

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2023 roku

A. INFORMACJE OGÓLNE

Tytuł zadania: Genetyczne i rozwojowe aspekty plonowania i jakości surowca kozłka lekarskiego
Numer zadania: 32
Planowany okres realizacji zadania: 2023 r.
Planowane nakłady w zł: 174 000

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
--

C. INFORMACJA O WYKONAWCACH

1. Zespół badawczy

kierownik zadania		
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
wykonawcy zadania		
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.	
Dominika Dmitruk	mgr inż.	SGGW w Warszawie: Katedra Botaniki, Instytut Biologii
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.	Określenie ekspresji genów kodujących syntazy seskwiterpenowe u siewek kozłka.	tak
2.	Określenie warunków adaptacji <i>ex vitro</i> mikrosadzonek uzyskanych z zastosowaniem technik <i>in vitro</i> oraz porównanie rozwoju roślin uzyskanych z mikrorozmnażania i z rozsady	tak
3.	Określenie zakresu zróżnicowania kozłka lekarskiego w fazie rozwoju generatywnego.	tak
4.	Określenie wpływu terminu zakładania plantacji na tworzenie się pośpiechów oraz na masę i jakość korzeni.	tak
5.	Określenie dynamiki przyrostu masy organów surowcowych i gromadzenia się w nich związków czynnych w uprawie kozłka w cyku 1-rocznym i 1,5 rocznym (ozimym).	tak
6.	Określenie czynników pozbiorczych wpływających na parametry jakościowe nasion kozłka.	tak

2. Harmonogram realizacji zadania

Lp.	Nazwa tematu badawczego	Termin rozpoczęcia – zakończenia tematu w miesiącach w danym roku	Przewidywane koszty tematu
1	Badania nad ekspresją genów kodujących syntazy seskwiterpenowe u siewek kozłka (100 siewek; badania prowadzone w 2 powtórzeniach; 12 analizowanych genów)	II-XI	64 000
2	Określenie warunków adaptacji <i>ex vitro</i> mikrosadzonek kozłka lekarskiego uzyskanych z zastosowaniem technik <i>in vitro</i> (badania na 3 genotypach, w 3 powtórzeniach).	V-IX	10 400
3	Określenie zakresu zróżnicowania kozłka lekarskiego w fazie rozwoju generatywnego (badania prowadzone w drugim roku wegetacji roślin; 3 warianty gęstości sadzenia; określenie terminu zakwitania, zawiązywania nasion, masy nasion z rośliny oraz ich wartości siewnej; badania na 27 roślinach (dla wariantu rozstawy roślin))	IV-XI	24 500
4	Badania dotyczące określenia wpływu terminu zakładania plantacji na tworzenie się pośpiechów oraz na masę i jakość korzeni kozłka (obserwacje rozwojowe prowadzone będą na roślinach z 3 terminów wysiewu; analizy chemiczne na próbach zbiorczych, w 3 powtórzeniach)	III-XI	34 600
5	Badania nad dynamiką przyrostu masy organów surowcowych i gromadzenia się w nich związków czynnych w uprawie kozłka w cyku 1-rocznym i 1,5-rocznym (ozimym) (zbiór surowców w 3 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)	IV-XI	24 500
6	Określenie czynników pozbiorczych wpływających na parametry jakościowe nasion kozłka (badane czynniki: czas i warunki przechowywania nasion; analizy: masa 1000 nasion, zdolność kiełkowania, żywotność; przewidywana liczba testów zdolności kiełkowania: 25)	I-XI	16 000
Razem:			174 000

3. OPIS TEMATÓW BADAWCZYCH

3. 1. Temat badawczy 1

Określenie ekspresji genów kodujących syntazy seskwiterpenowe u siewek kozłka.

Celem tematu 1. było określenie ekspresji genów kodujących syntazy seskwiterpenowe u siewek kozłka. W 2023 roku przeprowadzono I etap tych badań zaplanowanych do realizacji na 2 lata (2023 /I etap/ - 2024 /II etap/). Pełne wyniki wraz z analizą danych będą możliwe do przedstawienia w 2024 roku. Jest to związane z faktem, iż do przeprowadzenia analizy ekspresji genów niezbędne są również wyniki analiz chemicznych organów podziemnych badanych roślin. Surowce te, zgodnie z praktyką rolniczą u kozłka, pozyskiwane są w drugim roku uprawy (uprawa w cyklu 1,5-letnim).

Metody

Przygotowanie rozsady kozłka lekarskiego i założenie doświadczenia polowego

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. Rośliny te zostały opatrzone odpowiednio symbolami i wysadzone w doświadczeniu polowym na polu doświadczalnym w Wilanowie.



Rozsada kozłka w fazie, w której pobierano próby liści i korzeni (przed wysadzeniem w pole)

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 poliwinylpolipirolidonu (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 2 kb (EURx).

Synteza cDNA

Na matrycy wyizolowanego RNA przeprowadzono syntezę cDNA z użyciem zestawu do odwrotnej transkrypcji: High-Capacity cDNA Reverse Transcription 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 Random Primers	2
MultiScribe™ Reverse Transcriptase	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

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 μ l. 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 (μ l)
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 ($^{\circ}$ C)	Czas
Denaturacja wstępna	95	2min
Denaturacja	95	15sek
Przyłączanie 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	GATCCCTTCCTTGCTTCCGCTA
2	VfHMGS	F	TGGTGGAACTGCAGCATTGTTC
		R	CCGCACTGTCTGTGCACACGA
3	VfHMGR	F	TCAGATGCCCTGCCTCTTCC
		R	GATCTTCTCGCGCCACCTTG
4	VfMVD	F	AATGGAATCGCGCTGAAGGA
		R	CACAGCATTCGGCCAGCAT
5	VfIDI	F	AGCAGATGCAGGCGAAGAGG
		R	GCCTCGCTTAAGTTCCCGTTCT
6	VfFPS	F	TGATGACGACGGCAAGGAGA
		R	CACCAACCAAGTGAGCATGCAAGA
7	VfDXR	F	AGAACTCCGGTCATTGTGCCA
		R	CCGCCTCGATCTTTGCAAGTTA
8	VfMCT	F	TCAGTTGCTCTGCAAATGGGAGT
		R	TCCATTCTTGTGCCCTTTCC
9	VfHDS	F	CTGACAGGCGGGCACAGTTT
		R	GCCGATTCGCATAGCTCTTCC
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	GACTGTCACACTTCTCACATTGCC
		R	TCTCGACCACCATAGGTTTGGT

Analiza statystyczna otrzymanych wyników

Wydajność reakcji dla każdej pary starterów została policzona z wykorzystaniem narzędzia LinRegPCR [Ramakers i wsp. 2003]. Względny poziom akumulacji transkryptu został policzony metodą pojedynczej delty [Livak i Schmittgen 2001]. Nie dokonano podziału badanych roślin na grupy o różnej zawartości kwasów walerenowych, więc nie przeprowadzono analizy wariancji.

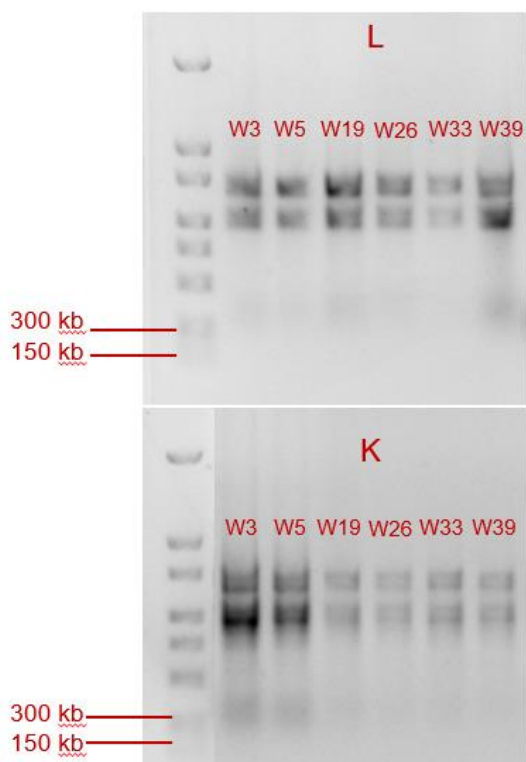
Wyniki

Pobranie oraz zabezpieczenie materiału roślinnego do analiz genetycznych

Próby liści i korzeni 100 siewek pobrano i zamrożono w ciekłym azocie we wrześniu 2023 r. Materiał ten był przechowywany w temp. -80°C.

a) Izolacja RNA

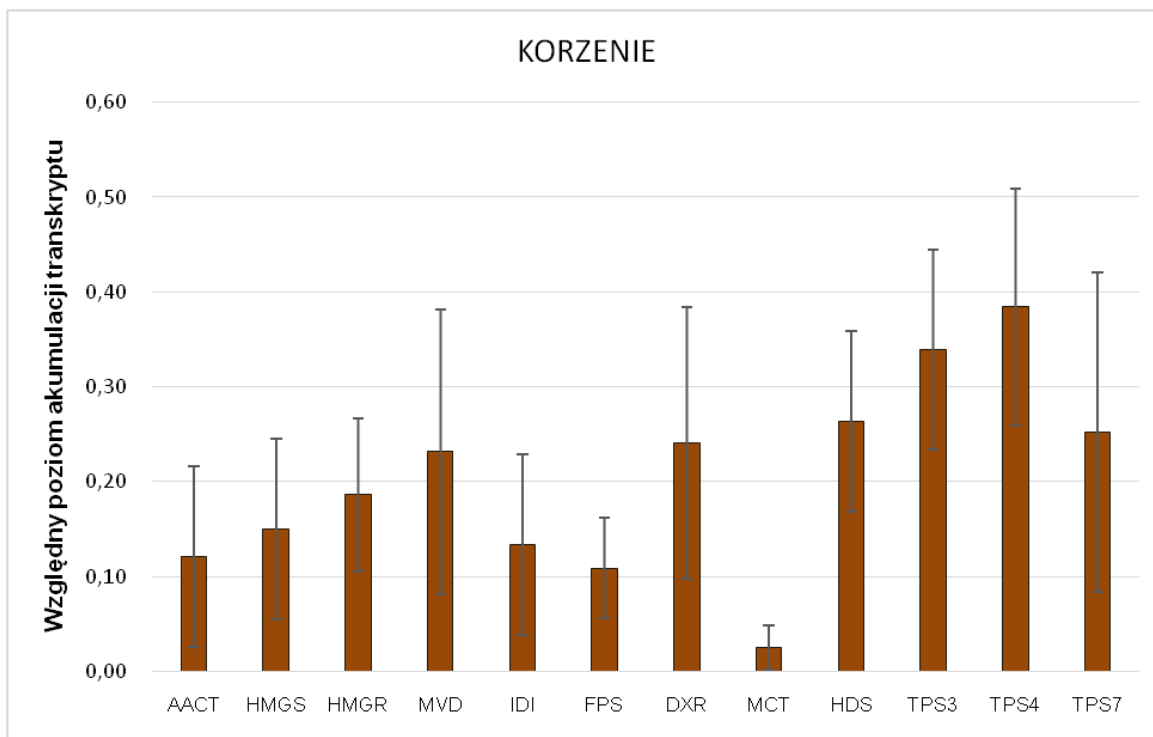
W celu upewnienia się o poprawności stosowanej metody izolacji RNA kilka próbek rozdzielono elektroforetycznie, by ocenić integralność wyizolowanego RNA (Ryc. 1). Wyizolowany RNA był integralny i dobrej jakości, o czym świadczą widoczne na Ryc. 1 wyraźne prążki reprezentujące podjednostki rybosomowe: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



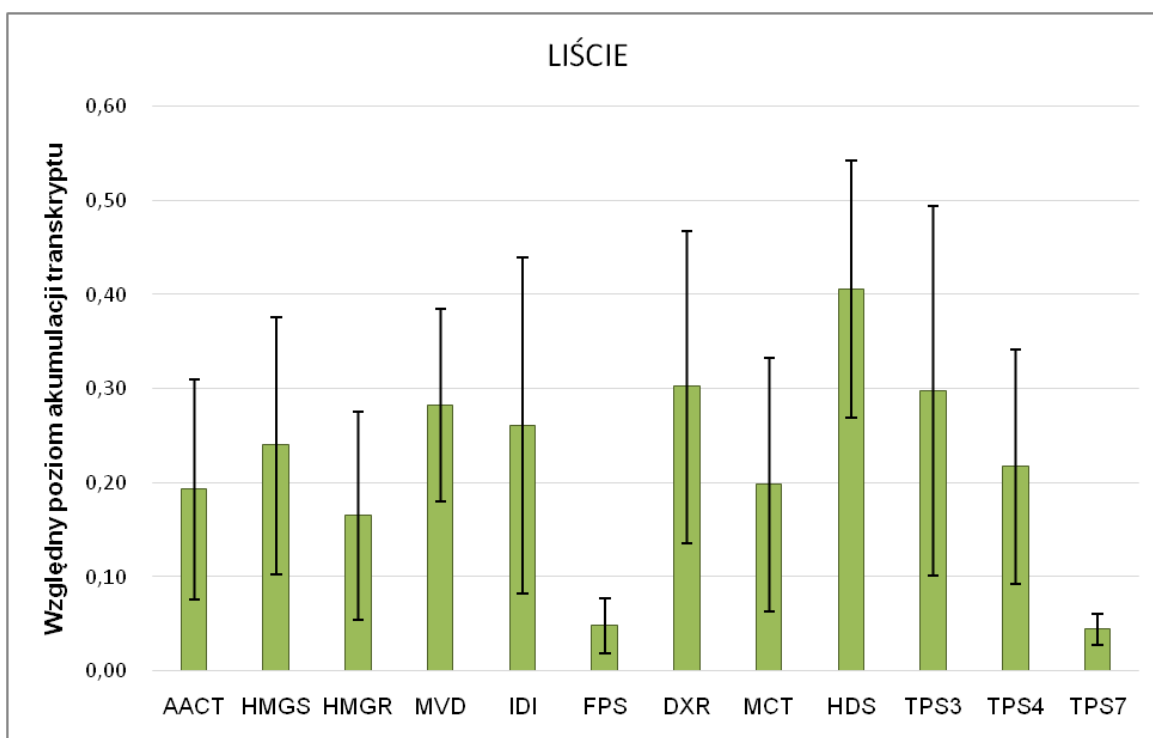
Ryc. 1. Integralność RNA wybranych prób po ucieraniu z PVPP. L – liście, K – korzenie. Wzorzec Perfect Plus 2 kb (EURx).

