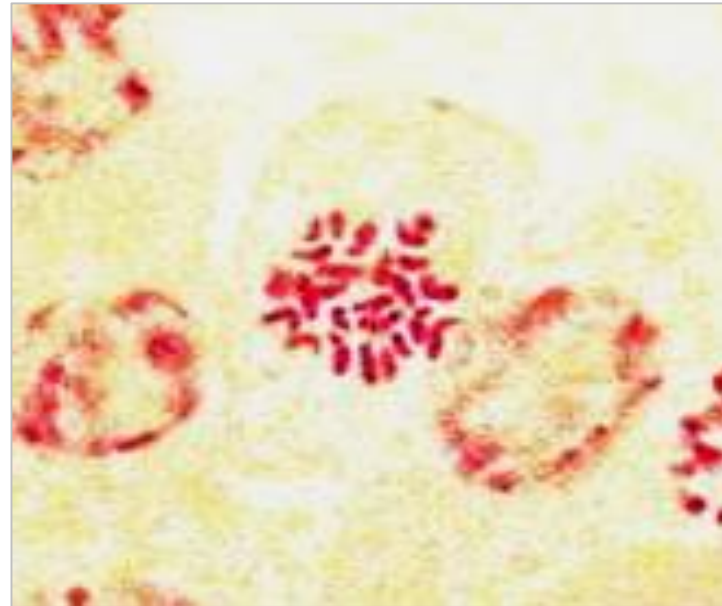
Przechowywanie materiału: 70% etanol, 4°C.

Dokumentacja fotograficzna:

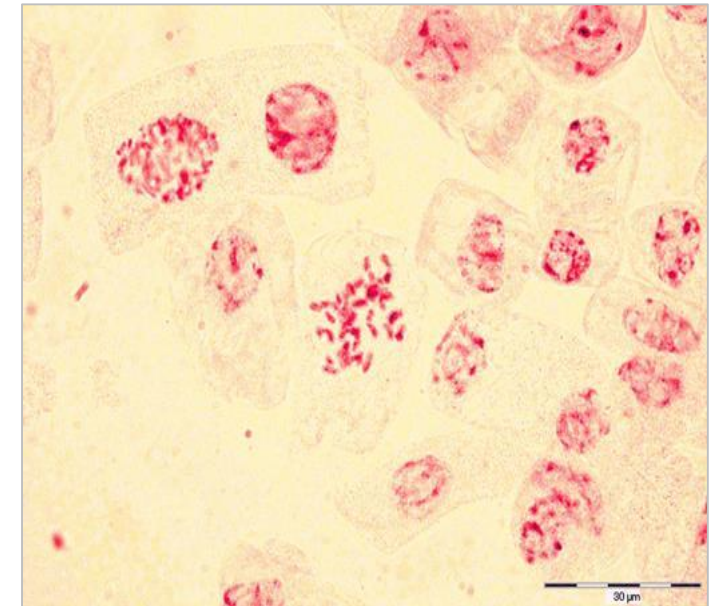
mikroskop Olympus BX41, program QuickPhotoPro.

Charakterystyka badanych populacji pod względem liczby chromosomów

Populacja	Liczba siewek		
	analizowanych	tetraploidalnych (4x=28)	o innej liczbie chromosomów
'Lubelski'	31	30	1 (miksoploidalna)
Populacja SGGW	28	28	0



komórka tetraploidalna



komórka o liczbie chromosomów >50

Określenie częstości występowania w populacji uprawnej kozłka osobników męskosterylnych

MATERIAŁY I METODY

Plantacje kozłka odmiany „Lubelski” o różnej lokalizacji:

1. Pole Doświadczalne KRWiL w Wilanowie (woj. mazowieckie)
2. Plantacja w gminie Płońsk (woj. mazowieckie)
3. Plantacja w miejscowości Włodawa (woj. lubelskie)
4. Plantacja w miejscowości Samokłęski (woj. lubelskie)

Kryteria selekcji roślin męskosterylnych:

- Morfologia kwiatu – długość pręcików, barwa pylników
- Ocena żywotności pyłku - % ziaren wybarwionych na czerwono w acetokarminie (2% karmin w 45% kwasie octowym)
- Mikroskopowa analiza mikrosporogenezy – wybrane rośliny, pylniki z pąków o długości 3,0, 1,0 i ok. 0,5 mm

Utrwalanie pąków do analiz cytologicznych: etanol 98,8% i kwas octowy lodowaty (3:1)

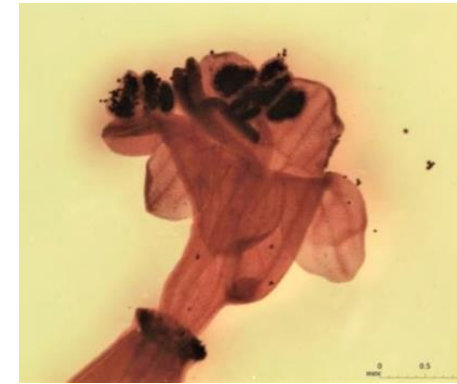
Barwienie: 1% orceina w 45% kwasie octowym

WYNIKI

Częstość występowania roślin męskosterylnych na badanych plantacjach

Plantacja kozłka ‘Lubelski’	Liczba roślin			% roślin sterylnych
	Analizowanych w polu	Wyselekcjonowanych (morfologia pręcików)	Sterylnych (0-20% pyłku wybarwionego)	
Wilanów	39	1	1	2,6
Płońsk	ok. 500	26	11	2,2
Włodawa	50	0	0	0,0
Samokłęski	50	1	1	2,0

