

**Agrovoc descriptors:** gentiana, drug plants, cultivation, nature conservation, ecotypes, site factors, yield factors, quality

**Agris category code:** F01, F40, P01

COBISS koda 1.01

## **Poskusi pridelovanja bratinskega košutnika (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.) na območju zahodne Slovenije**

Anita KUŠAR<sup>1</sup> in Dea BARIČEVIČ<sup>2</sup>

Delo je prispelo 28. junija 2006; sprejeto 21. avgusta 2006.

Received June 28, 2006; accepted August 21, 2006.

### **IZVLEČEK**

Uvajanje zdravih in aromatičnih rastlin v pridelovanje je pomembna faza pri ohranjanju naravnih virov rastlinskih vrst in zagotavljanju kakovostnega rastlinskega materiala kot vhodne surovine za farmacevtsko in živilsko predelovalno industrijo. V poskus je bil vključen bratinski košutnik (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.), ki je ogrožena rastlinska vrsta tako na območju Slovenije kot na območju Evrope. V poskus pridelovanja sta bila vključena dva ekotipa (Nanos in Vremščica) bratinskega košutnika. Pridelovanje je potekalo na treh lokacijah (Vogrsko, Vremščica in Podkraj), rastline so bile v nasad sajene v dveh obravnavanih terminih (pomlad in jesen). V nasadih bratinskega košutnika smo spremljali preživetje rastlin po sajenju v nasad, pridelok in kakovost pridelane droge. Ekotip rastlin na odstotek preživelih rastlin v nasadu ni imel statistično značilnega vpliva, pomembno pa je vplival na pridelok in njegovo kakovost. Lokacija sajenja na pridelok korenin ni imela statistično značilnega vpliva, po dveh letih se je povprečna potencialna produktivnost nasadov gibala med 2,3 in 3,1 tone svežih korenin na hektar. Nasprotno pa je lokacija vplivala na kakovost pridelane rastlinske droge. Termin sajenja rastlin je značilno vplival na preživetje rastlin, na velikost pridelka in njegovo kakovost pa ni imel značilnega vpliva.

**Ključne besede:** košutnik, *Gentiana lutea*, pridelovanje, pridelok, kakovost

### **ABSTRACT**

#### **CULTIVATION TRIALS OF YELLOW GENTIAN (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.) IN WEST PART OF SLOVENIA**

Introduction of medicinal and aromatic plants (MAP) into cultivation has been recognized as an important step in conservation of natural resources of MAPs and in supply of raw materials for industrial needs. Yellow gentian (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.), an endangered plant species in Slovenia and elsewhere in Europe, was included into the study. Two ecotypes of yellow gentian (Nanos and Vremščica), three different locations (Vogrsko, Vremščica and Podkraj), and two different transplanting periods (spring and autumn) were studied with regard to the plants survival, yield and quality of harvested roots. Plant's ecotype did not have any statistically significant impact on survival, but it had strong impact on the yield and the quality of harvested drug. The location had no significant effect on the yield.

<sup>1</sup> dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, Slovenija

<sup>2</sup> izr. prof., dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, Slovenija

After two years of cultivation the potential productivity was estimated to be between 2.3 and 3.1 tones of fresh roots per hectare. Contrary, the location had a strong impact on the quality of harvested plant drug. Transplanting period had strong impact on plants' survival, but there was no influence of transplanting period on the yield and its quality.

**Key words:** yellow gentian, *Gentiana lutea*, cultivation, yield, quality

## UVOD

Pri povpraševanju po zdravilnih in aromatičnih rastlin (ZAR) za farmacevtsko in živilsko industrijo je obseg izkoriščanja rastlin iz naravnih rastišč večji v primerjavi z obsegom gojenih rastlin. Uvoznik rastlinske droge je predvsem razvitejši del Evrope, izvor droge pa so države vzhodne Evrope in drugih celin. Izkoriščanje zdravilnih rastlin iz naravnih populacij za potrebe gospodarstva lahko hitro ogrozi rastlinsko vrsto, še posebej, če je rastlina redka ali se počasi razmnožuje. Pri nabiranju rastlin za potrebe individualnega samozdravljenja količina nabranih rastlin običajno ne ogroža vrste na naravnem rastišču. Pravo nasprotje predstavlja komercialno izkoriščanje, ko gre za odvzem večjih (tonskih) količin droge iz narave (Skobrne, 2000). Za ohranjanje populacij ogroženih vrst so potrebni posebni ukrepi. Potrebno je koordinirati *in-situ* in *ex-situ* ukrepe, zlasti vzgojo vrst za vračanje v naravo z vzpostavljanjem ustreznih razmer za njihovo razmnoževanje v naravi. Raziskave ogroženih vrst in njihovih populacij so osnova za njihovo učinkovito varstvo ter varstvo njihovih življenjskih prostorov (Strategija ..., 2002). Ohranjanje in trajnostna raba razpoložljivih virov ZAR zahteva celosten pristop, reševanje znanstvenih, agronomskih, tehničnih, zakonodajnih, marketinških in socialno-ekonomskih problemov. Trajnostno rabo naravnih virov ZAR je možno doseči le z introdukcijo rastlin v pridelovanje, kar predstavlja pomemben način zaščite ogroženih rastlinskih vrst (Baričevič in Zupančič, 2000).