b) Analiza ekspresji genów kodujących syntazy seskwiterpenowe bez podziału na grupy kozłka o zróżnicowanej zawartości kwasu walerenowego:

Otrzymane wstępne profile ekspresji dla liści i korzeni siewek (Ryc. 2 i 3) zostaną przyporządkowane do trzech grup roślin o niskiej, średniej i wysokiej zawartości kwasów walerenowych i będą poddane szczegółowej analizie statystycznej po uzyskaniu wyników analiz chemicznych surowca przeprowadzonych w 2024 roku. Bardzo wysokie błędy standardowe na wykresach wynikają z braku podziału roślin na grupy. Przyporządkowanie próbek do grup o niskiej, średniej i wysokiej zawartości kwasów walerenowych w 2024 roku z pewnością zmniejszy zróżnicowanie ekspresji poszczególnych genów w obrębie każdej grupy, zmniejszając tym samym błąd standardowy.



Ryc. 2. Wstępny profil ekspresji genów syntezy kwasu walerenowego w korzeniach siewek bez podziału na grupy roślin o różnej zawartości kwasu walerenowego. Liczebność wynosiła ok. 100 roślin (n = 100). Słupki błędów przedstawiają błąd standardowy.



Ryc. 3. Wstępny profil ekspresji genów syntezy kwasu walerenowego w liściach siewek bez podziału na grupy roślin o różnej zawartości kwasu walerenowego. Liczebność wynosiła ok. 100 roślin (n = 100). Słupki błędów przedstawiają błąd standardowy.

Mierniki dla tematu badawczego 1

Lp.	Miernik ¹	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Liczba powtórzeń technicznych reakcji qPCR	2	2
2	Liczba badanych genów	12	12
3	Liczba zastosowanych genów referencyjnych	2	2

¹ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

3.2 Temat badawczy 2

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

Celem tematu 2. było określenie warunków adaptacji *ex vitro* mikrosadzonek kozłka uzyskanych z zastosowaniem technik *in vitro* oraz porównanie rozwoju roślin uzyskanych z mikrorozmnażania i z rozsady w warunkach polowych.

Materiały i metody

Materiałem roślinnym do badań były mikrosadzonki trzech wyselekcjonowanych i rozmnażanych w kulturach *in vitro* klonów kozłka: I 41/2, III 16/1 i III 16/5. Klony te zostały rozmnożone w kulturze pędów pachwinowych w roku 2022. Uzyskane pędy ukorzeniono na pożywce ½ MS/B5 bez regulatorów wzrostu. W ramach badań prowadzonych w roku 2023 oceniono:

- a) efektywność aklimatyzacji *ex vitro* roślin uzyskanych z mikrorozmnażania;
- b) zróżnicowanie cech morfologiczno-rozwojowych roślin uzyskanych z mikrorozmnażania w porównaniu z roślinami z populacji ‘lubelski’ otrzymanymi z nasion;
- c) różnicowanie się wierzchołka wzrostu pędu w zależności od sposobu otrzymania roślin;
- d) zawartość związków biologicznie aktywnych w surowcu otrzymanym z roślin należących do badanych klonów i populacji ‘lubelski’.

Ad. a) Efektywność aklimatyzacji *ex vitro* roślin uzyskanych z mikrorozmnażania

Ukorzenione mikrosadzonki wyjęto z pożywki i usunięto resztki agar z korzeni. Następnie rośliny wysadzono do wielodoniczek (96 komorowe) wypełnionych podłożem ogrodniczym. Zastosowano dwa rodzaje podłoża. Ich składnikiem podstawowym był odkwaszony torf wysoki (pH=5,7) z dodatkiem 1,5 kg/m³ makroelementów i 125 g/m³ mikroelementów (MIS 4). Torf wymieszano z perlitem lub z piaskiem w stosunku 3:1. Sadzonki po posadzeniu podlano roztworem preparatu Previcur Energy 840 sl (Bayer) w koncentracji 3 mL/1 L. Ukorzenianie prowadzono w szklarni, w której zastosowano doświetlanie (lampy sodowe) i warunki termiczne zbliżone do tych, które stosowano do prowadzenia kultur *in vitro*. Sadzonki zabezpieczono przed nadmiernym parowaniem poprzez ich okrycie przezroczystą folią polipropylenową. Rośliny codziennie wietrzono i po tygodniu folię zdjęto. Po kolejnych czterech tygodniach przeprowadzono obserwacje sadzonek i określono % roślin zaaklimatyzowanych. Doświadczenie założono w 3 powtórzeniach, po 20 mikrosadzonek/klon kozłka każde. Wysadzenie mikrosadzonek przeprowadzono 27 stycznia 2023 roku. 10 dni wcześniej do podłoża torfowego z piaskiem wysiano nasiona populacji ‘Lubelski’ w celu uzyskania rozsady do badań porównawczych z roślinami rozmnożonymi *in vitro* (kontrola). Po 4 tygodniach siewki przepikowano. Mikrosadzonki trzech klonów i rozsada populacji ‘Lubelski’ zostały wysadzone na polu doświadczalnym KRWiL w Wilanowie.

Ad. b) Zróżnicowanie cech morfologiczno-rozwojowych roślin uzyskanych z mikrorozmnażania w porównaniu z roślinami populacji ‘Lubelski’ otrzymanymi z nasion.

Observacje roślin uzyskanych trzech klonów i populacji ‘Lubelski’ (uwzględnionej w niniejszych badaniach jako kontrola) przeprowadzono w dwóch terminach:

- 25 lipca – wkrótce po wysadzeniu do gruntu,
- 22 października – po wykopaniu roślin w celu uzyskania surowca.

W obu terminach obserwacjom poddawano po 5 roślin. Oceniono następujące cechy:

- świeżą masę roślin,
- świeżą masę organów surowcowych,
- długość pędów (mierzoną od podstawy pędu do końca najdłuższego liścia),
- długość korzeni,
- liczbę pędów/roślinę,
- liczbę korzeni przybyszowych/roślinę,
- grubość korzeni przybyszowych.

Ponadto opisano cechy morfologiczne liści:

- ząbkowanie brzegów blaszki liściowej (1 – płytkie, 2 – średnie, 3 – głębokie),
- szerokość odcinków pierzastosiecznych liści (1 – wąskie, 2 – średnio szerokie, 3 – szerokie).

Przy opisie cech liści posłużono się trzystopniowymi skalami opisowymi opracowanymi w trakcie wcześniejszych badań nad kozłkiem (sprawozdanie z roku 2021).

Ad. c) Różnicowanie się wierzchołka wzrostu pędu w zależności od sposobu rozmnażania

Pędy do badania rozwoju merystemów pobierano w dwóch terminach: 25 lipca i 22 października. W każdym terminie pobierano po 5 roślin z trzech klonów i z populacji. Z każdej rośliny pobierano pęd główny do mikroskopowych analiz stożków wzrostu. Obserwacje prowadzono na świeżo pobranym materiale roślinnym. Podczas usuwania liści z pędów określano ich aranżację na łodydze. Po wyizolowaniu stożka wzrostu określano jego morfologię i mierzono średnicę. Do badań wykorzystano mikroskop stereoskopowy oraz kamerę Invenio 3S i program Coolview v.1.4. (Precoptic).

Ad. d) Zawartość związków biologicznie aktywnych w surowcach badanych klonów i populacji ‘Lubelski’.

Kłacza z korzeniami roślin pochodzących z mikrorozmnażania i populacji ‘Lubelski’ wykopano 22.10.2023 roku. Bezpośrednio po zbiorze zostały one umyte, pokrojone i wysuszone w temperaturze 40°C w suszarni typu Leśniczanka. Następnie przeprowadzono analizy chemiczne uzyskanych surowców na zawartość kwasów walerenowych przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) oraz na zawartość olejków eterycznych metodą hydrodestylacji (wg Farmakopei Polskiej XI).

Opracowanie wyników

Do statystycznego opracowania wyników dotyczących efektywności aklimatyzacji roślin oraz zróżnicowania cech opisywanych w doświadczeniu polowym wykorzystano metodę analizy wariancji. Szczegółowe porównanie średnich przeprowadzono przy użyciu testu Tucke’ya na poziomie istotności $\alpha=0,05$.

Wyniki

a) Efektywność aklimatyzacji *ex vitro* roślin uzyskanych z mikrorozmnażania

Po upływie 4 tygodni od wysadzenia roślin uzyskanych z mikrorozmnażania stwierdzono, że mikrosadzonki kozłka lekarskiego bardzo dobrze przystosowywały się do warunków glebowych niezależnie od zastosowanego podłoża i adaptowały się w blisko 100% (tab. 1). Nie stwierdzono także różnic pomiędzy sadzonkami poszczególnych klonów. W czwartym miesiącu od wysadzenia wszystkie rośliny miały dobrze wykształcone rozety liściowe i systemy korzeniowe, podobnie jak rozsada populacji 'Lubelski' (fot. 1-6).

Tabela 1. Efektywność aklimatyzacji *ex vitro* mikrosadzonek trzech klonów kozłka w zależności od podłoża

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	-

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



Fot. 1. Rozsada populacji 'Lubelski'



Fot. 2. Sadzonki trzech klonów rosnące w torfie z dodatkiem piasku



Fot. 3. Rozsada populacji 'Lubelski'



Fot. 4. Sadzonki klonu I 42/2



Fot. 5. Sadzonki klonu III 16/1



Fot. 6. Sadzonki klonu III 16/5

b) Zróznicowanie cech morfologiczno-rozwojowych roślin uzyskanych z mikrorozmnażania w porównaniu z roślinami z populacji ‘Lubelski’ otrzymanymi z nasion

Tabela 2. Cechy morfologiczne roślin trzech klonów kozłka rozmnożonych *in vitro* i populacji ‘Lubelski’

Klon/ populacja kozłka	Świeża masa (g)		Długość (cm)		Liczba		Grubość korzenia (mm)
	Cała roślina	Kłącze z korzeniami	Pędu	Korzeni	Pędów/ roślinę	Korzeni /roślinę	
I termin obserwacji (25.07.2023)							
‘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
II termin obserwacji (22.10.2023)							
‘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

Wartości oznaczone takimi samymi literami w kolumnach nie różnią się na poziomie istotności $\alpha=0,05$ wg testu Tucke’ya

Młode rośliny kozłka, zarówno otrzymane w wyniku mikrorozmnażania, jak i z nasion, analizowane w terminie lipcowym miały wytworzone rozety liściowe składające się przeważnie z jednego skróconego pędu (fot. 7-10). Jedynie w przypadku niektórych roślin klonu I 42/2 obserwowano tworzenie się dodatkowych młodych pędów. Wszystkie rośliny miały też wytworzone niewielkie kłącza z korzeniami przybyszowymi o grubości przekraczającej 2 mm. Świeża masa całych roślin była podobna niezależnie od tego, czy otrzymano je *in vitro*, czy z nasion (tab. 1). Badane rośliny różniły natomiast pod względem długości pędów i korzeni. Najdłuższymi pędami charakteryzowały się rośliny klonu III 16/5. Rośliny pozostałych klonów i populacji ‘Lubelski’ miały pędy o zbliżonej długości. Najwięcej korzeni przybyszowych wytworzyły rośliny klonu I 42/2, najdłuższe korzenie

miały rośliny klonu III 16/1, natomiast najgrubsze korzenie stwierdzono u roślin z populacji 'Lubelski'.