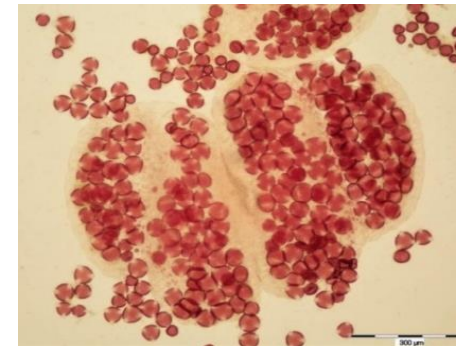
Roślina płodna (Płońsk)



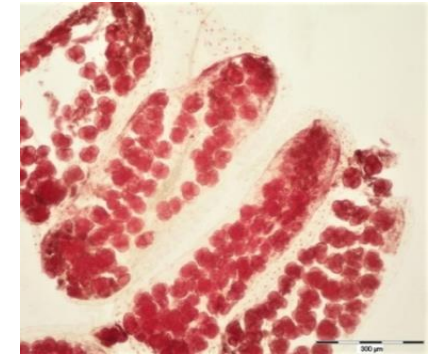
Roślina sterylna (Płońsk)



Kwiaty

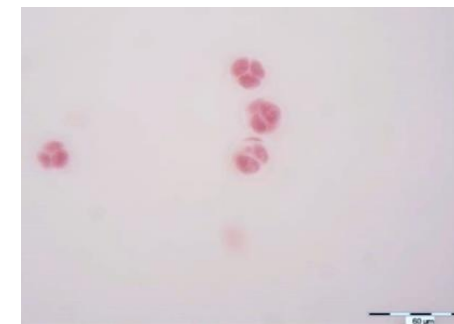


Młody pyłek

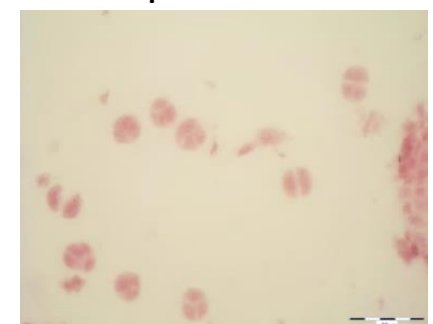


Pylniki z pąków o 3,0 mm długości

Nierozdzielone tetrazy mikrospor



Tetrazy mikrospor



Pylniki z pąków o 0,5 mm długości

Tetrazy i diady mikrospor

Opracowanie warunków inicjacji kultury *in vitro* kozłka lekarskiego

MATERIAŁY I METODY

Źródła eksplantatów inicjalnych:

1. wyselekcjonowane rośliny (klony) kozłka
2. nasiona odmiany „Lubelski”

Rodzaje eksplantatów pobieranych z roślin:

- o wierzchołki pędów
- o młode liście

Terminy pobierania eksplantatów z roślin:

1. wiosna – pierwsza połowa maja
2. jesień – pierwsza połowa września

Pożywka dla eksplantatów:

- o wierzchołków pędów i liści - MS/B5 z 0,1 lub 0,5 mg/l BA
- o nasion – ½ MS/B5 bez regulatorów wzrostu

Substancje odkażające:

- o „Domestos” 10%
- o PPM™ 5% (wierzchołki pędów) lub 2,5% (nasiona)
- o Sublimat 0,2%

WYNIKI

Z odkażonych eksplantatów uzyskano:

- Z wierzchołków pędów pobieranych w maju (pąki kwiatostanowe) – liczne pędy przybyszowe/eksplantat.
- Z pąków pobieranych we wrześniu (pąki wegetatywne) – jeden pęd/eksplantat.
- Z wycinków liści – w zastosowanych warunkach nie otrzymano organogenezy pędów.
- Z nasion – rozwijające się siewki.

Wpływ metody odkażania na % żywotnych i czystych mikrobiologicznie eksplantatów inicjalnych

Substancja odkażająca	Wierzchołki pędów		Wycinki liści		Nasiona
	maj	wrzesień	maj	wrzesień	
PPM	45,7 c	62,5 a	88,1 a	30,6 c	56,2 a
Sublimat	95,1 a	68,8 a	85,6 a	98,1 a	38,7 b
„Domestos”	59,4 b	64,4 a	83,8 a	81,9 b	50,5 a

Wpływ metody odkażania i zawartości BA w pożywce na liczbę pędów przybyszowych powstałych z pąków kwiatostanowych

Substancja odkażająca	Stężenie BA w pożywce (mg/l)		Średnia dla metody odkażania
	0,1	0,5	
PPM	15,9 b	22,3 a	19,1 a
Sublimat	5,7 c	6,5 c	6,1 c
„Domestos”	10,7 bc	9,4 c	10,1 b
Średnia dla stężenia BA	10,8 a	12,8 a	-



Pąk kwiatostanowy

Liczne
zregenerowane
pędy



Pąk wegetatywny



Jeden rozwijający się pęd

Określenie efektywności uzyskiwania pąków przybyszowych i pachwinowych z eksplantatów kozłka *in vitro*

MATERIAŁY I METODY

Źródło eksplantatów inicjalnych:

3 klony kozłka w mateczniku *in vitro*: III 16/1, III 16/5, I 42/2.

Rodzaje eksplantatów pobieranych z roślin:

- Fragmenty młodych liści (inicjacja kalusa)
- Pędy (indukowanie pędów pachwinowych)

Pożywki dla eksplantatów:

- Inicjacja kalusa - MS z 1,0 lub 2,0 mg/L 2,4D, z dodatkiem lub bez dodatku 1,0 mg/L kinetyny
- Indukowanie regeneracji pędów z kalusa: MS bez regulatorów wzrostu, z 0,5 mg/L kinetyny lub 0,5 kinetyny i 0,5 mg/L IBA.
- Indukowanie pędów pachwinowych – MS/B5 z 1,0 lub 4,0 mg/L kinetyny z dodatkiem lub bez dodatku 0.1 mg/L NAA, kontrola bez regulatorów wzrostu;
- Ukorzenianie pędów pachwinowych: ½ MS/B5 z 0,5 mg/L NAA lub bez auksyny.