V prihodnosti nabiranje samoniklih ZAR ne bo nezaželeno le zaradi mednarodnih in državnih zakonskih predpisov glede zaščite ogroženih rastlinskih vrst ZAR in trajnostnega ohranjanja naravnih virov drugih, še neogroženih vrst ZAR, temveč tudi zaradi zahtev prehranske, farmacevtske in kozmetične industrije po nepogrešljivi kakovosti surovin, rastlinskih drog. Proces pridelovanja ZAR mora vključevati spremljanje morfoloških in kemijskih lastnosti ter zahteva preverjanje ustreznosti kakovostnih parametrov, določenih v evropski farmakopeji (European pharmacopoeia, 2004) ali monografijah ZAR svetovne zdravstvene organizacije (WHO ..., 2005). Preverjanje droge je nujno, saj je potrebno pred ponudbo na trg zagotoviti kakovost in homogenost rastlinske droge (Mukherjee, 2002). Številne raziskave v svetu namreč dokazujejo, da morfološke, fiziološke in biokemijske lastnosti rastlin pogojujejo končno kakovost rastlinskih drog, odvisne pa so tako od genetskega materiala kot ekoloških parametrov rastišča in njune interakcije (Zupančič, 2004; Manukyan, 2004; Bloem in sod., 2004; Gaudin in sod., 2002).

Zgodba in usoda košutnika je tipični primer dramatičnega poseganja v naravo. Pred nekaj desetletji je bil košutnik še zelo razširjena vrsta, na nekaterih gorskih kmetijah je predstavljal celo plevelno vrsto. Ker pa je bilo v preteklosti izkoriščanje omenjene rastlinske vrste iz naravnih rastišč nekontrolirano, je ponekod že popolnoma izginil. Danes je košutnik ogrožena rastlinska vrsta, ponekod celo kritično ogrožena. Uvrščen

je na rdeče sezname številnih evropskih držav kot ranljiva vrsta, kar pomeni, da je njegovo izkoriščanje iz naravnih populacij prepovedano (Pravilnik o uvrstitvi ..., 2002; Council Directive ..., 1992; Uredba Sveta o varstvu ..., 1997). S tem je poskrbljeno za ohranjanje vrste, kljub temu pa bo škoda, ki je nastala v preteklosti, težko popraviti. Kljub vsemu pa rastlinska droga, prisotna na trgu, še vedno večinoma izvira iz naravnih populacij in sicer iz držav, ki omenjene rastlinske vrste še niso zakonsko zaščitile, le manjša količina je zagotovljena iz pridelovalnih površin jugozahodne Evrope (Healing ..., 2002).

Košutnik (*Gentiana lutea* L.) je zdravilna rastlina, ki se že od nekdaj uporablja v domačem zdravilstvu, pa tudi v živilski in farmacevtski industriji. Vključen je v številne farmakopeje (evropsko, belgijsko, britansko, francosko, nemško, avstrijsko, jugoslovansko) in druge registre zdravilnih rastlin po svetu. Drogo košutnika predstavlja korenina rastline (*Gentianae radix*). Sodi med rastlinske droge z grenčinami, ker vsebuje grenke sekoiridoide, ki dajejo koreninam košutnika značilen grenak okus. Stimulira sekrecijo prebavnih in želodčnih sokov. Terapevtske indikacije posušenih korenin košutnika in pripravkov na njihovi osnovi so pomanjkanje apetita in prebavne motnje. Kontraindikacije so čir na želodcu in dvanajsterniku ter povečano izločanje želodčne kisline (Escop monographs ..., 1997).