Fot. 7. Rośliny populacji 'Lubelski' (25.07.2023)



Fot. 8. Rośliny klonu I 42/2 (25.07.2023)



Fot. 9. Rośliny klonu III 16/1 (25.07.2023)



Fot. 10. Rośliny klonu III 16/5 (25.07.2023)

Po trzech miesiącach rozwoju badanych roślin na polu doświadczalnym stwierdzono znaczny wzrost świeżej masy całych roślin oraz ich organów surowcowych. Zarysowały się także różnice pomiędzy obiektami doświadczalnymi. Pod względem wielkości świeżej masy wyróżniał się klon I 42/2. Rośliny pozostałych klonów charakteryzowały się masą zbliżoną do roślin z populacji 'Lubelski'. Na tym etapie rozwoju dobrze rozwinięte części nadziemne wszystkich badanych roślin, niezależnie od sposobu ich otrzymania składały się z 3-4 pędów o zbliżonej długości (fot.11,13,15 i 17). Wszystkie rośliny wytworzyły też zwarte kuliste lub walcowate kłaczka z grubymi korzeniami przybyszowymi (fot. 12, 14, 16 i 18). Długość korzeni wytworzonych przez rośliny z trzech klonów była podobna, a najkrótsze korzenie wytworzyły rośliny z populacji 'Lubelski'. Znaczne różnice zaobserwowano w przypadku liczby wytworzonych korzeni. Wyróżniały się pod względem tej cechy rośliny z klonu I 42/2. Rośliny z populacji 'Lubelski' wytworzyły mniej korzeni przybyszowych niż należące do klonów z *in vitro*. Korzenie miały ok. 3 mm grubości i żaden z obiektów doświadczalnych nie wyróżniał się pod względem tej cechy.



Fot. 11. Rośliny populacji 'Lubelski' (22.10.2023)



Fot. 12. Przekroje kłaczy roślin z populacji 'Lubelski' (22.10.2023)



Fot. 13. Rośliny klonu I 42/2 (22.10.2023)



Fot. 14. Przekroje kłaczy roślin klonu I 42/2 (22.10.2023)



Fot. 15. Rośliny klonu III 16/1 (22.10.2023)



Fot. 16. Przekroje kłaczy roślin klonu III 16/1 (22.10.2023)



Fot.17. Rośliny klonu III 16/5 (22.10.2023)



Fot. 18. Przekroje kłaczy roślin klonu III 16/5 (22.10.2023)

Liście większości młodych roślin kozłka opisywanych w lipcu charakteryzowały się płytkim ząbkowaniem brzegu blaszki liściowej (tab. 3). W przypadku sadzonek klonu I 42/2 wszystkie obserwowane liście były całobrzegie, natomiast w obrębie populacji ‘Lubelski’ stwierdzono większe zróżnicowanie tej cechy – obecność roślin o liściach z płytkim i średnio głębokim ząbkowaniem. W tym samym terminie sadzonki z mikrorozmnażania wszystkich klonów miały odcinki liści średnio szerokie, a w obrębie populacji średnio szerokie lub szerokie. W miarę rozwoju roślin uwiadczyły się cechy charakterystyczne liści. W końcu października zaobserwowano, że liście wszystkich roślin klonu I 42/ 2 były szerokie o średnio głębokich ząbkach, klonu III 16/1 średnio szerokie o średnio głębokich ząbkach, klonu III 16/5 również średnio szerokie o ząbkach płytkich do średnio głębokich. W obrębie populacji ‘Lubelski’ liście roślin były szerokie lub średnio szerokie o ząbkowaniu brzegów od płytkiego do głębokiego w zależności od analizowanej rośliny.

Tabela 3. Zróżnicowanie morfologii liści

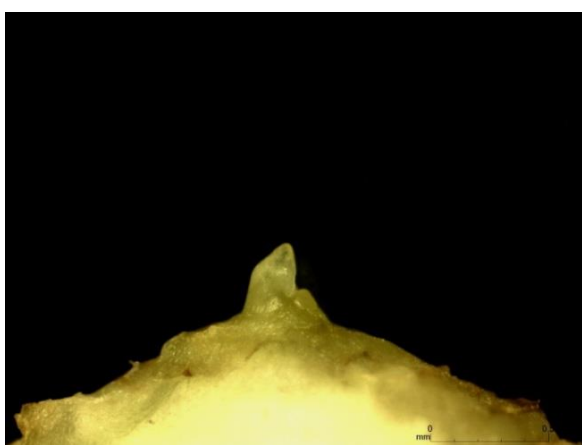
Klon/ populacja kozłka	cechy morfologiczne liści (skala 1-3)	
	ząbkowanie brzegu blaszki liściowej	szerokość odcinków liścia
I termin obserwacji 25.07.2023		
‘Lubelski’	1, 2	2, 3
I 42/2	brak ząbkowania	2
III 16/1	1	2
III 16/5	1	2
II termin obserwacji 22.10.2023		
‘Lubelski’	1, 2, 3	1,2, 3
I 42/2	2	3
III 16/1	2	2
III 16/5	1, 2	2

c) Różnicowanie się wierzchołka wzrostu pędu w zależności od sposobu otrzymania roślin

W badaniach nad rozwojem pędów roślin pochodzących z mikrosadzonek i rozsady analizowano aranżację liści na łodydze, gdyż na podstawie obserwacji przeprowadzonych w roku ubiegłym stwierdzono, że pierwszym widocznym objawem wchodzenia roślin w fazę generatywną jest zmiana ulistnienia naprzemianległego w okółkowe. Okółkowa aranżacja liści jest charakterystyczna dla pędu kwiatostanowego kozłka. W jednym węzle najczęściej

występują 2 liście ułożone naprzeciwległe, rzadziej 3. Liście górne są mniejsze od wieloodcinkowych nieparzystopierzastosciennych liści tworzących rozetę i mają charakter podsadek pod bocznymi rozgałęzieniami złożonego pędu kwiatostanowego.

Analizując pędy pobrane w końcu lipca (25.07.2023) stwierdzono, że liście w rozecie liściowej młodych roślin kozłka, zarówno rozmnożonych wegetatywnie *in vitro*, jak i generatywnie, miały ulistnienie naprzemianległe – z każdego węzła silnie skróconej łodygi wyrastał jeden liść. Usuwając kolejno liście z pędów zauważono, że aranżacja liści na łodydze większości badanych roślin nie ulegała zmianie aż do wierzchołka wzrostu pędu. Najczęściej obserwowano w tym terminie merystem pędu osłonięty jednym najmłodszym zawiązkami liścia (fot. 19 i 20). Taki obraz zaobserwowano w przypadku wszystkich pięciu badanych roślin z populacji ‘Lubelski’ i większości roślin należących do trzech klonów. Jednak w przypadku kilku roślin należących do klonów kozłka stwierdzono zmianę ułożenia najmłodszych zawiązków liści z naprzemianległego na okółkowe (fot. 21 i 22). Otaczały one merystem o średnicy nie przekraczającej 0,1 mm. Taki obraz zaobserwowano u dwóch roślin z klonu I 42/2, jednej z III 16/1 i dwóch z III 16/5.



Fot. 19. Merystem wierzchołkowy pędu rośliny populacji ‘Lubelski’, naprzemianległa aranżacja zawiązków liści (25.07.23)



Fot. 20. Merystem wierzchołkowy pędu rośliny klonu III 16/1, naprzemianległa aranżacja zawiązków liści (25.07.23)



Fot. 21. Merystem wierzchołkowy pędu rośliny klonu III 16/5, okółkowa aranżacja zawiązków liści (25.07.23)



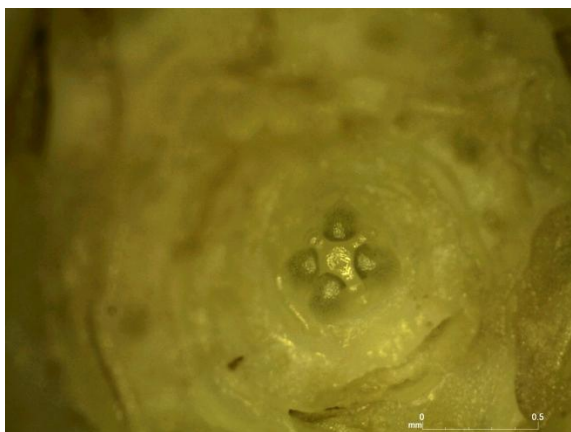
Fot. 22. Merystem wierzchołkowy pędu rośliny klonu III 16/1, okółkowa aranżacja zawiązków liści (25.07.23)

W drugim terminie obserwacji (22.10.2023) stwierdzono, że u wszystkich badanych roślin, niezależnie od sposobu ich rozmnażania, występowało ulistnienie okółkowe. Merystemy wierzchołkowe pędu miały przeważnie kształt spłaszczonych wzgórków, często z lekkim zagłębieniem w części centralnej. Otaczały je ułożone okółkowo zawiązki liści (fot. 23-26). Stwierdzono zmienność pod względem liczby liści w węzle. U roślin z populacji ‘Lubelski’

najczęściej występowały po 2 liście w okółku, natomiast w przypadku roślin z klonów częściej występowały 3 liście, a u jednej rośliny z klonu III 16/1 zaobserwowano nawet 4 (fot. 23). Średnice merystemów wierzchołkowych pędu były w tym terminie większe niż w przypadku merystemów wyizolowanych z pędów w terminie lipcowym i osiągały 0,1-0,25 mm (tab. 4). W przypadku większych merystemów o średnicach zbliżonych do 0,25 mm obserwowano formowanie wierzchołków rozgałęzień pierwszego rzędu poniżej merystemu osi głównej kwiatostanu (fot. 25 i 26). Taki obraz zaobserwowano u jednej z roślin klonu I 42/2 i jednej z populacji ‘Lubelski’.

Tabela 4. Średnica merystemów pędu roślin analizowanych 22.10.2023

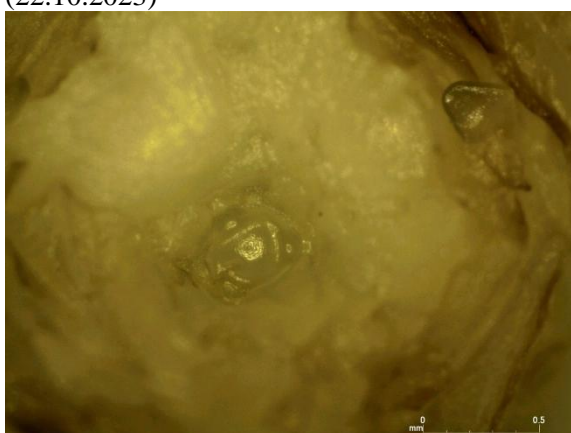
Klon/ populacja kozłka	Liczba roślin analizowanych	Średnica merystemu kwiatostanowego (mm)	
		Średnia	Zakres zmienności
Lubelski	5	0,18	0,13-0,24
I 42/2	5	0,21	0,16-0,25
III 16/1	5	0,15	0,10-0,18
III 16/5	5	0,21	0,20-0,23



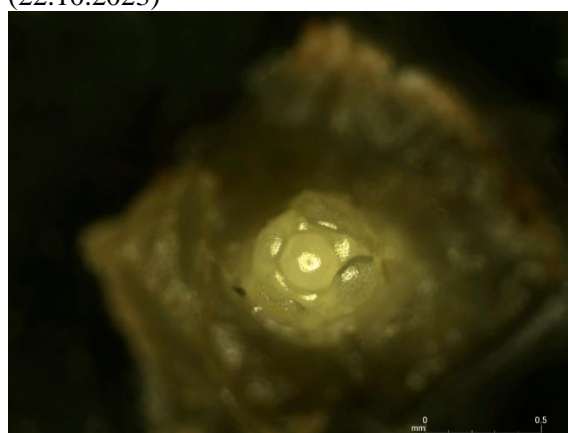
Fot. 23. Merystem pędu rośliny klonu III 16/1 z czterema zawiązkami liściowymi w okółku (22.10.2023)



Fot. 24. Merystem pędu rośliny klonu III 16/5 z dwoma zawiązkami liściowymi w okółku (22.10.2023)



Fot. 25. Merystem pędu rośliny populacji ‘Lubelski’. Widoczny wierzchołek osi głównej kwiatostanu i poniżej 3 wierzchołki rozgałęzień I rzędu (22.10.2023)



Fot. 26. Merystem pędu rośliny klonu I 42/2. Widoczny wierzchołek osi głównej kwiatostanu i poniżej 2 wierzchołki rozgałęzień I rzędu (22.10.2023)

d) Zawartość związków biologicznie aktywnych w surowcach otrzymanych z roślin badanych klonów i populacji ‘Lubelski’.

Zawartość związków biologicznie aktywnych, tj. kwasów walerenowych (seskwiterpenowych) i olejków eterycznych była wyraźnie zróżnicowana u badanych form kozłka. Obecność kwasu hydroksywalerenowego stwierdzono jedynie w organach podziemnych klonu III16/1. Wyróżniał się on także wysoką zawartością kwasu acetoksywalerenowego (0,34%). Wysoką zawartością kwasów walerenowych charakteryzował się także klon I 42/2, u którego dominował jednak kwas walerenowy (0,39%). Jest to o tyle ciekawe, iż to właśnie ten związek uznaje się obecnie za odpowiedzialny za właściwości nasenne i uspokajające kozłka. Klon ten wyróżniał się także wysoką zawartością olejku eterycznego (6,78 mL/1 kg. s.m. surowca). W porównaniu z badanymi klonami, najniższą zawartość zarówno kwasów jak i olejków eterycznych stwierdzono w korzeniach odmiany ‘Lubelski’, uprawianej w niniejszym doświadczeniu z rozsady (kontrola) (tab. 5).

Tabela. 5. Zawartość kwasów walerenowych oraz olejku eterycznego w organach podziemnych badanych roślin.