WYNIKI

% eksplantatów liściowych, z których powstał kalus w zależności od klonu kozłka oraz stężenia 2,4D i kinetyny w pożywce

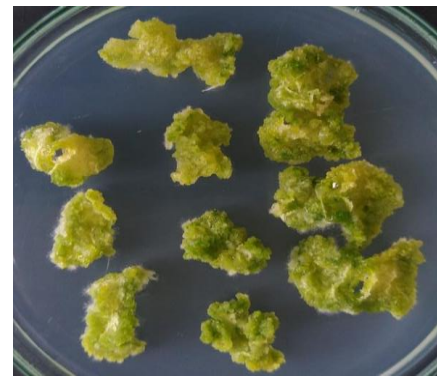
Stężenie regulatorów wzrostu (mg/L)	Klon kozłka			średnia
	III 16/1	III 16/5	I 42/2	
1,0 2,4-D	88,8 b	5,0 d	100,0 a	64,6 b
1,0 2,4-D; 1,0 Kn	100,0 a	92,5 ab	100,0 a	97,5 a
2,0 2,4-D	100,0 a	26,3 c	100,0 a	75,4 b
2,0 2,4-D; 1,0 Kn	100,0 a	93,8 ab	100,0 a	97,9 a
średnia	97,2 a	54,4 b	100,0 a	-

Liczba pędów pachwinowych 3 klonów kozłka rozmnażanych w kulturach *in vitro* w zależności od stężenia kinetyny i NAA w pożywce

Stężenie regulatorów wzrostu (mg/L)	Klon kozłka			średnia
	III 16/1	III 16/5	I 42/2	
0,0	1,6 ab	1,2 b	1,2 b	1,3 b
1,0 Kn	2,0 ab	1,4 b	1,4 b	1,6 ab
1,0 Kn, 0,1 NAA	1,8 ab	1,4 b	1,6 ab	1,6 ab
4,0 Kn	1,8 ab	1,5 b	2,5 a	1,9 a
4,0 Kn, 0,1 NAA	1,8 ab	1,5 b	1,8 ab	1,7 ab
średnia	1,8 a	1,4 b	1,7 ab	-

% ukorzenionych mikrosadzonek 3 klonów kozłka w zależności od dodatku NAA do pożywki

Stężenie NAA w pożywce (mg/l)	Klon kozłka			średnia
	III 16/1	III 16/5	I 42/2	
0,0	100,0 a	95,0 ab	100,0 a	98,3 *
0,5	96,3 ab	88,8 b	96,3 ab	93,8
średnia	98,2 a	91,9 b	98,1 a	-



I 42/2, kalus; 1,0 mg/L 2,4-D; 1,0 mg/L kinetyny



III 16/1, pędy pachwinowe; 4,0 mg/L kinetyny



III 16/5, ukorzenione sadzonki; 0,5 mg/L NAA

Określenie warunków adaptacji *ex vitro* mikrosadzonek kozłka uzyskanych z zastosowaniem technik *in vitro*

MATERIAŁY I METODY

Materiał badawczy:

Klony uzyskane z mikrorozmnażania: I 42/2, III 16/1, III 16/5 i populacja 'Lubelski' uzyskana z nasion

Warunki aklimatyzacji *ex vitro* w szklarni:

- Podłoże torfowe z piaskiem (3:1)
- Podłoże torfowe z perlitem (3:1)

Określono % zaaklimatyzowanych sadzonek.

Termin wysadzenia w pole

połowa lipca

Terminy obserwacji:

1. koniec lipca
2. koniec października

Zakres obserwacji:

- świeża masa roślin i organów surowcowych,
- długość pędów i korzeni,
- liczba pędów/roślinę,
- liczba korzeni przybyszowych/roślinę,
- grubość korzeni przybyszowych,
- morfologia stożków wzrostu pędów.

WYNIKI

Efektywność aklimatyzacji *ex vitro*

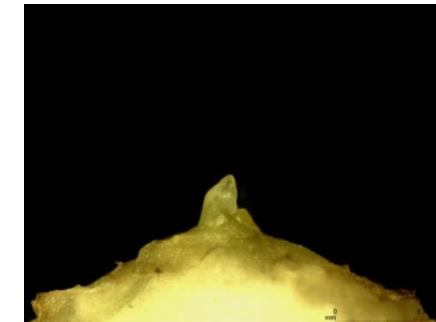
Klon	Podłoże		Średnia
	torf + piasek	torf + perlit	
I 42/2	96,7	96,7	96,7 a
III 16/1	100,0	100,0	100,0 a
III 16/5	93,3	100,0	96,7 a
średnia	96,7 a	98,9 a	-