Povpraševanje po rastlinski drogi je veliko. V Evropi znašajo letne potrebe po košutniku 1500 ton suhih korenin, kar pomeni okoli 6000 ton svežih korenin (Blanco in Breaux, 1997, navedeno v Europe's..., 2004), Slovenija letno uvozi od 300–500 kg droge (Baričevič in sod., 1996). Pojavljajo pa se problemi z zagotavljanjem zadostnih količin droge. Košutnik je torej zaradi njegove ogroženosti in povpraševanja nujno kultivirati (Kretschmer in Franz, 1997). Poskusi uvajanja košutnika v pridelovanje na njivskih površinah segajo vse od leta 1978 pa do danes (Barralis in sod., 1978; Aiello in Bezzi, 1989, 1998; Bezzi in Aiello, 1993; Kretschmer in Franz, 1997; Galambosi, 2005). Največ uspehov s tega področja je zaslediti pri dveh prispevkih avtorjev Bezzi in Aiello (1993) in Aiello in Bezzi (1998). Pridelovanje rastline poteka le na skupaj 150-ih ha, predvsem v Franciji, nekaj tudi na Bavarskem, v Avstriji in Italiji. V Španiji je gojenje omejeno le na nekaj poskusnih površin (Verlet in Leclecq, 1997, navedeno v Europe's..., 2004). V Sloveniji se košutnika še ne prideluje. V preteklosti so bili opravljeni le poskusi obnove naravnih rastišč, ki sta jih v 80-letih v okviru diplomske naloge izvajali Jankovič in Volčanšek (1984) na območju Snežnika.

Ogroženost košutnika v slovenskem in evropskem prostoru ter potrebe farmacevtske in živilsko predelovalne industrije po rastlinski drogi (*Gentianae radix*) so nas pripeljale do odločitve o poskusih uvajanja košutnika v pridelovanje. Pridelovanje košutnika je namreč nujen ukrep s stališča zagotavljanja kakovostne rastlinske droge za pokrivanje potreb industrije ter ohranjanja naravnih izvorov ogrožene rastlinske vrste.

## MATERIALI IN METODE

Za predmet raziskav smo izbrali dve avtohtoni populaciji bratinskega košutnika (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.), v delu opredeljeni kot ekotip Vremščica in ekotip Nanos. V letih 2001–2003 je bilo na omenjenih lokacijah nabrano seme. Genska vira sta bila vključena v Gensko banko zdravilnih in aromatičnih rastlin Slovenije pri Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.

Rastline bratinskega košutnika za poljski poskus so bile vzgojene v rastlinjaku. V spomladanskem času (marec) v letih 2002–2004 je potekala setev semen po predhodnem namakanju semen v raztopini giberelinske kisline (0,4 mg/ml). Vzkaljene rastline so bile po štirih tednih presajene iz setvenih plošč v večje lončke in gojene tekom leta na prostem, v zimskem času pa v rastlinjaku, kjer temperatura ni padla pod 0 °C, vse do sajenja rastlin na izbrane lokacije.

Poljski poskus je bil zastavljen jeseni leta 2002, spomladi leta 2003 in jeseni leta 2004. Za sajenje rastlin bratinskega košutnika smo izbrali tri lokacije, ki so se med seboj razlikovale glede na nadmorsko višino, podnebne in talne značilnosti.

Lokacija Vremščica je bila izbrana zaradi neposredne bližine naravnega rastišča bratinskega košutnika. Poskus je bil zasnovan na površinah planine Vremščica (807 m n.v.). Glede na naravno–geografsko regionalizacijo Slovenije se nahaja območje znotraj mezoregije Dinarski svet in mikroregije Pivško podolje in Vremščica (Fridl in sod., 1998). Lokacija Vogrsko pri Novi Gorici (51 m n.v.) je bila izbrana z namenom, da bi preučili možnosti gojenja bratinskega košutnika v nižinskem območju Vipavske doline. Po naravno–geografski regionalizaciji Slovenije leži lokacija Vogrsko znotraj mezoregije Sredozemski svet, v mikroregiji Vipavska dolina (Fridl in sod., 1998). Lokacija Podkraj (715 m n.v.), ki leži nad Vipavo, je predstavljala tretjo poskusno lokacijo v bližini naravnega rastišča bratinskega košutnika. Leži v mezoregiji Dinarski svet in mikroregiji Trnovski gozd, Nanos in Hrušica (Fridl in sod., 1998).

Za območje Vremščice in območje lokacije Podkraj je značilno zmerno celinsko podnebje zahodne in južne Slovenije. Za omenjen tip podnebja je značilna povprečna temperatura najhladnejšega meseca med 0 °C in –3 °C, povprečna temperatura najtoplejšega meseca pa med 15 °C in 20 °C. Tip padavinskega režima je submediteranski, s povprečno letno količino padavin od 1300 do 2800 mm. Na območju spodnje Vipavske doline, kjer leži lokacija Vogrsko, se pojavlja podnebni tip zalednega submediteranskega podnebja. Povprečna temperatura najhladnejšega meseca se giblje med 0 in 4 °C, povprečna temperatura najtoplejšega meseca pa med 20 °C in 22 °C. Tudi na tem območju se pojavlja submediteranski padavinski tip, s povprečno letno količino padavin od 1200 do 1700 mm (Ogrin, 1996).