Klon/ populacja kozłka	Kwasy seskwiterpenowe (%)			Suma kwasów seskwiterpenowych (%)	Olejek eteryczny (mL/1kg s.m.)
	HVA	AVA	VA		
Lubelski	0,00	0,08	0,16	0,24	2,35
I 42/2	0,00	0,17	0,39	0,56	6,78
III 16/1	0,01	0,34	0,20	0,55	5,80
III 16/5	0,00	0,19	0,24	0,43	5,03

HVA – kwas hydroksywalerenowy, AVA – kwas acetoksywalerenowy, VA- kwas walerenowy

Mierniki dla tematu badawczego 2

Lp.	miernik ²	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Liczba badanych genotypów	3	4
2	Rodzaje podłoży do aklimatyzacji <i>ex vitro</i> mikrosadzonek	2	2
3	Liczba powtórzeń w doświadczeniach	3	3
4	Liczba terminów obserwacji polowych	2	2

² Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

3.3. Temat badawczy 3

Określenie zakresu zróżnicowania kozłka lekarskiego w fazie rozwoju generatywnego

Cel tematu badawczego

Celem badań było określenie zakresu zmienności populacji uprawnej kozłka lekarskiego 'Lubelski' w fazie rozwoju generatywnego.

W 2023r. badano wpływ zagęszczenia roślin w uprawie polowej na budowę pędów kwiatostanowych oraz jakość uzyskanych nasion.

Materiały i metody

W związku ze specyfiką rozwoju kozłka (plantacje nasienne prowadzone są w systemie 2-letnim; nasiona zbierane są w drugim roku uprawy) doświadczenie polowe założono w 2022r. Rostada kozłka przygotowana została w Obieckie Szklarniowym SGGW i wysadzona na polu doświadczalnym KRWiL w Wilanowie w maju 2022 roku. Rośliny wysadzono na 3 poletkach po 75 szt. Na poletkach zróżnicowano gęstość ich sadzenia. Zastosowano następujące rozstawy (3), tj.: 50 x 50 cm; 50 x 25 cm; 25 x 25 cm. Oceniono zakres zróżnicowania roślin w fazie rozwoju generatywnego z uwzględnieniem gęstości ich sadzenia. Obserwacje prowadzone były sukcesywnie na 27 losowo wybranych roślinach dla każdego wariantu doświadczenia (rozstawy) pod kątem liczby pędów generatywnych (szt./roślinę) i ich architektury. U części roślin rosnących w zróżnicowanej rozstawie pozostawiano 4 pędy generatywne (pozostałe wycinano); wyniki uzyskane dla tych roślin stanowiły punkt odniesienia do analizy danych (kontrola). Na początku tworzenia pędów kwiatostanowych opatrzone je tyczkami bambusowymi ze względu na ich dużą masę (szybko rosnące pędy łatwo wyłamują się pod wpływem wiatru). Z kolei na początku dojrzewania nasion, nasienniki zostały osłonięte workami uszitymi z cienkiej włókniny, w celu zabezpieczenia przed ich osypywaniem (nasiona dojrzewają nierównomiernie). W połowie lipca 2023r. nasienniki ścięto i przechowywano podwieszane do sznurów przytwierdzonych do ścian w pomieszczeniach przez dwa tygodnie, po czym nasiona zostały oddzielone i oczyszczone. Określono masę nasion z rośliny oraz ich wartość siewną, tj. masę 1000 nasion, zdolność kiełkowania i dynamikę kiełkowania (energię kiełkowania).

Wartość siewna nasion została oceniona również w odniesieniu do nasion różnej wielkości (3 frakcje nasion różnej wielkości: duże, średnie, małe). Ocena wartości siewnej nasion została przeprowadzona zgodnie z przepisami ISTA.

Doświadczenie nasienne



czerwiec 2022r.



maj 2023r.



rozstawa 50 x 50 cm



rozstawa 50 x 25 cm



rozstawa 25 x 25 cm



koniec czerwca 2023r.

Wyniki

Nasienniki kozłka są naturalnie bardzo rozbudowane. Składają się najczęściej z kilku wyrastających z kłacza pędów kwiatostanowych, stanowiących oś główną, i bardzo licznych bocznych rozgałęzień o charakterze wierzchołek. Przy takiej architekturze na roślinie wykształca się do kilkunastu tysięcy kwiatów i zawiązanych z nich nasion. Nasiona z takich roślin dojrzewają w różnym czasie, są różnej wielkości, a ich kiełkowanie jest bardzo zróżnicowane.

Podjęte w tym zadaniu badania miały na celu wstępne określenie wpływu zagęszczenia roślin i pędów nasiennych na jednostce powierzchni pola na masę nasion i ich jakość. Zagęszczenie to zróżnicowano rozstawą i częściowym usuwaniem pędów z roślin. Pozwoliło to w konsekwencji na zróżnicowanie architektury nasienników.

Ogólna masa nasion z rośliny malała w miarę zagęszczenia pędów nasiennych na m² i była najwyższa przy rozstawie roślin 50 x 50 cm, a najniższa przy rozstawie 25 x 25 cm. Była ona wyraźnie niższa kiedy na roślinie pozostawiano tylko 4 pędy. Masa 1000 nasion był najwyższa u roślin rosnących przy największej rozstawie. Bardzo duży wpływ na tą cechę miało zagęszczenie pędów na m². Masa ta była najwyższa przy najmniejszym zagęszczeniu, a mianowicie, w wariancie rozstawy 50 x 50 cm i przy 4 pędach pozostawionych na roślinie. Podobnie kształtowała się energia i zdolność kiełkowania nasion (tab. 1).

Wskaźnikiem wartości siewnej nasion jest również ich wielkość. Najwięcej nasion „dużych” było także przy największej rozstawie roślin i najmniejszej liczbie pędów na jednostce powierzchni (tab. 1). Nasiona „duże” w porównaniu z małymi i średnimi charakteryzowały się wyższą zarówno masą jednostkową jak i kiełkowaniem nasion (tab. 2).

Terminy wchodzenia roślin w poszczególne fazy rozwoju generatywnego w doświadczeniu polowym:

1 faza pąków kwiatostanowych – 04/05/2023

2 początek kwitnienia – 16/05/2023

3 początek zawiązywania nasion – 09/06/2023

4 faza nasion dojrzałych (termin zbioru) – 10/07/2023

Tabla 1. Wpływ zagęszczenia roślin na budowę pędów kwiatostanowych oraz na jakość uzyskanych nasion.

Badane parametry	Rozstawa roślin					
	50×50 cm		50×25 cm		25×25 cm	
	K*	4 pędy	K*	4 pędy	K*	4 pędy
liczba pędów (szt./roślinę)	13,2	4	12,1	4	8,2	4
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 wierzchołków I rzędu na pędzie (szt./pęd)	10,7	12,2	9,6	12,6	12,5	11,0
grubość pędu (cm)	1,4	1,7	1,5	1,5	1,4	1,4
masa nasion z rośliny (g)	33,6	25,43	22,23	17,43	18,54	11,32
masa nasion z 1 pędu (g)	2,55cd	6,36a	1,84d	4,36b	2,26cd	2,83c
masa 1000 nasion (g)	0,7683	0,8128	0,7345	0,7593	0,7153	0,7445
zdolność kiełkowania (%)	85,50ab	91,50a	82,75b	84,50ab	74,25c	75,25c
energia kiełkowania (%; liczona po 7 dniach testu)	78,75ab	84,25a	74,00b	80,00ab	61,50c	61,75c
wilgotność nasion (%)	8,72	8,94	8,74	8,76	8,76	8,75
Udział procentowy w ogólnej masie nasion, nasion:						
małych	50,07	37,88	55,35	48,53	64,68	50,60
średnich	40,78	50,16	41,11	45,13	29,74	42,33
dużych	9,53	12,28	4,38	7,01	5,97	7,65

K*rośliny u których pozostawiano wszystkie wyrosnięte pędy kwiatostanowe

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

Tabla 2. Wpływ wielkości nasion na ich jakość.

Wielkość nasion	Masa 1000 nasion (g)	Zdolność kiełkowania (%)	Energia kiełkowania (%; liczona po 7 dniach testu)
małe	0,5423c	76,88b	66,00b
średnie	0,8080b	89,75ab	78,38a
duże	1,0369a	92,13a	82,13a

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

Mierniki dla tematu badawczego 3

Lp.	miernik ³	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Liczba wariantów doświadczenia (rozstawa roślin)	3	3
2	Liczba roślin które poddane zostaną obserwacjom (3 rozstawy x 27 roślin)	81	81
3	Liczba prób nasion do oceny wartości siewnej	9	9

³ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

3.4 Temat badawczy 4

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

Cel tematu badawczego

Celem badań było określenie wpływu terminu zakładania plantacji na tworzenie się pośpiechów oraz na masę i jakość korzeni kozłka (kontynuacja prac rozpoczętych w 2022r.).

Materiały i metody

Materiałem badawczym były rośliny z populacji uprawnej 'Lubelski' otrzymane w roku 2022 z zastosowaniem trzech terminów wysiewu nasion:

- I termin – 21.03.22,
- II termin – 16.05.22,
- III termin – 18.07.22.

W roku bieżącym skupiono się na określeniu wpływu terminu wysiewu nasion populacji 'Lubelski' na:

- a) różnicowanie się merystemu wierzchołka pędu roślin;
- b) pośpiechowość;
- c) jakość surowca.

Ponadto w ramach badań nad pośpiechowością kozłka założono doświadczenie dotyczące oceny wpływu terminu usuwania pośpiechów na masę organów podziemnych i gromadzenie się w nich substancji aktywnych.

a) Wpływ terminu wysiewu nasion na różnicowanie się merystemu wierzchołka pędu

Observacje merystemów wierzchołków pędów badanych roślin przeprowadzono wczesną wiosną w dwóch terminach:

- 22.03.23,
- 20.04.23.

W każdym z terminów opisano fazę rozwojową roślin. W terminie kwietniowym, gdy rozpoczęło się wydłużanie pędów kwiatostanowych określono ponadto:

- liczbę pędów generatywnych/roślinę,
- długość pędów,
- liczbę liści/pęd.

W obu terminach obserwacji analizowano pędy trzech roślin pochodzących z trzech terminów siewu. Z każdej z roślin pobierano pęd główny (zlokalizowany centralnie na kłacu i najgrubszy). Obserwacje prowadzono na świeżym materiale roślinnym. Usuwano kolejno liście i zawiązki liści w celu wyizolowania merystemu. Określano ułożenie liści na łodydze i morfologię merystemu.

Do prowadzenia szczegółowych obserwacji morfologii stożków wzrostu pędów i wykonania dokumentacji fotograficznej wykorzystano mikroskop stereoskopowy oraz kamerę Invenio 3S i program Coolview v.1.4. (Precoptic).

b) Wpływ terminu wysiewu nasion na pośpiechowość roślin

Pędy kwiatostanowe (pośpiechy) badanych roślin usunięto 1 czerwca 2023 roku. Bezpośrednio przed usunięciem pędów określono:

- % roślin, które osiągnęły fazę generatywną,
- liczbę pędów generatywnych/roślinę,
- długość pędu,
- fazę rozwojową kwiatostanów.

Pędy kwiatostanowe usunięto na wysokości 25-30 cm nad poziomem gleby, tak aby pozostawić na pędzie 2-3 węzły z zielonymi liśćmi umożliwiającymi asymilację. Po dwóch tygodniach przeprowadzono pierwszą obserwację odrastania pędów (pośpiechów). Kolejne dwie obserwacje przeprowadzono w ok. 10 dniowych odstępach. Każdorazowo obserwacje prowadzono na 6 tych samych roślinach pochodzących z każdego terminu wysiewu nasion. Podczas obserwacji określano:

- liczbę odrastających pędów/roślinę,
- długość odrastających pędów.

Po zakończeniu obserwacji 5 lipca odrosty ścięto i część nadziemną roślin pozostawiono bez ingerencji do momentu zbioru surowca (22.10.2023r.).

c) Wpływ terminu wysiewu nasion na masę i jakość uzyskanego surowca

Surowiec z badanych roślin po wykopaniu umyto, pokrojono i wysuszono w temperaturze 40°C, w suszarni typu leśniczanka. Określono masę korzeni i oceniono w nich zawartość kwasów walerenowych (HPLC) oraz olejku eterycznego.

Założenie doświadczenia dotyczącego oceny wpływu terminu usuwania pośpiechów na masę organów podziemnych i gromadzenie się w nich związków biologicznie aktywnych.

Materiałem roślinnym do założenia doświadczenia były sadzonki uzyskane z mikrorozmnażania klonu III 16/5. Ukorzenione na pożywce ½ MS/B5 bez regulatorów wzrostu mikrosadzonki, wysadzono do podłoża torfowego z dodatkiem piasku (3:1) i aklimatyzowano w szklarni. Przez tydzień rośliny przebywały pod okryciem z przezroczystej folii. Następnie okrycie zdjęto. Dobrze rozwinięte sadzonki wysadzono w pole 15.06.23 r. Doświadczenie założono na polu doświadczalnym KRWiL w Wilanowie. Ze względu na charakter rozwoju roślin szczegółowe badania zostaną przeprowadzone w roku 2024.