Zróznicowanie świeżej masy i cech morfologicznych

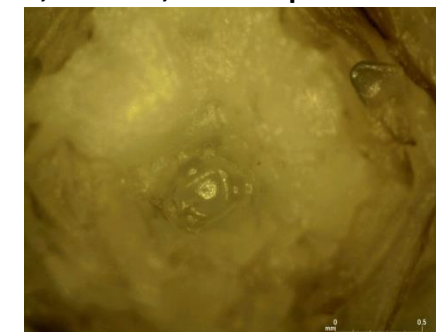
Klon/ populacja kozłka	Świeża masa (g)		Długość (cm)		Liczba		Grubość korzenia (mm)
	Cała roślina	Kłacze z korzeniami	Pędu	Korzeni	Pędów/ roślinę	Korzeni /roślinę	
1. termin obserwacji (25. 07. 23)							
'Lubelski'	6,06 a	3,16 a	26,5 bc	23,9 ab	1,0 a	15,6 b	2,48 a
I 42/2	7,95 a	5,05 a	21,8 c	16,4 b	1,4 a	25,2 a	2,26 ab
III 16/1	7,23 a	4,24 a	28,4 c	30,9 a	1,0 a	18,4 ab	2,20 ab
III 16/5	7,88 a	3,77 a	32,6 a	22,5 ab	1,0 a	19,4 ab	2,06 b
Średnia	7,28	4,55	27,3	23,4	1,1	19,7	2,25
2. termin obserwacji (22. 10. 23)							
'Lubelski'	310,78 b	120,17 b	53,4 a	17,6 b	3,4 a	98,2 c	3,04 a
I 42.2	654,62 a	265,99 a	51,6 a	21,4 a	4,0 a	210,6 a	3,14 a
III 16.1	222,22 b	109,69 b	48,0 a	21,8 a	4,0 a	145,8 bc	2,48 a
III 16.5	247,04 b	127,80 b	44,7 a	18,3 ab	3,8 a	152,2 b	3,04 a
Średnia	358,67	155,91	49,4	18,8	3,8	151,7	2,93

Zawartość związków biologicznie aktywnych

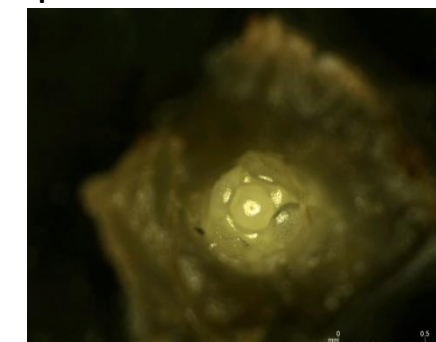
Klon/populacja kozłka	Zawartość kwasów seskwiterpenowych (%)	Zawartość olejku eterycznego (mL/100 g s.m.)
'Lubelski'	0,24	2,4
I 42/2	0,56	6,8
III 16/1	0,55	5,8
III 16/5	0,43	5,0



Merystem wegetatywny,
'Lubelski', koniec lipca



Merystem generatywny,
'Lubelski', koniec
października



Merystem generatywny,
klon I 42/2, koniec
października

Wpływ terminu zakładania plantacji na tworzenie się pośpiechów oraz masę i jakość korzeni kozłka

MATERIAŁY I METODY

Materiał badawczy:

Rośliny kozłka lekarskiego odmiany 'Lubelski' otrzymane z nasion populacji uprawianej w okolicach Płońska.

Warianty doświadczenia

Zastosowano trzy terminy siewu:

- I. 21.03.22
- II. 16.05.22
- III. 18.07.22

Zakres badań w pierwszym roku wegetacji (2022):

- Liczba liści/roślinę
- Liczba pędów na kłączu,
- Świeża masa części podziemnej – kłącza z korzeniami,
- Świeża masa części nadziemnej,
- Wysokość pędów,
- Analiza różnicowania się merystemu pędu.

Zakres badań w drugim roku wegetacji (2023)

- Analiza różnicowania się merystemu pędu w dwóch terminach (22 marca i 20 kwietnia)
- Określenie liczby i długości pędów generatywnych (1 czerwca)
- Ocena intensywności odrastania pośpiechów po usunięciu pędów kwiatostanowych (pośpiechów) w okresie od 14 czerwca do 5 lipca:
 - liczba pośpiechów
 - długość pośpiechów
- Analiza zawartości kwasów seskwiterpenowych i olejku eterycznego w surowcu

WYNIKI: I ROK WEGETACJI

Zróżnicowanie cech morfologicznych roślin kozłka w polu (średnia \pm odchylenie standardowe) w pierwszym roku wegetacji

Termin obserwacji	Termin siewu			
	21. 03		16. 05	
	08. 09.	27. 10.	08. 09.	27. 10.
Wiek roślin (dni)	172	221	114	163
Liczba liści/roślinę	41,7 \pm 17,4	58,3 \pm 20,6	26,7 \pm 4,0	31,0 \pm 5,2
Liczba pędów/roślinę	8,7 \pm 3,1	8,6 \pm 3,0	7,3 \pm 0,58	6,4 \pm 0,56
Świeża masa kłącza (g)	238,72 \pm 26,02	447,28 \pm 126,73	75,27 \pm 18,65	120,08 \pm 27,10
Świeża masa liści (g)	435,25 \pm 71,64	596,93 \pm 160,92	202,18 \pm 94,7	204,65 \pm 69,51
Wysokość pędów (cm)	78,67 \pm 1,53	76,67 \pm 3,79	60,68 \pm 16,26	60,70 \pm 8,14



Merystem wegetatywny siewki szklarnia 25.05.22

Rośliny z siewu 21. 03.22.