Za lokacijo Podkraj so značilna rjava pokarbonatna tla, koluvialna, globoka, za lokacijo Vremščica rjava pokarbonatna tla na apnencu z roženci, plitva, za lokacijo Vogrsko pa zmerno močan hipoglej, hidromelioriran (Pedološka karta, ...2002). Analize tal z lokacij Vremščica, Vogrsko in Podkraj so bile opravljene v laboratoriju Centra za pedologijo in varstvo okolja na Biotehniški fakulteti v Ljubljani, Oddelek za agronomijo. Na lokacijah Vremščica in Vogrsko kažejo na s P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> siromašna tla in s K<sub>2</sub>O srednje preskrbljena tla (Leskošek, 1993). Na lokaciji Podkraj so tla zelo dobro preskrbljena s P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in K<sub>2</sub>O.

Poljski poskus je bil zastavljen kot bločni poskus, vsako obravnavanje je potekalo v štirih ponovitvah. Rastline smo sadili na medvrstno razdaljo 50 cm, razdalja med rastlinami v vrsti je bila 20 cm, razdalja med parcelami pa je znašala 50 cm. Prvi del poljskega poskusa smo na lokacijah Vogrsko in Vremščica zasnovali septembra 2002 z ekotipoma Vremščica in Nanos. Na obeh lokacijah smo posadili 80 rastlin ekotipa Vremščica in 96 rastlin ekotipa Nanos. Spomladansko sajenje v letu 2003 je potekalo v aprilu na vseh treh lokacijah - Vogrsko, Vremščica in Podkraj, v enaki poskusni zasnovi kot jesensko sajenje. Na lokaciji Vogrsko je bilo posajenih 96 rastlin posameznega ekotipa, na Vremščici 72 sadik ekotipa Vremščica in 96 sadik ekotipa Nanos. Na lokaciji Podkraj je bilo posajenih po 72 rastlin posameznega ekotipa. Žal je spomladi 2004 na lokaciji Podkraj, kjer je poljski poskus potekal, zaradi spremembe v lastništvu zemljišča, kljub podpisani pogodbi, zaradi slabe komunikacije med bivšim in sedanjim lastnikom, prišlo do uničenja poskusnega nasada. Nasad smo konec avgusta 2004 obnovili. Posajenih je bilo 140 rastlin obeh obravnavanih ekotipov.

Med rastjo so bile poskusne površine redno oskrbovane z okopavanjem in mehanskim odstranjevanjem plevelov. Na lokaciji Vogrsko, kjer je bil na razpolago vodni vir, so bile rastline občasno zalivane.

Konec aprila 2005 smo na lokacijah poljskega poskusa izkopali rastline za oceno pridelka in potencialne produktivnosti nasadov ter kemijske analize. Izkopane rastline smo očistili, jih sprali pod tekočo vodo ter osušili na zraku. Rastlinski material smo nato dali v papirnate vrečke in ga posušili v sušilniku pri temperaturi 40 °C. Določili smo tudi vsebnost suhe snovi v pridelanih koreninah. V ta namen smo odvzeli po 1 g svežega rastlinskega materiala posameznega vzorca, ga sušili na temperaturi 104 °C do konstantne suhe mase ter izračunali % suhe snovi. Rastlinski material smo nato zmleli in ga shranili v neprodušno zaprtih prahovkah za kemijske analize.

Vzorci za kemijske analize smo pripravili v laboratoriju Katedre za aplikativno botaniko in fiziologijo rastlin Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete po metodi, ki so jo opisali Glatz in sod. (2000). 500 mg zmletih korenin smo zatehtali v 10–ml centrifugirke in dodali 5 ml metanola. Centrifugirke z rastlinskim materialom in topilom smo za 10 min postavili v ultrazvočno kopel (Iskra PIO Sonis 4). Sledilo je 15–minutno centrifugiranje (centrifuga Tehnica Centric 322A) s 4200 obrati na minuto. Supernatant smo prefiltrirali skozi 0,45– $\mu$ m membranski filter (cellulose acetate filter, Sartorius AG) in ga shranili v vzorčne stekleničke za analizo. Celoten postopek priprave izvlečka je bil izveden pri sobni temperaturi.