Wyniki

a) Wpływ terminu wysiewu nasion na różnicowanie się merystemu wierzchołka pędu

W pierwszym terminie pobierania pędów, w celu oceny stopnia zróżnicowania merystematów wierzchołkowych, rośliny znajdowały się na początku wegetacji. Ich część nadziemna składała się z silnie skróconych rozetkowych pędów o liściach jeszcze nie w pełni rozwiniętych (fot. 1A, 2A, 3A). W przypadku roślin pochodzących z I i II terminu wysiewu nasion, stwierdzono, że wszystkie rośliny wytworzyły po kilka pędów. Rośliny otrzymane z III terminu wysiewu miały po jednym pędzie nadziemnym. Po upływie miesiąca (drugi termin pobierania pędów) stwierdzono, że pędy kwiatostanowe zaczęły się wydłużać (fot. 1B, 2B i 3B). Rośliny otrzymane z I terminu wysiewu nasion charakteryzowały się najwyższą liczbą pędów/roślinę (tab. 1). Nie wszystkie rośliny z III terminu wysiewu wytworzyły wydłużone pędy generatywne. Część z nich pozostawała w fazie rozety liściowej. Rośliny pochodzące z I i II terminu wysiewu były zbliżone pod względem długości pędów i liczby liści na pędzie. Rośliny z III terminu miały najniższe wartości tych cech.



A. 22.03.23



B. 20.04.2023

Fot. 1. Rośliny z I terminu wysiewu (21.03.22r.) w dwóch terminach obserwacji



A. 22.03.2023



B. 20.04.2023

Fot. 2. Rośliny z II terminu wysiewu (16.05.22) w dwóch terminach obserwacji



A. 22.03.2023

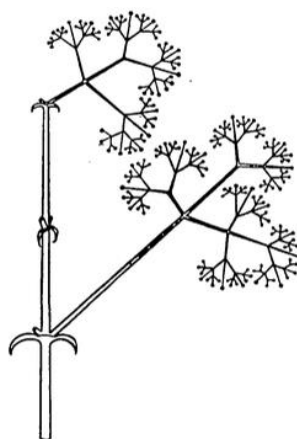


B. 20.04.2023

Fot. 3. Rośliny z III terminu wysiewu (18. 07. 22) w dwóch terminach obserwacji, na początku drugiego roku wegetacji

Tabela 1. Zróżnicowanie roślin pochodzących z trzech terminów siewu pod względem liczby pędów i liści oraz długości pędów (20.04.2023r.)

Termin siewu	Liczba pędów generatywnych/roślinę	Liczba liści/pęd	Długość pędu (cm)
I (21.03.22)	17,3 a	8,7 a	31,2 a
II (16.05.22)	9,7 b	7,5 a	29,6 ab
II (18.07.22)	0,7 c	4,6 b	20 b



Fot. 4. W pełni rozwinięte kwiatostany rośliny populacji 'Lubelski'. Widoczna oś główna kwiatostanu i boczne rozgałęzienia I i II rzędu (wierzchołki).

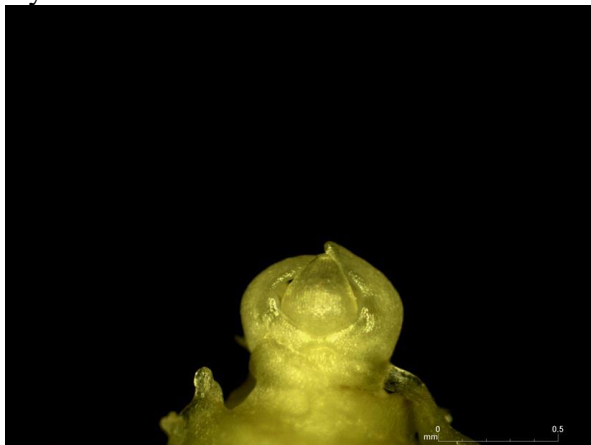
Kozłek lekarski charakteryzuje się złożonym wielokwiatowym kwiatostanem określanym jako tyrs (bukiet). Jest to kwiatostan pośredni pomiędzy kwiatostanem wiechowatym a wierzchołkowym (wiecha wierzchołkowa). Jego oś główna ma charakter grona a osie boczne ułożone okółkowo na pędzie głównym są wierzchołkami (fot. 4).

Podczas obserwacji merystemów pędowych roślin kozłki pochodzących z różnych terminów wysiewu nasion prowadzonych w październiku roku 2022 stwierdzono, że niektóre rośliny z I i II terminu wysiewu miały merystemy w kształcie spłaszczonego wzgórka otoczonego okółkowo ułożonymi zawiązkami liści. Ułożenie liści w okółkach po 2, lub rzadziej 3 w węzle jest charakterystyczne dla pędu generatywnego tego gatunku. Obserwacje te świadczyły zatem o rozpoczęciu przez badane rośliny formowania pędu kwiatostanowego.

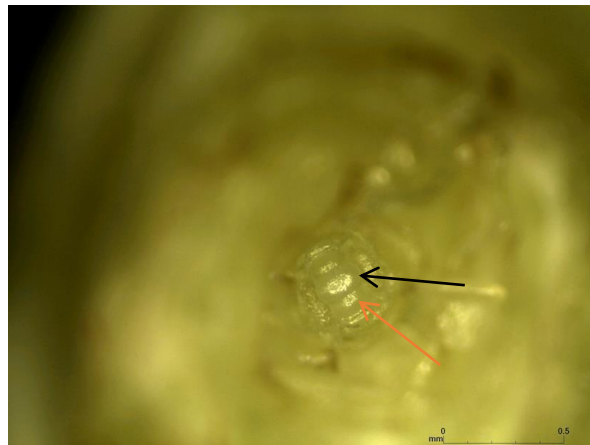
Podczas badań przeprowadzonych w marcu i kwietniu bieżącego roku zaobserwowano dalsze etapy rozwoju kwiatostanu kozłki. Formowanie kwiatostanów zaobserwowano u wszystkich badanych roślin niezależnie od tego, z którego terminu wysiewu pochodziły.

Merystemy kwiatostanowe wyizolowane z rozetkowych pędów pobranych z roślin 22 marca miały kopulasty kształt i okryte były ułożonymi okółkowo zawiązkami liści (podsadek) (fot. 5 i 8). Średnice merystemów w tym terminie kształtowały się poniżej 1 mm. Po usunięciu zawiązków liści u wszystkich badanych roślin obserwowano różnicujące się merystemy (fot. 6, 7, 8 i 10). W części centralnej różnicującego się merystemu kwiatostanowego można było wyróżnić wierzchołek osi głównej kwiatostanu dający początek wierzchołkom osi bocznych (rozgałęzień I rzędu) i kolejnym podsadkom kwiatostanowym (fot. 6). W przypadku bardziej zaawansowanych w rozwoju merystemów obserwowano różnicowanie się wierzchołków rozgałęzień II rzędu z merystemów rozgałęzień I rzędu (fot. 7 i 8). Nie stwierdzono zasadniczych różnic pod względem stopnia zaawansowania rozwojowego merystemów kwiatostanowych w zależności od terminu wysiewu nasion, z którego pochodziły badane rośliny. Występowały natomiast pewne różnice pomiędzy roślinami w tym samym wieku. Najmniej zróżnicowany merystem znaleziono u jednej z roślin otrzymanych z najwcześniejszego terminu siewu. Merystemy kwiatostanowe będące na etapie różnicowania

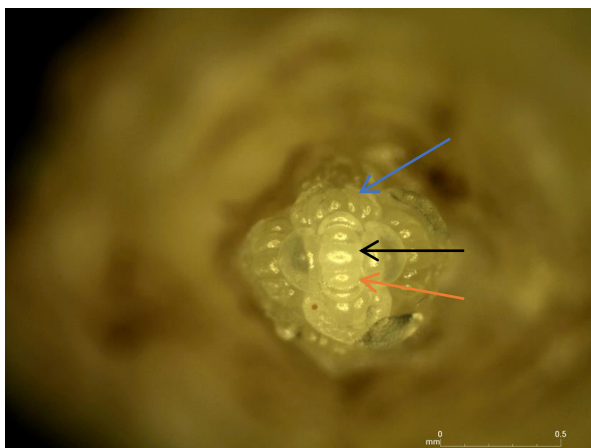
się rozgałęzień II rzędu zaobserwowano u roślin pochodzących ze wszystkich terminów wysiewu nasion.



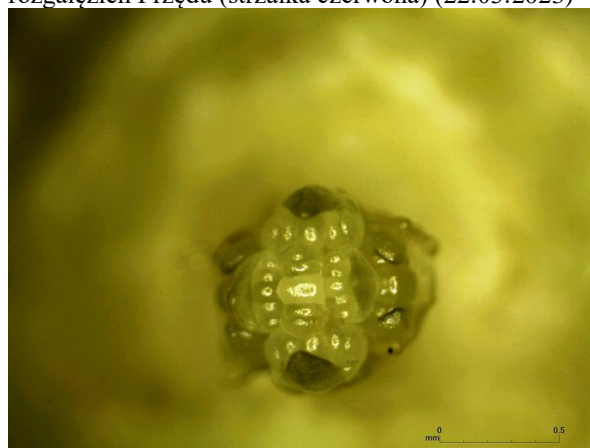
Fot. 5. Merystem wierzchołkowy pędu rośliny z I terminu wysiewu nasion okryty zawiązkami liści w układzie okółkowym (22.03.2023)



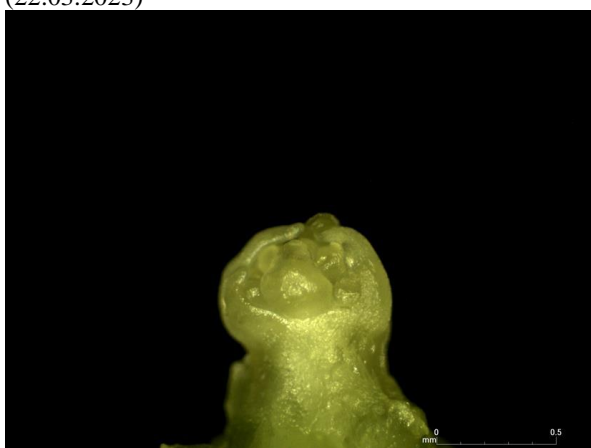
Fot. 6. Merystem przedstawiony na fot. 5. Po usunięciu zawiązków liści jest widoczny wierzchołek osi głównej kwiatostanu (strzałka czarna) i wierzchołki rozgałęzień I rzędu (strzałka czerwona) (22.03.2023)



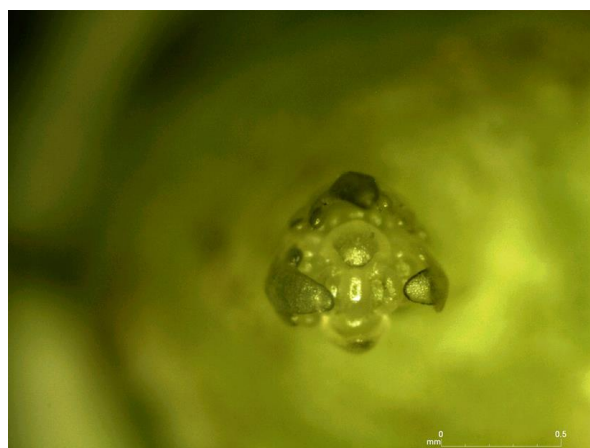
Fot. 7. Merystem wierzchołkowy pędu rośliny z II terminu siewu. Widoczny wierzchołek osi głównej kwiatostanu (strzałka czarna) i wierzchołki rozgałęzień I (strzałka czerwona) i II rzędu (strzałka niebieska) (22.03.2023)



Fot. 8. Merystem wierzchołkowy pędu rośliny z II terminu siewu. Stopień zaawansowania rozwoju merystemu podobny do przedstawionego na fot. 7. (22.03.2023)



Fot. 9. Merystem wierzchołkowy pędu rośliny z III terminu wysiewu okryty zawiązkami liści w układzie okółkowym (22.03.2023)



Fot. 10. Merystem przedstawiony na fot. 9. po usunięciu zawiązków liści - widoczny wierzchołek osi głównej kwiatostanu i wierzchołki rozgałęzień I i II rzędu (22.03.2023)

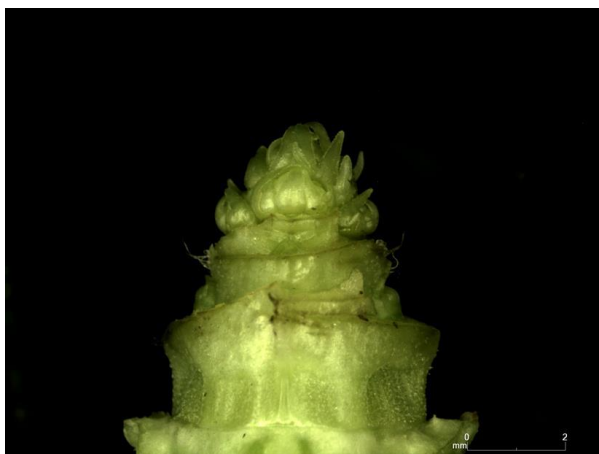
Pędy, z których izolowano merystemy w kwietniu charakteryzowały się wydłużoną łodygą i okółkowym ulistnieniem. Po usunięciu liści okrywających wierzchołki pędów obserwowano młode kwiatostany z wytworzonymi już kilkoma (4-6) okółkami rozgałęzień I rzędu, z których wyrastały rozgałęzienia II rzędu (fot 10, 12 i 14). Jednocześnie w części centralnej wierzchołka pędu znajdował się w dalszym ciągu merystem osi głównej kwiatostanu, z którego różnicowały się kolejne rozgałęzienia (fot. 16). Wszystkie elementy młodych kwiatostanów były na tym etapie rozwoju szczelnie osłonięta podsadkami kwiatostanowymi. Po usunięciu podsadek na końcach dobrze rozwiniętych rozgałęzień obserwowano merystemy kwiatowe na różnych etapach rozwoju – od niezróżnicowanego płaskiego pęcherzyka (fot 14), przez kształt przypominający obwarzanek do etapu różnicowania się korony i pręcików (fot. 12). U wszystkich analizowanych roślin, niezależnie od terminu wysiewu, z którego pochodziły, stopień zróżnicowania kwiatostanu był zbliżony. Różnice występowały pomiędzy poszczególnymi roślinami i dotyczyły stopnia wydłużenia osi głównej kwiatostanu oraz liczby wytworzonych okółków, z których wyrastały rozgałęzienia I rzędu. Jednak u wszystkich analizowanych roślin pochodzących z trzech terminów wysiewu liczba okółków (pięter kwiatostanu) nie była niższa niż 4.