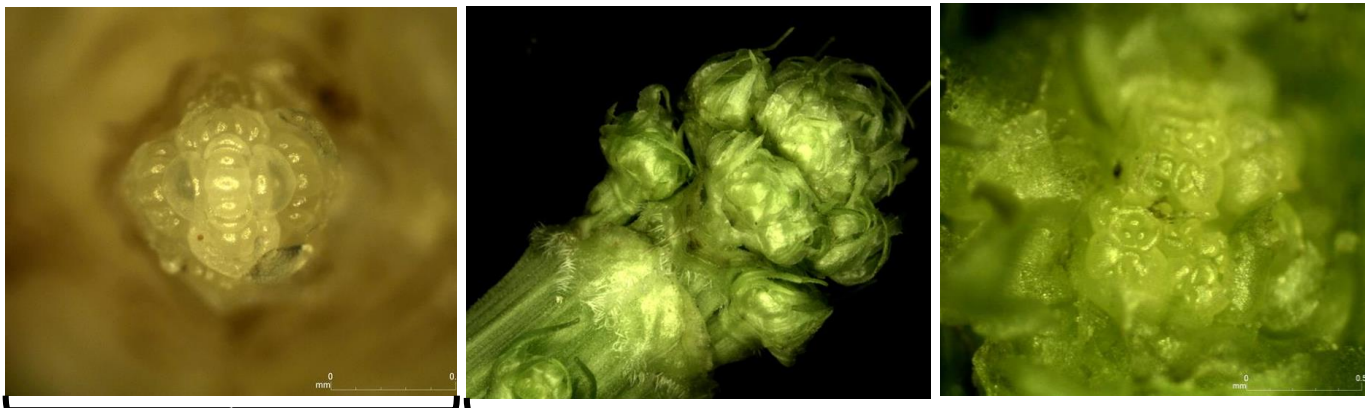


Młody merystem kwiatostanowy pole 27.10.22

Wpływ terminu zakładania plantacji na tworzenie się pośpiechów oraz masę i jakość korzeni kozłka

WYNIKI: II ROK WEGETACJI

Rośliny z siewu (21.03.22)



Różnicowanie się rozgałęzień I i II rzędu kwiatostanu (obserwacje 20.03.23)

Różnicowanie się merystemów kwiatowych w kwiatostanie (obserwacje 20.04.23)

Liczba i długość odrastających pośpiechów

Termin siewu	Liczba pędów (pośpiechów)/roślinę		Długość pędów (pośpiechów) (cm)	
	odziomkowych	kątowych	odziomkowych	kątowych
Obserwacje 14 czerwca				
I	0,8 a	10,3 a	1,8 a	3,2 a
II	2,2 a	8,0 ab	2,7 a	3,1 a
III	0,5 a	2,3 b	1,7 a	3,3 a
średnia	1,2	6,9	2,1	3,2
Obserwacje 23 czerwca				
I	3,5 a	10,5 a	15,3 a	14,0 a
II	2,7 a	8,5 a	16,5 a	13,9 a
III	0,5 a	2,3 b	9,0 a	8,0 a
średnia	2,2	7,1	13,6	12,0
Obserwacje 5 lipca				
I	3,5 a	14,3 a	42,7 a	38,5 a
II	4,0 a	10,3 a	42,0 a	39,3 a
III	0,5 a	2,5 b	18,8 a	25,0 a
średnia	2,7	9,0	34,5	34,3

Zawartość związków biologicznie aktywnych

Termin siewu	Zawartość kwasów seskwiterpenowych (%)	Zawartość olejku eterycznego (mL/100 g s.m.)
I	0,32	4,4
II	0,36	5,1
III	0,40	6,0
Średnia	0,36	5,2



Odrastające pośpiechy

Wpływ terminu usuwania pośpiechów na masę surowca i gromadzenie się związków biologicznie czynnych

MATERIAŁY I METODY

Materiał badawczy

Rośliny klonu III 16/5 wyselekcjonowanego z populacji uprawnej 'Lubelski' rozmnożone w kulturach in vitro, wysadzone w pole 15.06.23.

Warianty doświadczenia

Trzy grupy roślin:

- I. Pośpiechy usunięte przed kwitnieniem roślin (23.05.24)
- II. Pośpiechy usunięte na początku pełni kwitnienia roślin (07.06.24)
- III. Kwiatostany pozostawione na roślinach (grupa kontrolna)

Zakres badań

- Intensywność odrastania pośpiechów w trzech terminach:

1. 07.06.24
2. 14.06.24
3. 23.06.24

Liczba, długość i faza rozwojowa pośpiechów,

- Opis po zbiorze (23.10.24):

- liczba i długość pędów
- masa i struktura organów podziemnych
- zawartość kwasów seskwiterpenowych i olejku eterycznego

WYNIKI

Charakterystyka morfologiczna i chemiczna roślin w zależności od terminu usunięcia pośpiechów

Termin usunięcia pośpiechów	Świeża masa (g/roślinę)		Liczba pędów	Długość (cm)		Grubość korzeni (mm)	Zawartość	
	cała roślina	kłaczce i korzenie		pęd	korzenie		Kwasów seskwiterpenowych (%)	Olejku eterycznego (mL/100 g s.m.)
Kontrola	270,38 b	162,18 b	17,0 a	48,8 a	19,0 a	2,9 b	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	0,43b	6,8b
07.06.24	920,72 a	430,05 a	19,0 a	56,0 a	19,2 a	3,2 ab	0,52ab	7,3ab