Kemijske analize so bile opravljene v laboratoriju Katedre za aplikativno botaniko in fiziologijo rastlin Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete. Separacija in določitev genciopikrozida in amarogencina v izvlečkih korenin bratinskega košutnika je bila narejena po gradientni metodi, ki so jo opisali Menković in sod. (2000). Kromatografski pogoji na HPLC sistemu Spectra-Physics (črpalka P 4000 Spectra system, avtomatski podajalnik vzorcev AS 1000 Spectra system): detektor – UV-vis Spectra Focus; kolona – Lichrocart RP-18 (5 $\mu$ ) 250 x 4 mm (Merck); predkolona – Lichrocart RP-18 (5 $\mu$ ) 4 x 4 mm (Merck); volumen injiciranja – 20  $\mu$ l; mobilna faza A – acetonitril, mobilna faza B – bidestilirana voda z 1 % 0,1 N H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>; pretok mobilne faze – 1 ml/min; detekcija – 254 nm; trajanje analize – 50 min; operacijski sistem – OS/2 standard ed. (SYSLEVEL 5050); gradient za analizo: 0–5 min 98 % B; 5–18 min 90 % B; 20–25 min 85 % B; 30 min 70 % B; 40 min 30 % B; 50 min 0 % B.

Vsebnost sekundarnih metabolitov smo izračunali po metodi eksterne standarda. Uporabili smo standarde genciopikrozid (Roth) in amarogencin (Boehringer Ingelheim Pharma).

## REZULTATI IN RAZPRAVA

Pričujoče delo predstavlja poskus uvajanja bratinskega košutnika (*Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* Murb.) v pridelovanje v Sloveniji ter vrednotenje kakovosti pridelane droge. V poskus sta bili vključeni dve avtohtoni populaciji bratinskega košutnika, ekotipa Nanos in Vremščica. Poljski poskus smo postavili na treh različnih lokacijah, Vogrsko, Vremščica in Podkraj. Preučevali smo vpliv ekotipa, lokacije sajenja in termina sajenja na preživetje, pridelek in kakovost pridelane droge.

Pri zasnovi nasada košutnika je vzgoja sadik ključnega pomena. Raziskave v preteklosti so namreč pokazale, da je poljski vznik košutnika zelo slab, pa tudi nadaljnja rast in razvoj rastlin sta počasnejša v primerjavi s presajenimi vzgojenimi sadikami (Barralis in sod., 1978). V naši raziskavi smo setev semen in vzgojo sadik bratinskega košutnika z namenom zasnove poljskega poskusa z dvema ekotipoma, Nanos in Vremščica, ovrednotili z odstotkom vznika in odstotkom sejančkov, ki so preživeli presajanje v lončke. Odstotek vznika je bil statistično značilno različen za posamezen ekotip ( $p=0,002$ ). Pri ekotipu Nanos je bil vznik  $75 \pm 6$  %, pri ekotipu Vremščica pa  $63 \pm 5$  %. V odstotku sejančkov, ki so uspešno prestali presajanje v lončke, med ekotipoma ni bilo statistično značilnih razlik ( $p=0,10$ ). Pri ekotipu Nanos je preživelo je  $81 \pm 5$  % presajenih sejančkov, pri ekotipu Vremščica pa  $86 \pm 6$  %. Statistično značilen vpliv ekotipa košutnika na vznik sta zabeležila tudi Kretschmer in

Franz (1997) in sicer v poskusu, v katerega sta vključila ekotipe Auvergne, Bayern in Jura. Odstotek vznika treh ekotipov košutnika se je v omenjeni raziskavi gibal v podobnih mejah kot v naši raziskavi in sicer med 74 % in 81 %. Jankovič in Volčanšek (1984), ki sta izvajali poskuse obnovitve naravnih rastišč bratinskega košutnika, pa sta zabeležili nekoliko slabši vznik, 58 %.

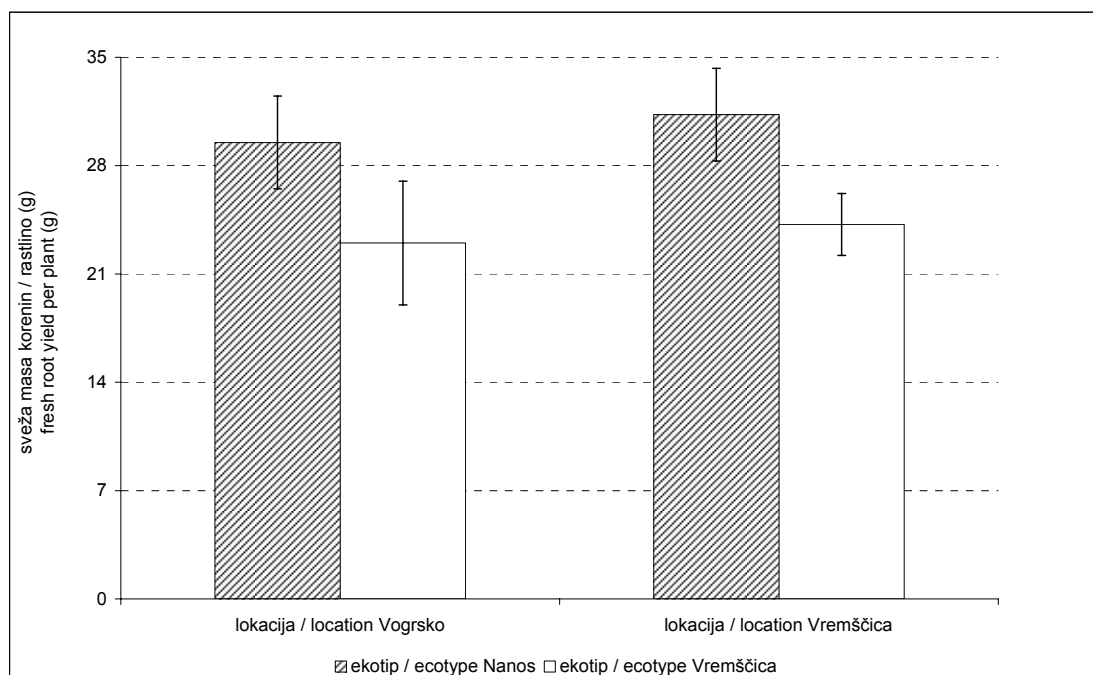
Preglednica 1: Odstotek preživelih rastlin bratinskega košutnika (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.) za ekotipa Nanos in Vremščica, posajenih v jesenskem času leta 2002 in spomladanskem času leta 2003, na lokacijah Vremščica in Vogrsko ter jesenskem času leta 2004 na lokaciji Podkraj. Prikazana so povprečja  $\pm$  SO.