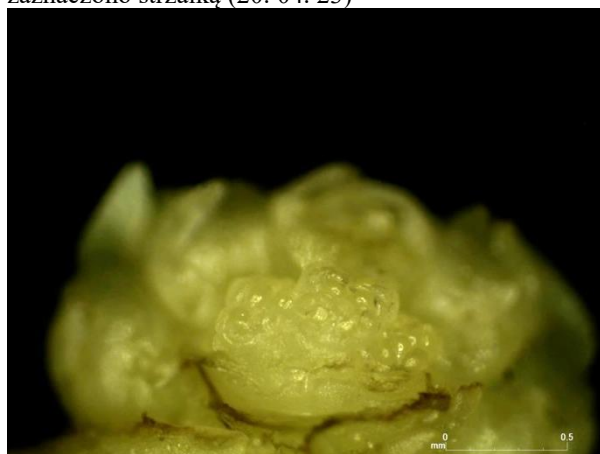
Fot 11. Wierzchołek pędu rośliny z I terminu wysiewu nasion. Widoczna lekko wydłużona oś główna kwiatostanu z rozgałęzieniami I i II rzędu osłoniętymi podsadkami (20. 04. 23)



Fot. 12. Fragment kwiatostanu przedstawionego na fot. 11. Po usunięciu podsadek widoczne są merystemy kwiatowe. Najbardziej zaawansowany w rozwoju merystem z różnicującą się koroną i trzema pręcikami zaznaczono strzałką (20. 04. 23)



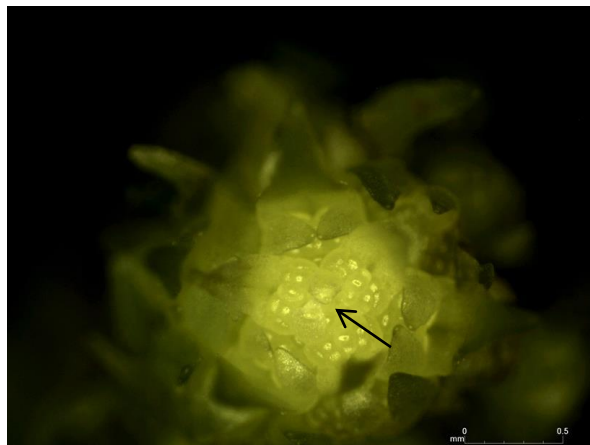
Fot. 13. Wierzchołek pędu rośliny z II terminu wysiewu nasion. Widoczna silnie skrócona oś główna kwiatostanu z rozgałęzieniami I i II rzędu osłoniętymi podsadkami (20. 04. 23)



Fot. 14. Fragment kwiatostanu przedstawionego na fot. 13. Po usunięciu podsadek widoczne różnicujące się merystemy kwiatowe (20. 04. 23)



Fot. 15. Wierzchołek pędu rośliny z III terminu wysiewu nasion. Widoczna skrócona oś główna kwiatostanu z rozgałęzieniami I i II rzędu osłoniętymi podsadkami (20.04.23)



Fot. 16. Część szczytowa kwiatostanu przedstawionego na fot. 15. W centrum osłonięty podsadkami merystem osi głównej kwiatostanu (strzałka). Poniżej trzy różniące się rozgałęzienia I rzędu (20.04.23)

b) Wpływ terminu wysiewu nasion na pośpiechowość

Przeprowadzona na początku czerwca ocena liczby i długości pędów roślin otrzymanych w wyniku zastosowania różnych terminów wysiewu nasion pozwoliła na stwierdzenie, że rośliny z I i II terminu nie różniły się pod względem wartości tych cech (tab. 2). Wszystkie zakwitły i wytworzyły po kilkanaście pędów kwiatostanowych o długości ok. 175 cm. Rośliny otrzymane z ostatniego (III) terminu wysiewu miały 1, maksymalnie 2 pędy, a niektóre z nich pozostały w fazie rozety liściowej i nie wytworzyły kwiatostanów.

Tabela 2. Liczba i długość pędów kwiatostanowych wytworzonych przez rośliny pochodzące z trzech terminów siewu (01.06.2023)

Termin siewu	% roślin w fazie generatywnej	Liczba pędów kwiatostanowych (szt./roślinę)	Długość pędów kwiatostanowych (cm)
I (21.03.22)	100	15,3 a	174,7 a
II (16.05.22)	100	13,6 a	175,0 a
III (18.07.22)	80	1,3 b	129,4 b

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

Pędy kwiatostanowe usunięto 1 czerwca. W tym terminie u większości roślin ze wszystkich terminów wysiewu obserwowano fazy od różowego pąka kwiatowego do początku kwitnienia (fot 17A, 18A i 19A).



A.



B.

Fot. 17. Rośliny otrzymane z I terminu wysiewu nasion (21.03.22).

A. Bezpośrednio przed usunięciem pędów kwiatostanowych (pośpiechów)

B. Odrastające pędy (pośpiechy) po 5 tygodniach od ich usunięcia



A.



B.

Fot. 18. Rośliny otrzymane z II terminu wysiewu nasion (16.05.22).

A. Bezpośrednio przed usunięciem pędów kwiatostanowych (pośpiechów)

B. Odrastające pędy (pośpiechy) po 5 tygodniach od ich usunięcia



A.



B.

Fot. 19. Rośliny otrzymane z III terminu wysiewu nasion (18.07.22).

A. Bezpośrednio przed usunięciem pędów kwiatostanowych (pośpiechów)

B. Odrastające pędy (pośpiechy) po 5 tygodniach od ich usunięcia

Pierwsze obserwacje odrastania pośpiechów przeprowadzono po 2 tygodniach od ich usunięcia. Zaobserwowano, że na każdej z roślin występowały 2 rodzaje odrastających pędów:

- odziolkowe wyrastające u podnóża przyciętych łodyg,
- kątowe tworzące się w kątach liści w szczytowych węzłach przyciętych łodyg.

Odrastające pędy były jeszcze bardzo krótkie, pędy kątowe miały ok. 3 cm, a odziolkowe były krótsze, ale w większości przypadków miały już wytworzone małe kwiatostany z drobnymi pąkami kwiatowymi ukrytymi w działkach kielicha. Rośliny pochodzące z różnych terminów wysiewu nie różniły się pod względem liczby pędów odziolkowych oraz długości pędów odziolkowych i kątowych (tab. 3). Zgodnie z przewidywaniami więcej pędów kątowych odrastało w przypadku roślin z I i II niż z III terminu siewu, gdyż różniły się one liczbą przyciętych łodyg.

W kolejnych terminach obserwacji stwierdzano jedynie niewielki wzrost liczby odrastających pędów w przeliczeniu na roślinę natomiast znacznie zwiększała się ich długość. Na początku lipca miały już one w większości przypadków ok. 40 cm długości i obserwowano na nich kwiatostany w fazie początku kwitnienia. Różnice pomiędzy roślinami otrzymanymi w różnych terminach kwitnienia dotyczyły jedynie liczby odrastających pędów kątowych, których podobnie jak w pierwszym terminie obserwacji najmniej wystąpiło u roślin najmłodszych.

Tabela 3. Liczba i długość odrastających pędów kwiatostanowych (pośpiechów) w zależności od terminu zakładania plantacji (wysiewu nasion)

Termin siewu	Liczba pędów (pośpiechów)/roślinę		Długość pędów (pośpiechów) (cm)	
	odziolkowych	kątowych	odziolkowych	kątowych
I termin obserwacji (14. 06. 23)				
21. 03. 22	0,8 a	10,3 a	1,8 a	3,2 a
16. 05. 22	2,2 a	8,0 ab	2,7 a	3,1 a
18. 07. 22	0,5 a	2,3 b	1,7 a	3,3 a
średnia	1,2	6,9	2,1	3,2
II termin obserwacji (23. 06. 23)				
21. 03. 22	3,5 a	10,5 a	15,3 a	14,0 a
16. 05. 22	2,7 a	8,5 a	16,5 a	13,9 a
18. 07. 22	0,5 a	2,3 b	9,0 a	8,0 a
średnia	2,2	7,1	13,6	12,0
III termin obserwacji (05. 07. 23)				
21. 03. 22	3,5 a	14,3 a	42,7 a	38,5 a
16. 05. 22	4,0 a	10,3 a	42,0 a	39,3 a
18. 07. 22	0,5 a	2,5 b	18,8 a	25,0 a
średnia	2,7	9,0	34,5	34,3

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

c) Masa i jakość surowca otrzymanego z roślin populacji ‘Lubelski’ w zależności od terminu siewu nasion

W doświadczeniu polowym, w drugim roku uprawy kozłka, pędy generatywne były usuwane 2-krotnie w tym samym czasie niezależnie od wieku roślin (terminu wysiewu). Zgodnie z wynikami przedstawionymi w części 3.4b niniejszego sprawozdania wszystkie rośliny z I i II terminu wysiewu zakwitły i wytworzyły po kilkanaście pędów kwiatostanowych. W przypadku roślin z III terminu – zakwitło około 80% roślin, a liczba pędów wynosiła u nich średnio 1,3szt./roślinę. Pędy te ścięto (czerwiec 2023r.), podobnie zrobiono z odrostami tych pędów (lipiec 2023r.). Korzenie tych roślin wykopano jesienią 2023r., określono ich masę i zawartość w nich związków biologicznie aktywnych.

Przeprowadzone obserwacje wskazują, iż kłącza roślin z I i II terminu wysiewu jesienią w drugim roku uprawy w znacznym stopniu „marniały” i rozpadały się na nowe, młodsze kłącza co zobrazowano na fotografiach (tabl. 1 i 2). U roślin z III terminu organy podziemne były zwarte i zdrowe (tabl. 3), a ich masa wyraźnie wyższa niż z I i II terminu. Zawartość związków biologicznie aktywnych, tj. kwasów seskwiterpenowych oraz olejku eterycznego również była wyraźnie wyższa u młodszych (z III terminu wysiewu) niż u roślin starszych (tab. 4).

Tabela 4. Zawartość kwasów walerenowych oraz olejku eterycznego w organach podziemnych badanych roślin.

Termin wysiewu	Sucha masa organów podziemnych (g/roślinę)	Kwasy seskwiterpenowe (%)			Suma kwasów seskwiterpenowych (%)	Olejek eteryczny (mL/1kg s.m.)
		HVA	AVA	VA		
I (21.03.22)	90,71b	0,01	0,19	0,12	0,32b	4,38b
II (16.05.22)	93,03b	0,01	0,14	0,21	0,36ab	5,10ab
III (18.07.22)	122,30a	0,00	0,16	0,24	0,40a	5,95a

HVA – kwas hydroksywalerenowy, AVA – kwas acetoksywalerenowy, VA- kwas walerenowy

Wartości oznaczone takimi samymi literami w kolumnach nie różnią się na poziomie istotności $\alpha=0,05$ wg testu Tucke’ya

Tablica 1. Rośliny z 1. terminu wysiewu (21.03.2022r.), termin zbioru korzeni: 22.10.2023r.



Tablica 2. Rośliny z 2. terminu wysiewu (16.05.2022r.), termin zbioru korzeni: 22.10.2023r.



Tablica 3. Rośliny z 3. terminu wysiewu (18.07.2022r.), termin zbioru korzeni: 22.10.2023r.



Mierniki dla tematu badawczego 4

Lp.	miernik	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Terminy wysiewu	3	3

3.5 Temat badawczy 5

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

Celem badań planowanych do realizacji w 2023 roku było określenie dynamiki przyrostu masy organów surowcowych i gromadzenia się w nich związków czynnych w uprawie kozłka w cyku 1-rocznym i 1,5 rocznym (kontynuacja prac z 2022r.; badania realizowane w okresie 2022-2024).

Materiały i metody

Uprawa w cyklu 1-rocznym:

Doświadczenie założono w 2022r. w gospodarstwie zielarskim w rejonie Płońska. Rozsada przygotowana została w obiekcie szklarniowym SGGW. Nasiona kozłka wysiano w marcu 2022r. i przepikowano do wielodoniczek. Doświadczenie polowe założono w czerwcu. Zbiór surowców (organów podziemnych) przeprowadzono w końcu września oraz na przełomie października i listopada 2022 r. Surowce do badań (kłącza oraz grube korzenie i cienkie korzenie) poddano analizom chemicznym na zawartość związków biologicznie czynnych.