Kontrola

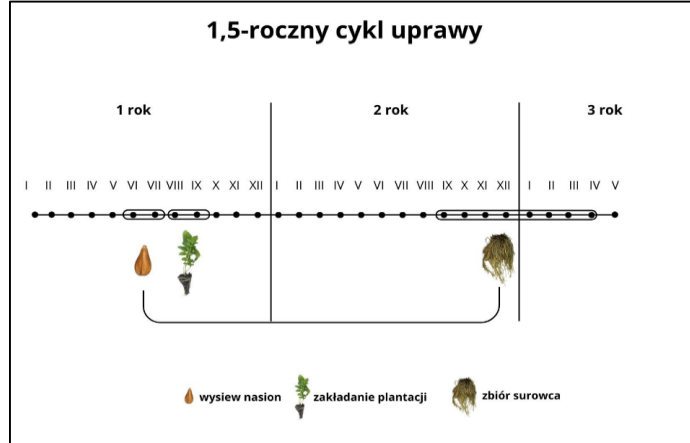
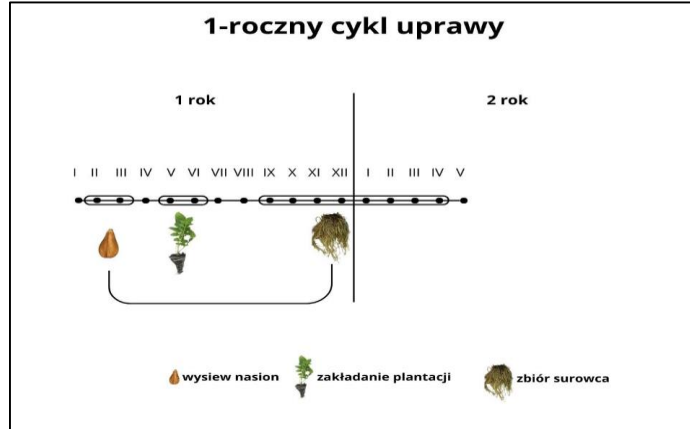


Pośpiechy usunięte w pełni kwitnienia

Liczba i długość odrastających pędów kwiatostanowych

Termin usunięcia pośpiechów	Liczba pędów/roślinę		Długość pędów (cm)		Faza rozwojowa
	odziomkowych	kątowych	odziomkowych	kątowych	
1. termin obserwacji (07.06.24)					
23.05.24	5,5	24,0	16,0	7,0	pąki kwiatowe
07.06.24	-	-	-	-	-
2. termin obserwacji (14. 06.24)					
23.05.24	9,0	26,0*	41,6	23,8*	Pąki lub początek kwitnienia
07.06.24	4,5	4,5	42,2	4,6	Pąki lub początek kwitnienia
3. 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

Wpływ sposobu uprawy na masę organów surowcowych i gromadzenie się w nich kwasów seskwiterpenowych (uprawa w cyklu 1- i 1,5 rocznym)



zbiór organów surowcowych w każdym cyklu uprawowym (1- i 1,5-rocznym) prowadzony był 4-krotnie, tj. wczesną jesienią (IX), późną jesienią (XI), w okresie zimowym (I) oraz na początku wegetacji w kolejnym roku (IV).

Dynamika przyrostu masy organów podziemnych kozłka (g s.m./roślinę).

Cykl uprawowy	Termin zbioru			
	1 termin (IX)	2 termin (XI)	3 termin (I)	4 termin (IV)
1-roczny	57,6	93,3	78,5	66,8
1,5-roczny	108,8	134,3	109,9	97,7

Wpływ sposobu uprawy na zawartość kwasów seskwiterpenowych w organach podziemnych kozłka (%)

Kwasy seskwiterpenowe	cykl 1-roczny	cykl 1,5 roczny
1	0,08	0,05
2	0,09	0,18
3	0,26	0,29
1+2+3	0,43	0,52

Wpływ terminu zbioru na zawartość kwasów seskwiterpenowych w organach podziemnych kozłka (%)

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
1+2+3	0,44	0,49	0,49	0,53

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

Określenie czynników wpływających na zawiązywanie nasion kozłka i ich jakość

CZYNNIKI DOŚWIADCZENIA:

Genotypy: 15 klonów

Poziom rozgałęzienia pędu:

1 – górna część nasiennika

2 – środkowa część nasiennika

3 – dolna część nasiennika

Termin zbioru nasion:

1 – 12 lipca

2 – 19 lipca



Wpływ genotypu na jakość materiału siewnego

Genotyp	EK (%)	ZK (%)
I 5/5.1	85,7	90,4
I 5/5.2	89,2	94,0
I 42/2.2	96,4	98,0
II 21/1.1	84,4	88,4
II 22/6.1	79,0	89,4
II 26/1.1	92,7	94,4
II 31/6.1	80,7	87,0
II 31/6.2	84,0	93,7
III 9/2.2	86,0	91,4
III 16/1.1	90,0	98,0
III 16/5.2	58,4	66,4
III 39/5.2	85,7	90,7
IV 17/3.1	64,2	74,4
IV 55/4.1	91,4	94,0
IV 55/4.2	69,4	82,2

EK – energia kiełkowania (%) – po 7 dniach testu

ZK – zdolność kiełkowania (%)

Wpływ osadzenia nasion na roślinie na jakość materiału siewnego

Poziom rozgałęzienia pędu	EK (%)	ZK (%)
1	78,77	87,50
2	81,22	89,11
3	80,31	89,70

Wpływ terminu zbioru nasion na jakość materiału siewnego

Termin zbioru	Udział nasion (%)	
	dojrzałych	niedojrzałych
1	70,10	29,90
2	81,12	18,88

EK (%)		ZK (%)	
nasiona dojrzałe	nasiona niedojrzałe	nasiona dojrzałe	nasiona niedojrzałe
87,7	41,1	94,5	58,4

Ocena wpływu zagęszczenia roślin w uprawie na budowę pędów kwiatostanowych oraz jakość uzyskanych nasion