Table 1: Percentage of survived plants of yellow gentian (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.) for ecotypes Nanos and Vremščica, planted in the autumn period of 2002 and in the spring period of 2003, on Vremščica and Vogrsko locations and on Podkraj location in the autumn period of 2004. Means  $\pm$  SD are presented.

Preživetje / Survival (%)	Jesen / Autumn		Pomlad / Spring	
	Nanos	Vremščica	Nanos	Vremščica
Ekotip / ecotype				
Lokacija / Location				
<b>Vogrsko</b>	40,8 $\pm$ 9,3	52,5 $\pm$ 8,5	38,8 $\pm$ 7,9	37,8 $\pm$ 9,5
<b>Vremščica</b>	57,3 $\pm$ 9,1	67,5 $\pm$ 5,1	—	—
<b>Podkraj</b>	86,5 $\pm$ 6,4	87,0 $\pm$ 6,7	87,5 $\pm$ 6,8	73,8 $\pm$ 16,2

V pregl. 1 je prikazano preživetje dveh ekotipov bratinskega košutnika po presajanju rastlin v nasad v dveh različnih terminih sajenja. Usodnega pomena za preživetje presajenih rastlin košutnika na njivsko površino so poletno pomanjkanje padavin oziroma suša in visoke temperature (Bezzi in Aiello, 1998). V našem poskusu sta na število preživelih rastlin v nasadu po sajenju pomembno vplivala termin in lokacija sajenja, medtem ko ekotip rastline na preživetje ni imel vpliva. Tudi Aiello in Bezzi (1998), ki sta v Italiji, na območju Trenta, izvajala poskuse kultivacije košutnika, razlik v preživetju v nasadu med obravnavanimi ekotipi (Jura, Baviera in Auvergne) nista zabeležila. V omenjeni raziskavi se je pokazalo, da je na lokacijah, kjer so poskusi potekali, priporočljivo spomladansko sajenje, saj so rastline posajene spomladi, preživele v večjem številu kot rastline posajene jeseni. V našem poskusu se na lokacijah Vogrsko in Podkraj statistično značilne razlike v številu preživelih rastlin, posajenih spomladi ali jeseni niso pokazale. Odstotek preživetja rastlin v nasadu se je na lokaciji Vogrsko gibal med 38 % in 53 %. Največ rastlin je pri obeh terminih sajenja preživelo na lokaciji Podkraj, med 74 % in 88 %. Na lokaciji Vremščica se je kot edini primeren termin sajenja pokazal jesenski čas, preživelo je okoli 60 % rastlin, spomladi posajene rastline pa zaradi poletne suše in visokih temperatur v letu 2003 niso preživele. Problem suše bi bilo mogoče rešiti z namakanjem, vendar na omenjeni lokaciji te možnosti ni bilo. S podobnimi težavami smo se srečevali tudi na lokaciji Vogrsko, vendar smo propad rastlin v ekstremno sušnem poletju leta 2003 (Mesečni bilten ARSO, 2005) uspešno rešili z namakanjem rastlin, ki je bilo na omenjeni lokaciji na voljo. Na lokaciji Podkraj namakanja ni bilo,