Badania w 2023r. W bieżącym roku z tego samego doświadczenia organy podziemne (analogicznie jak w ubiegłym roku z uwzględnieniem ich frakcjonowania) wykopane zostały w styczniu (w ostatnich latach część surowców zbierana jest w tym okresie przez rolników) i poddane analizom chemicznym (ocena zawartości kwasów walerenowych – HPLC oraz ocena zawartości i składu chemicznego olejków eterycznych – GC). Organ podziemne podzielono na trzy frakcje, tj.: kłącza oraz grube korzenie i cienkie korzenie. Frakcje te oddzielnie oceniono pod względem zawartości związków czynnych (**łącznie 3 próby z 1 terminu zbioru**).

Uprawa w cyklu 1,5 rocznym

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 surowców (organów podziemnych) tych roślin przeprowadzony został w końcu września oraz w listopadzie 2023 r. Surowce do badań (kłącza oraz grube korzenie i cienkie korzenie), **łącznie 6 prób (2 terminy zbioru x 3 frakcje)** poddane zostały analizom chemicznym (ocenie zawartości kwasów walerenowych – HPLC oraz ocenie zawartości i składu chemicznego olejków eterycznych – GC/MS). Badania na tych roślinach kontynuowane będą w 2024r.



Fot. 1. Doświadczenie założone w gospodarstwie zielarskim w okolicach Płońska (sierpień 2022r.)

WYNIKI (2022-2023)

Tabela 1. Dynamika przyrostu masy organów podziemnych kozłka pozyskanych z uprawy 1-roczej.

Masa (g/roślinę)	1 termin (IX)				2 termin (XI)				3 termin (I)			
	KŁ	GK	DK	razem	KŁ	GK	DK	razem	KŁ	GK	DK	razem
świeża	62,8	83,4	87,1	233,3	103,5	152,1	115,4	370,9	80,4	118,5	85,3	284,2
sucha	16,2	23,6	17,8	57,60	26,0	38,3	29,0	93,3	20,2	29,8	21,5	71,5

KŁ- kłaczka; GK – grube korzenie; DK – drobne korzenie

Tabela 2. Dynamika przyrostu masy organów podziemnych kozłka pozyskanych z uprawy 1,5-roczej.

Masa (g/roślinę)	1 termin (IX)				2 termin (XI)			
	KŁ	GK	DK	razem	KŁ	GK	DK	razem
świeża	89,16	148,92	74,77	312,85	132,66	193,78	147,35	473,80
sucha	22,29	37,23	18,69	78,21	34,30	50,10	38,10	122,50

Tabela 3. Dynamika gromadzenia kwasów seskwiterpenowych w organach podziemnych kozłka uprawianego w cyklu 1-rocznym (%)

Kwasy seskwiterp.	1 termin (IX)				2 termin (XI)				3 termin (I)			
	KŁ	GK	DK	średnia	KŁ	GK	DK	średnia	KŁ	GK	DK	średnia
HV	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	0,04	0,03	0,04	0,10	0,14	0,07	0,10
AVA	0,07	0,13	0,08	0,09	0,12	0,19	0,17	0,16	0,03	0,07	0,07	0,06
VA	0,31	0,24	0,26	0,27	0,36	0,34	0,29	0,33	0,28	0,29	0,16	0,24
razem	0,40	0,39	0,36	0,38	0,51	0,57	0,49	0,52	0,41	0,50	0,29	0,40

Tabela 4. Dynamika gromadzenia kwasów seskwiterpenowych w organach podziemnych kozłka uprawianego w cyklu 1,5-rocznym (%)

Kwasy seskwiterp.	1 termin (IX)				2 termin (XI)			
	KŁ	GK	DK	średnia	KŁ	GK	DK	średnia
HV	0,03	0,02	0,02	0,02	0,09	0,22	0,14	0,15
AVA	0,08	0,19	0,11	0,13	0,10	0,05	0,08	0,08
VA	0,32	0,23	0,27	0,27	0,27	0,36	0,27	0,30
razem	0,43	0,44	0,40	0,42	0,36	0,73	0,48	0,52

Tabela 5. Dynamika gromadzenia olejku eterycznego w organach podziemnych kozłka uprawianego w cyklu 1-rocznym (%) oraz udział procentowy składników olejku.

Związki chemiczne w olejku	1 termin (IX)				2 termin (XI)				3 termin (I)			
	KŁ	GK	DK	średnia	KŁ	GK	DK	średnia	KŁ	GK	DK	średnia
zawartość olejku:	3,4	4,5	4,5	4,13	3,6	4,4	3,9	3,97	3,5	5,6	4,8	4,63
α - pinen	4,93	4,15	4,76	4,61	1,69	1,12	2,37	1,73	0,64	2,82	0,04	1,17
α - fenchon	13,04	12,91	9,85	11,93	5,84	4,42	8,08	6,11	1,76	7,92	0,20	3,29
β - pinen	1,41	1,30	0,84	1,18	0,80	0,13	0,12	0,35	2,82	0,85	0,04	1,24
α -terpinene	0,09	0,07	0,06	0,07	0,71	0,67	0,78	0,72	0,09	0,45	0,12	0,22
limonene	0,85	0,80	0,58	0,74	1,36	0,86	0,33	0,85	0,17	0,26	0,04	0,16
β -phellandrene	1,39	0,64	0,20	0,74	0,03	0,13	0,07	0,08	0,02	0,23	0,08	0,11
γ -terpinene	0,26	0,23	0,23	0,24	0,20	0,13	0,15	0,16	0,05	0,04	0,03	0,04
p-cymene	0,14	0,10	0,10	0,11	0,17	0,03	0,10	0,10	0,07	0,04	0,02	0,04
n-hexyl isovalerate	0,10	0,11	0,01	0,07	0,09	0,57	0,33	0,33	0,02	0,18	0,21	0,14
δ -elemene	1,25	0,45	0,51	0,74	0,72	0,15	1,58	0,82	0,22	0,31	0,70	0,41
α -copaene	0,21	0,77	1,98	0,99	0,08	0,08	0,05	0,07	0,16	0,19	0,51	0,29
α -gurjenene	0,70	0,22	0,27	0,40	0,19	0,27	0,22	0,23	0,44	0,29	0,76	0,50
bornyl acetate	20,30	19,52	14,00	17,94	24,55	23,70	16,84	21,70	11,37	23,52	21,36	18,75
thymol, methyl ether	2,63	2,51	2,32	2,49	1,32	1,49	1,88	1,56	0,93	0,08	2,33	1,11
(E)- β -caryophyllene	0,25	0,33	0,43	0,34	0,48	0,45	0,09	0,34	0,27	0,48	0,54	0,43
β -gurjunene	0,35	0,27	0,31	0,31	0,22	0,28	0,54	0,35	0,23	0,24	0,41	0,29
α -caryophyllene (humulene)	3,39	3,60	2,50	3,16	3,43	3,05	3,03	3,17	2,16	2,71	4,43	3,10
γ -muurolene	0,90	0,84	0,73	0,82	0,82	0,80	0,87	0,83	0,34	0,07	0,61	0,34
myrtenyl acetate	2,51	3,35	4,33	3,40	5,21	1,36	2,65	3,07	0,43	0,57	0,78	0,59
isovaleric acid	0,81	0,28	0,99	0,69	4,42	3,05	1,63	3,03	0,19	0,05	0,05	0,10
α -terpineol acetate	2,49	0,45	0,46	1,13	0,60	0,64	0,57	0,60	1,45	2,71	2,66	2,27
borneol	3,33	4,25	5,06	4,21	2,39	3,94	2,36	2,90	4,97	1,09	3,09	3,05
germacrene D	0,50	0,48	0,45	0,48	1,00	1,12	1,65	1,26	3,47	1,33	4,03	2,94
valencene	0,55	0,51	0,45	0,50	0,81	1,02	1,59	1,14	0,38	0,64	0,53	0,52
kessane	1,57	0,49	3,22	1,76	0,26	0,44	0,55	0,42	0,35	0,19	0,52	0,35
myrtenol	0,93	1,10	1,55	1,19	0,86	0,52	2,62	1,33	0,27	0,50	0,26	0,34
3-methylvaleric acid	0,25	0,19	0,12	0,19	0,41	0,10	0,09	0,20	0,39	0,10	0,88	0,46
myrtenyl isovalerate	0,95	0,45	0,25	0,55	0,40	0,54	0,29	0,41	1,27	1,74	1,88	1,63
2,5-dimethoxy-p-cymene	0,51	0,80	1,40	0,90	0,53	0,58	0,67	0,59	0,44	1,02	1,04	0,83
β -ionone	0,57	0,55	0,48	0,53	0,61	0,58	0,53	0,57	0,34	0,54	1,08	0,65
caryophyllene oxide	0,23	0,31	0,26	0,27	0,23	0,22	0,30	0,25	0,33	1,04	0,98	0,78
pacifgorgiol	1,69	1,85	1,85	1,80	2,01	2,25	2,15	2,14	1,53	3,51	3,12	2,72
maaliol	0,55	0,41	0,20	0,39	0,53	0,98	0,78	0,76	0,38	0,27	0,27	0,31
ledol	0,49	0,46	0,50	0,48	0,24	0,10	0,54	0,29	0,12	0,28	0,28	0,23
valeranone	0,56	0,31	0,50	0,46	0,61	0,49	0,86	0,65	0,23	0,55	0,55	0,44
spathulenol	1,12	1,01	0,88	1,00	1,50	2,87	2,02	2,13	2,26	4,52	4,08	3,62
valerenal	10,06	13,15	16,48	13,23	12,41	15,19	17,82	15,14	7,83	11,80	15,41	11,68
isopathulenol	3,48	4,26	4,74	4,16	3,96	4,81	4,96	4,58	1,01	1,57	1,40	1,33
trans-Valerenyl	1,27	1,64	1,33	1,41	1,55	1,05	1,85	1,48	0,13	0,29	0,31	0,24

acetate												
kessanyl acetate	0,22	0,25	0,18	0,22	0,87	1,77	0,21	0,95	0,29	0,40	0,50	0,40
4(15)-selinene-11,12-diol	1,23	0,63	0,44	0,77	0,34	2,20	0,25	0,93	0,74	1,00	1,14	0,96
cis-valerenyl acetate	0,56	0,67	0,56	0,60	0,14	0,12	0,13	0,13	0,29	0,10	0,13	0,17
palmitic acid	0,23	0,21	0,18	0,21	1,57	1,85	1,31	1,58	0,37	0,30	0,48	0,38
valeric acid	3,48	4,45	1,66	3,20	4,69	5,40	5,66	5,25	5,51	3,80	3,22	4,18
% udział związków zidentyfikowanych	92,33	91,33	88,20		90,85	91,52	91,45		56,72	80,59	81,1	

Tabela 5. Dynamika gromadzenia olejku eterycznego w organach podziemnych kozłka uprawianego w cyklu 1,5-letnim (%) oraz udział procentowy składników olejku.

Związki chemiczne w olejku	1 termin (IX)				2 termin (XI)			
	KŁ	GK	DK	średnia	KŁ	GK	DK	średnia
zawartość olejku:	3,6	5,0	4,7	4,43	3,5	4,4	4,2	4,03
α - pinen	3,68	4,22	5,38	4,43	2,19	2,87	1,98	2,35
α - fenchen	11,18	11,48	6,69	9,78	8,52	9,11	6,14	7,92
β - pinen	0,04	1,46	0,08	0,53	0,26	0,12	0,15	0,18
α -terpinene	0,04	0,04	0,06	0,05	0,80	1,52	1,01	1,11
limonene	0,05	0,65	0,82	0,51	0,69	1,14	0,18	0,67
β -phellandrene	0,76	0,27	0,19	0,41	0,11	0,07	0,07	0,08
γ -terpinene	0,02	0,13	0,21	0,12	0,15	0,46	0,12	0,24
p-cymene	0,13	0,11	0,17	0,14	0,07	0,03	0,21	0,10
n-hexyl isovalerate	0,12	0,23	0,14	0,16	0,12	0,19	0,40	0,23
δ -elemene	0,12	0,25	0,21	0,19	0,45	0,10	0,58	0,38
α -copaene	0,83	1,02	1,92	1,26	0,08	0,04	0,18	0,10
α -gurjunene	0,41	0,46	0,73	0,53	0,16	0,22	0,59	0,32
bornyl acetate	21,44	19,10	15,37	18,64	26,47	25,13	23,37	24,99
thymol, methyl ether	2,59	2,41	3,36	2,79	0,76	0,64	0,86	0,75
(E)- β -caryophyllene	0,53	0,24	0,32	0,36	0,32	0,54	0,22	0,36
β -gurjunene	0,44	0,28	0,35	0,36	0,15	0,16	0,09	0,13
α -caryophyllene (humulene)	3,92	5,28	3,91	4,37	3,12	0,70	2,81	2,21
γ -muurolene	0,77	0,67	0,82	0,75	0,21	0,20	0,67	0,36
myrtenyl acetate	4,50	3,00	3,35	3,62	3,32	2,81	3,35	3,16
isovaleric acid	3,53	1,46	1,81	2,27	0,98	0,69	1,26	0,98
α -terpineol acetate	0,58	0,66	0,64	0,63	0,31	0,23	0,00	0,18
borneol	2,23	4,26	5,05	3,85	5,93	4,51	3,67	4,70
germacrene D	2,79	0,39	1,04	1,41	0,96	1,11	1,17	1,08
valencene	1,30	0,49	0,68	0,82	0,50	4,81	0,70	2,01
kessane	1,08	1,51	2,53	1,71	0,26	0,32	0,12	0,23
myrtenol	0,85	0,96	0,61	0,81	0,31	0,91	0,76	0,66
3-methylvaleric acid	0,16	0,11	0,25	0,17	0,28	0,23	0,19	0,24
myrtenyl isovalerate	0,48	0,61	1,06	0,72	0,76	0,56	0,35	0,56
2,5-dimethoxy-p-cymene	0,48	0,57	0,65	0,57	0,24	0,21	0,54	0,33
β -ionone	0,70	0,69	0,61	0,67	0,55	0,32	0,76	0,54