Materiały i metody

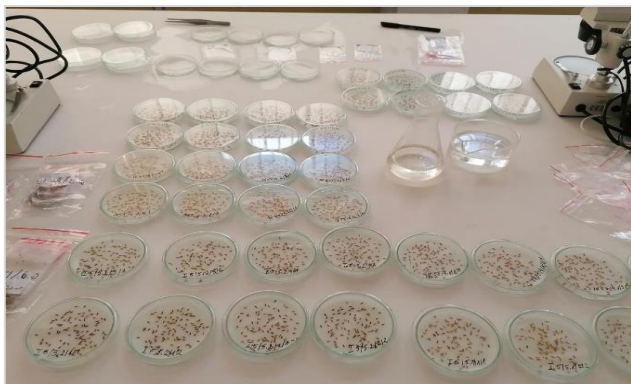
- Termin założenia doświadczenia polowego: V.2022r. (plantacje nasienne kozłka prowadzone są w systemie 2-letnim; nasiona zbierane są w drugim roku uprawy)
- Zastosowana rozstawa: 50 x 50 cm; 50 x 25 cm; 25 x 25 cm.
- Termin wykonania obserwacji: VI-VII.2023
- Oceniane cechy: budowa nasienników, masa nasion z rośliny oraz ich wartość siewna, tj. masa 1000 nasion, zdolność kiełkowania i dynamika kiełkowania.
- Ocena wartości siewnej nasion została przeprowadzona zgodnie z przepisami ISTA.

Wyniki

Badane parametry	Rozstawa roślin					
	50×50 cm		50×25 cm		25×25 cm	
	kontrola**	4 pędy	kontrola**	4 pędy	kontrola**	4 pędy
długość pędów (cm)	226,5	231,0	220,0	224,5	225,8	221,7
długość odcinka pędu z wierzchołkami (cm)	100,6	139,4	87,1	93,3	75,8	86,7
liczba pędów na roślinie (szt.)	13,2	4	12,1	4	8,20	4
masa nasion z rośliny (g)	37,58	28,70	26,07	22,54	20,41	11,32
masa 1000 nasion (g)	0,7683	0,8128	0,7345	0,7593	0,7153	0,7420
zdolność kiełkowania (%)	85,5	91,5	82,0	87,9	80,7	86,5
energia kiełkowania (% (%, liczona po 7 dniach testu)	78,8	84,3	71,5	78,8	72,6	74,0

Wpływ czasu i sposobu przechowywania nasion na ich jakość

- Materiał badawczy: nasiona kozłka lekarskiego „Lubelski” zebrane w 2022r.
- Zastosowane opakowania: worki papierowe, foliowe worki strunowe i szklane słoje
- Temperatura przechowywania: 21°C, 10°C, 4°C, -20°C
- Czas przechowywania: 3,10,16,20,24 m-ce
- Ocena wartości siewnej (ISTA): zdolność kiełkowania, żywotność nasion



Wpływ czasu i temperatury przechowywania na zdolność kiełkowania nasion (%)

Temperatura przechowywania	Czas przechowywania (m-ce)				
	3	10	16	20	24
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

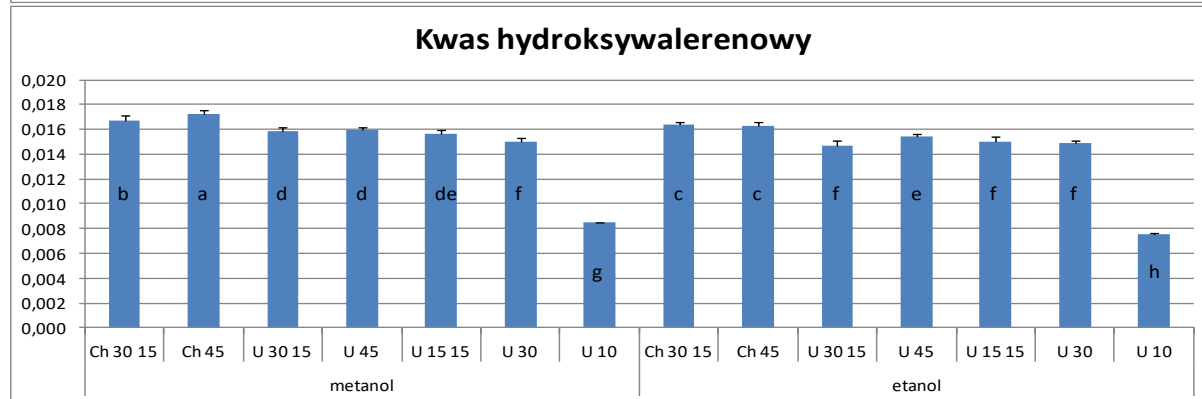
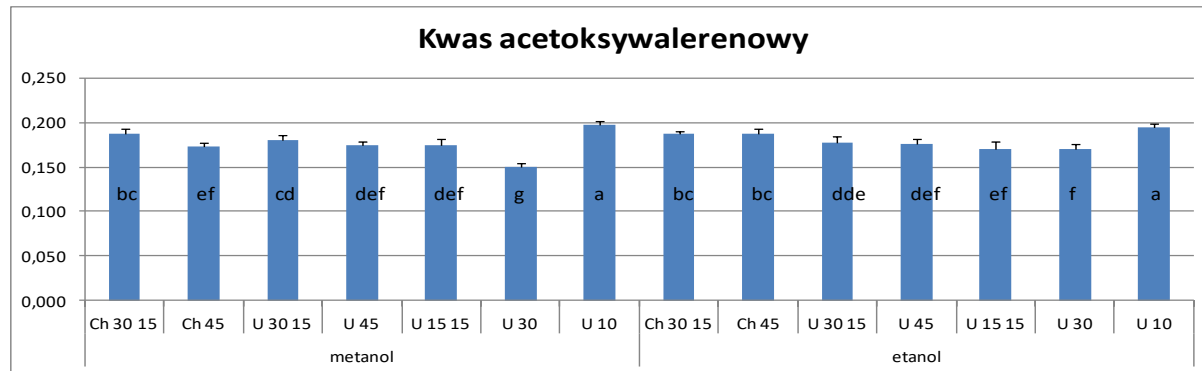
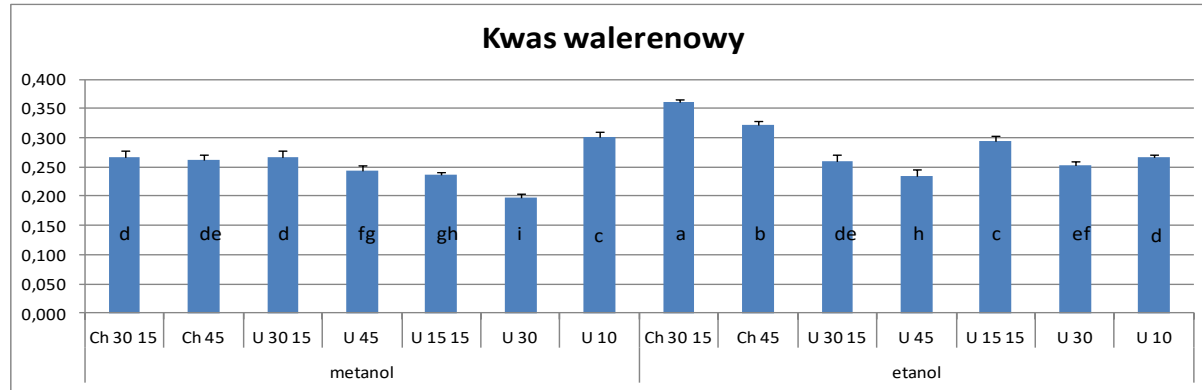
Wpływ opakowania i temperatury przechowywania na zdolność kiełkowania nasion (%)