rastline so kljub temu preživele v velikem odstotku (74–88 %), kar kaže na to, da je mikroklima na omenjeni lokaciji in lega same lokacije za rast in razvoj rastlin bratinskega košutnika zelo ugodna. Jankovič in Volčanšek sta pri poletnem in jesenskem sajenju bratinskega košutnika na naravno rastišče na Snežniku zabeležili nekoliko večji odstotek preživetja, in sicer pri poletni sajenih rastlinah 80 %, pri jeseni sajenih pa kar 96 %. Naša raziskava je pokazala, da je v procesu uvajanja pridelovanja bratinskega košutnika potrebno preveriti primernost posamezne lokacije za gojenje košutnika, znotraj lokacije pa določiti čas v letu, ki je najprimernejši za zasnovo nasada. O podobnih izkušnjah poročata v svojem delu tudi Bezzi in Aiello (1993), ki sta izvajala poskuse na območju italijanskih Alp in Apeninov.



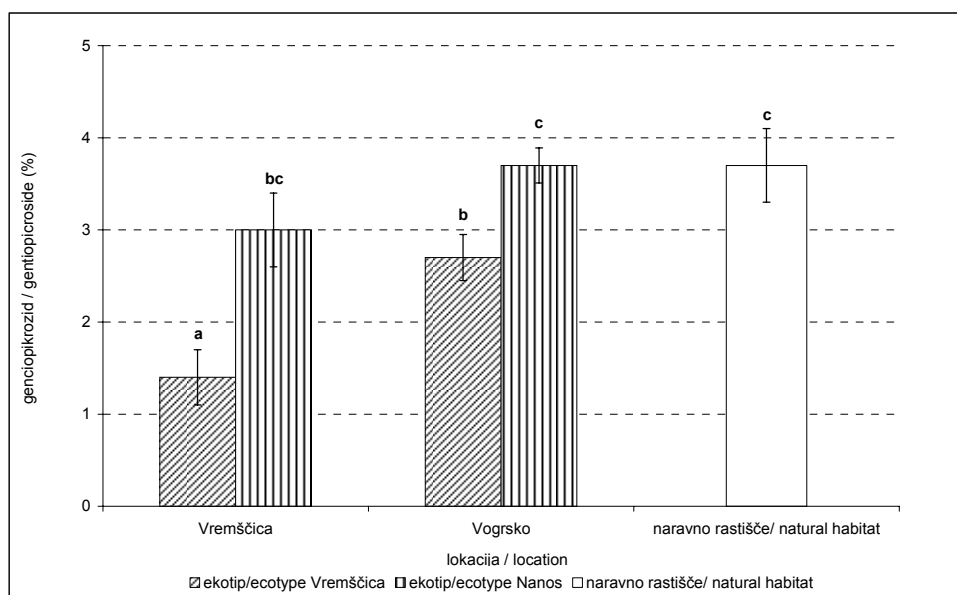
Slika 1: Sveža masa pridelanih korenin bratinskega košutnika (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.) na rastlino za ekotipa Nanos in Vremščica na lokacijah Vogrsko in Vremščica. Prikazana so povprečja  $\pm$  SO.

Figure 1: Fresh root yield per plant of yellow gentian (*Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb.) for Nanos and Vremščica ecotypes on Vogrsko and Vremščica locations. Means  $\pm$  SD are presented.

Aiello in Bezzi (1998) v svojem delu navajata, da se sveža masa pridelanih korenin po dveh letih gojenja giblje med 30 g in 40 g. V naših poskusih je bila sveža masa pridelanih korenin nekoliko manjša, gibala se je med 20 g in 30 g (sl. 1). Lokacija nasada ( $p=0,45$ ) in termin sajenja ( $p=0,13$ ) v nasad na pridelek korenin nista imela statistično značilnega vpliva, pač pa je bil pridelek korenin v nasadih odvisen od ekotipa rastline ( $p=0,02$ ). Pri ekotipu Nanos je bil pridelek korenin večji v primerjavi z ekotipom Vremščica. V poskusih, ki sta jih v 80-ih letih izvajala Aiello in Bezzi (1989), se je prav tako pokazala značilna odvisnost produktivnosti nasada od ekotipa sajenih rastlin košutnika. Ocena produktivnosti po dveh letih pridelovanja se je v odvisnosti od ekotipa gibala med 3,3 in 6,1 tone sveže mase korenin na hektar. Po šestih letih rasti so se ocene pridelka sveže mase korenin na hektar gibale med 18,3 in 22,1 tonami. Ocena potencialne produktivnosti, izražena v tonah sveže mase korenin

na hektar, se je v našem poskusu na lokacijah Vogrsko in Vremščica gibala med 2,3 in 3,1 tone sveže mase korenin na hektar po dveh letih pridelovanja. Kar pomeni, glede na izmerjen odstotek suhe snovi v koreninah, med 0,6 in 0,8 tone suhih korenin na hektar. Zaključimo torej lahko, da je bil pridelek korenin po dveh letih pridelovanja pričakovan glede na druge literaturne vire (Aiello in Bezzi, 1989, 1998).