caryophyllene oxide	0,38	0,36	0,38	0,37	0,20	0,19	0,28	0,22
pacifgorgiol	2,00	2,44	2,22	2,22	2,21	2,61	2,45	2,42
maaliol	0,52	0,29	0,41	0,41	0,26	0,23	0,41	0,30
ledol	0,63	0,65	0,64	0,64	0,46	0,63	0,68	0,59
valeranone	0,53	0,38	0,44	0,45	0,48	0,52	0,69	0,56
spathulenol	1,73	1,33	1,35	1,47	2,30	2,11	2,54	2,32
valerenal	7,80	11,72	10,20	9,91	13,72	17,47	22,66	17,95
isopathulenol	2,09	4,16	4,15	3,47	3,17	3,67	1,78	2,87
trans-Valerenyl acetate	1,99	1,85	1,14	1,66	1,29	1,48	4,85	2,54
kessanyl acetate	0,96	0,53	0,51	0,67	0,52	0,27	0,00	0,26
4(15)-selinene-11,12-diol	0,99	0,75	1,02	0,92	1,48	1,68	1,55	1,57
cis-valerenyl acetate	1,06	1,08	0,56	0,90	1,07	0,31	0,21	0,53
palmitic acid	0,35	0,36	0,25	0,32	0,16	0,00	0,28	0,15
valeric acid	5,97	3,48	3,18	4,21	1,72	1,03	0,00	0,92
% udział związków zidentyfikowanych	92,75	92,39	85,46		88,06	92,13	90,88	

Masa organów podziemnych kozłka uprawianego w cyklu 1,5-letnim była wyższa niż masa surowca pochodzącego z uprawy 1-letniej, w analogicznych terminach zbioru (IX, XI), przy czym w obydwu systemach uprawy przyrastała ona wyraźnie od września do listopada. Przyrost ten wynosił ponad 30%. W uprawie w cyklu 1-letnim, przy zbiorze styczniowym (3. termin), praktykowanym obecnie czasami przez rolników, masa ta była nieco niższa niż masa surowca pozyskanego w listopadzie (2. termin zbioru) (tab. 1 i 2). Zawartość kwasów seskwiterpenowych w organach podziemnych wzrastała od września do listopada. W 2. terminie zbioru najwięcej kwasów zidentyfikowano w grubych korzeniach, w 1. była ona podobna zarówno w kłączach, jak i grubych oraz drobnych korzeniach (tab. 3 i 4). Z kolei zawartość olejku eterycznego (niezależnie od sposobu uprawy) była nieco wyższa w 1. niż w 2. terminie zbioru. Ich zawartość była wyższa w korzeniach w porównaniu do kłączy (tab. 5 i 6).

Mierniki dla tematu badawczego 5

Lp.	miernik	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Terminy zbioru surowców	3	3
2	Liczba prób do analiz chemicznych	9	9
3	Liczba powtórzeń analiz chemicznych	3	3

3.6 Temat badawczy 6

Określenie czynników pozbiorczych wpływających na parametry jakościowe nasion kozłka.

Celem badań planowanych do realizacji w 2023 roku było określenie wpływu wybranych czynników pozbiorczych, 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 br. zostały one ocenione pod względem wartości siewnej, a następnie założone zostało doświadczenie dotyczące wpływu warunków przechowywania na ich jakość. Nasiona przechowywane były w workach papierowych, woreczkach strunowych i szklanych słojach w temperaturze 21°C, 10°C, 4°C, -20°C (próby po 10 g każda, tab. 1). Ich wartość siewna, tj. masa 1000 nasion, zdolność kiełkowania i energia kiełkowania określone zostały po 3 miesiącach oraz po 10 miesiącach przechowywania. Badania te kontynuowane będą w 2024r.

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

Zgodnie z metodami ISTA (2019) określano: masę 1000 nasion, zdolność ich kiełkowania oraz wilgotność nasion (Fot. 2).

Masa 1000 nasion (MTM)

Badanie przeprowadzono wydzielając losowo z próbki analitycznej osiem próbek (powtórzeń), po 100 nasion w każdym powtórzeń. 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 powtórzeń po 100 nasion, w każdym powtórzeń. 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.

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 eksykatorze i ponownie zważono. Wilgotność nasion została określona z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku według następującego wzoru:

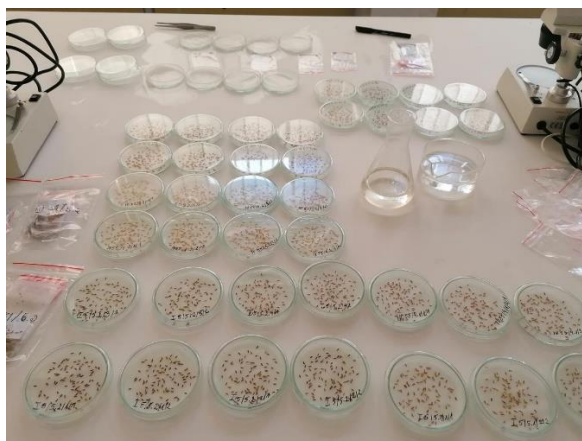
$$(M_2 - M_3) \times \frac{100}{M_2 - M_1}$$

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)



Fot. 1 a i b. Badania laboratoryjne nasion: test zdolności kiełkowania

WYNIKI

Uzyskane wyniki wskazują, iż nasiona kozłka dobrze kiełkują zarówno po 3 jak i 10 miesiącach przechowywania. W tym okresie ich wartość siewna w niewielkim stopniu zależała od warunków przechowywania (tab. 2-8).

OCENA NASION BEZPOŚREDNIO PRZED ZAŁOŻENIEM DOŚWIADCZENIA

Tabela 2. Wartość siewna nasion kozłka lekarskiego

Parametry jakościowe	
Wilgotność nasion (%)	8,49
Masa 1000 nasion (g)	0,7609
Zdolność kiełkowania (%)	93,0
Energia kiełkowania (%)	92,5

OCENA PO TRZECH MIESIĄCACH PRZECHOWYWANIA NASION

Tabela 3. Masa 1000 nasion po trzech miesiącach przechowywania (g)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	21°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	0,7604	0,7615	0,7599	0,7582	0,7600a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	0,7612	0,7618	0,7520	0,7562	0,7578a
worek papierowy jednowarstwowy	0,7603	0,7600	0,7597	0,7610	0,7603a
Średnia dla temperatury	0,7606a	0,7611a	0,7572a	0,7585a	

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

Tabela 4. Zdolność kiełkowania nasion po trzech miesiącach przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	21°C	10°C	4°C	-20°C	
szczelnie zamykany szklany słoik	91,3	90,3	89,8	90,3	90,4a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	90,0	91,3	89,3	88,7	89,8a
worek papierowy jednowarstwowy	88,5	87,0	87,5	86,7	87,4a
Średnia dla temperatury	88,9a	89,5a	88,9a	88,6a	

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

Tabela 5. **Energia kiełkowania** nasion po trzech miesiącach przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	21°C	10°C	4°C	-20°C	
szczerlnie zamykany szklany słoik	85,8	83,5	82,3	78,5	82,5a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	83,0	83,3	82,3	72,3	80,2a
worek papierowy jednowarstwowy	84,0	79,5	77,5	70,7	77,9a
Średnia dla temperatury	84,3a	82,1a	80,7a	73,8a	

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

OCENA PO DZIESIĘCIU MIESIĄCACH PRZECHOWYWANIA NASION

Tabela 6. **Masa 1000 nasion** po dziesięciu miesiącach przechowywania (g)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	21°C	10°C	4°C	-20°C	
szczerlnie zamykany szklany słoik	0,7345	0,7870	0,8163	0,7995	0,7843a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	0,7793	0,7950	0,8123	0,8208	0,8018a
worek papierowy jednowarstwowy	0,7345	0,7870	0,8163	0,7995	0,7957a
Średnia dla temperatury	0,7621a	0,7886a	0,8136	0,8115a	

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

Tabela 7. **Zdolność kiełkowania** nasion po dziesięciu miesiącach przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	21°C	10°C	4°C	-20°C	
szczerlnie zamykany szklany słoik	82,75	92,00	95,50	96,25	91,63a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	88,50	91,00	95,00	96,75	92,81a
worek papierowy jednowarstwowy	84,25	92,75	96,25	95,75	92,25a
Średnia dla temperatury	85,17a	91,92a	95,58a	96,25a	

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

Tabela 8. **Energia kiełkowania** nasion po dziesięciu miesiącach przechowywania (%)

Sposób przechowywania	Temperatura przechowywania				Średnia dla opakowania
	21°C	10°C	4°C	-20°C	
szczerlnie zamykany szklany słoik	71,00	81,75	89,75	89,50	83,00a
worek foliowy ze strunowym zamykaniem	77,75	80,50	86,75	89,75	83,69a
worek papierowy jednowarstwowy	76,25	81,75	90,25	87,50	83,94a
Średnia dla temperatury	75,00b	81,33ab	88,92a	88,92a	

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

Mierniki dla tematu badawczego 6

Lp.	miernik ⁴	Planowana wartość miernika	Osiągnięta wartość miernika
1	Terminy wykonywania testów	3	3
2	Liczba testów zdolności kiełkowania	25	25

⁴ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

4. Mierniki dla zadania - prezentacja wyników badań

Prezentacja wyników na konferencjach				
lp.	konferencja	miernik ⁵	wartość miernika podana we wniosku	wartość miernika zrealizowana
1	Konferencja naukowa	Liczba prezentacji	2	2
1a.	Konferencja naukowa zorganizowana w ramach VI Zjazdu PTNO „Przyjazne środowisku ogrodnictwo w życiu współczesnego człowieka”, Olsztyn 21-22 czerwca 2023r.	Poster: Anna Pawełczak, Olga Kosakowska, Kavana Raj, Zenon Węglarz, <u>Katarzyna Bączek</u> , tytuł: „Występowanie roślin męskosterylnych w populacji kozłka lekarskiego (<i>Valeriana officinalis</i> L.) ‘Lubelski’”. Temat badawczy 3 (wyniki z 2022r.) *		
1b.	ELLS Scientific Student Conference 2023, University of Hohenheim, Stuttgart, Niemcy	Poster: <u>Kavana Raj</u> , Jarosław L. Przybył, Zenon Węglarz, Katarzyna Bączek, tytuł: „The influence of harvesting term on the mass and quality of valerian roots (<i>Valeriana officinalis</i> L.). Temat badawczy 5 (wyniki 2022-23)*”		
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych				
lp.	monografia/czasopismo	miernik ⁶	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” <https://www.sggw.edu.pl/strona-glowna/nauka/projekty-krajowe1/dotacje-mrirw-2/>

6. Mierniki zadania – stopień realizacji

Lp.	Miernik ⁷	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
1	2	3	4	5
temat badawczy 1				
1	Liczba powtórzeń technicznych reakcji qPCR	2	2	100%
2	Liczba badanych genów	12	12	100%
3	Liczba zastosowanych genów referencyjnych	2	2	100%
temat badawczy 2				
1	Liczba badanych genotypów	3	4	133%
2	Rodzaje podłoży do aklimatyzacji <i>ex vitro</i> mikrosadzonek	2	2	100%
3	Liczba powtórzeń w doświadczeniach	3	3	100%
4	Liczba terminów obserwacji polowych	2	2	100%
temat badawczy 3				
1	Liczba wariantów doświadczenia (rozstawa roślin)	3	3	100%
2	Liczba roślin które poddane zostaną obserwacjom (3 rozstawy x 27 roślin)	81	81	100%
3	Liczba prób nasion do oceny wartości siewnej	9	9	100%
temat badawczy 4				
1	Terminy wysiewu	3	3	100%

⁵ Podać, czy chodzi o wykład plenarny, doniesienie konferencyjne czy poster.

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

⁷ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

temat badawczy 5				
1	Terminy zbioru surowców	3	3	100%
2	Liczba prób do analiz chemicznych	9	9	100%
3	Liczba powtórzeń analiz chemicznych	3	3	100%
temat badawczy 6				
1	Terminy wykonywania testów	3	3	100%
2	Liczba testów zdolności kiełkowania	25	25	100%
			ŚREDNIA	1,02
			% REALIZACJI ZADANIA	102%

Sporządzono: Warszawa, 8 stycznia 2024r.

Pieczęć jednostki

Osoba reprezentująca jednostkę

Kierownik zadania

podpis i pieczęć

podpis