Opakowanie	Czas przechowywania (m-ce)				
	3	10	16	20	24
szczerlnie zamykany szklany słoik	85,2	84,3	71,3	68,5	66,5
foliowy worek strunowy	82,7	82,3	73,0	68,8	59,5
worek papierowy jednowarstwowy	85,7	84,5	71,5	59,3	53,0

Wpływ czasu i temperatury przechowywania oraz opakowania na żywotność nasion (%)

Temperatura przechowywania	Czas przechowywania (m-ce)			Opakowanie	Czas przechowywania (m-ce)		
	12	20	24		12	20	24
20°C	78,0	61,0	60,3	szczerlnie zamykany szklany słoik	80,8	83,0	80,3
10°C	80,7	66,0	64,0	foliowy worek strunowy	74,5	70,3	68,3
4°C	81,3	77,0	70,0	worek papierowy jednowarstwowy	71,8	69,3	63,5
-20°C	85,3	80,0	78,3				

Optimalizacja warunków ekstrakcji oraz analizy chemicznej korzeni kozłka przy użyciu HPLC



Kombinacje zastosowane do optymalizacji warunków ekstrakcji

kombinacja

symbol

metanol, pod chłodnicą zwrotną dwustopniowa 30 min + 15 minut

metanol Ch 30 15

metanol, pod chłodnicą zwrotną jednostopniowa 45 min

metanol Ch 45

metanol, wspomagana ultradźwiękami dwustopniowa 30 min + 15 minut

metanol U 30 15

metanol, wspomagana ultradźwiękami jednostopniowa 45 min

metanol U 45

metanol, wspomagana ultradźwiękami dwustopniowa 15 min + 15 minut

metanol U 15 15

metanol, wspomagana ultradźwiękami jednostopniowa 30 min

metanol U 30

metanol, wspomagana ultradźwiękami jednostopniowa 10 min

metanol U 10

etanol, pod chłodnicą zwrotną dwustopniowa 30 min + 15 minut

etanol Ch 30 15

etanol, pod chłodnicą zwrotną jednostopniowa 45 min

etanol Ch 45

etanol, wspomagana ultradźwiękami dwustopniowa 30 min + 15 minut

etanol U 30 15

etanol, wspomagana ultradźwiękami jednostopniowa 45 min

etanol U 45

etanol, wspomagana ultradźwiękami dwustopniowa 15 min + 15 minut

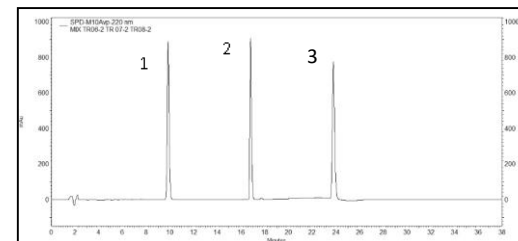
etanol U 15 15

etanol, wspomagana ultradźwiękami jednostopniowa 30 min

etanol U 30

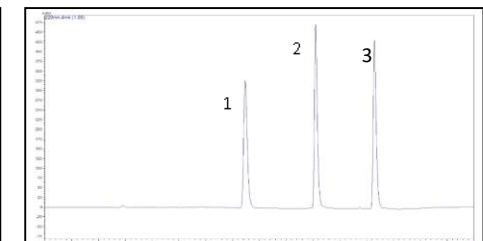
etanol, wspomagana ultradźwiękami jednostopniowa 10 min

etanol U 10



Chromatogram mieszaniny wzorców otrzymany za pomocą metody wg. Farmakopei Europejskiej (monograph 04/2017:0453):

1. kwas hydroksywalerenowy
2. kwas acetoksywalerenowy
3. kwas walerenowy



Chromatogram mieszaniny wzorców otrzymany za pomocą metody opracowanej w niniejszym temacie badawczym.

1. kwas hydroksywalerenowy
2. kwas acetoksywalerenowy
3. kwas walerenowy