Raziskave v preteklosti so pokazale, da na vsebnost grenčin v koreninah košutnika vpliva tako ekotip rastline kot lokacija pridelovanja oziroma nabiranja. Aiello in Bezzi (1998) poročata, da so korenine rastlin z naravnih rastišč bogatejše z grenčinami v primerjavi s pridelanimi koreninami. V našem poskusu velja omenjeno dejstvo le za ekotip Vremščica ( $p=0,002$ ), medtem ko med pridelanimi koreninami ekotipa Nanos in koreninami z naravnega rastišča (Nanos) ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti grenkih sekoiridoidov. Po drugem letu pridelovanja se je vsebnost genciopikrozida v pridelanih koreninah gibala med  $1,4 \pm 0,3$  % in  $3,7 \pm 0,2$  %, vsebnost amarogencina pa med  $0,1 \pm 0,01$  % in  $0,3 \pm 0,03$  % (sl. 2). Na vsebnost sekoiridoidov je poleg ekotipa vplivala tudi lokacija pridelovanja. Korenine, pridelane na lokaciji Vogrsko, so vsebovale značilno več genciopikrozida ( $p=0,01$ ) in amarogencina ( $p=0,03$ ) kot korenine, pridelane na lokaciji Vremščica. Termin sajenja rastlin v nasad na kakovost pridelanih korenin ni imel statistično značilnega vpliva ( $p=0,59$ ). Izmerjene vsebnosti obravnavanih učinkovin so bile približno trikrat večje

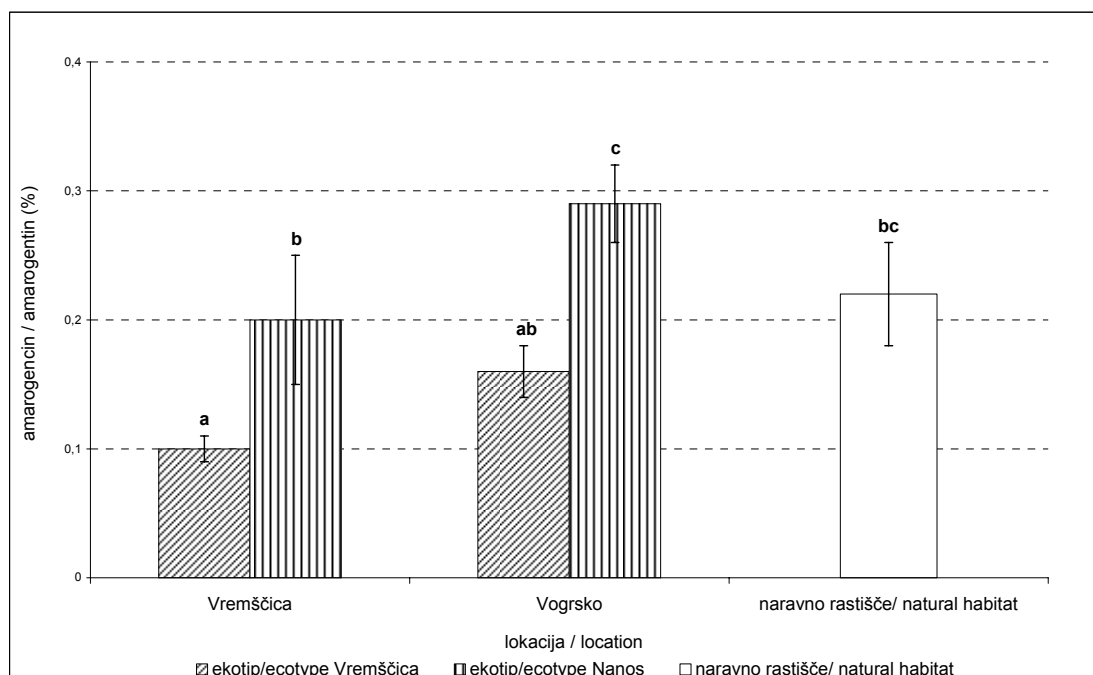


Slika 2: Vsebnost genciopikrozida v koreninah bratinskega košutnika, ekotipov Vremščica in Nanos, pridelanih na lokacijah Vremščica in Vogrsko, v primerjavi s koreninami, nabranimi na naravnem rastišču (Nanos) bratinskega košutnika. Podana so povprečja  $\pm$  SO, enaka črka nad stolpcem označuje obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test,  $p < 0,05$ ).

Figure 2: Gentiopicroside content in yellow gentian roots of Vremščica and Nanos ecotypes from Vremščica and Vogrsko plantations in comparison with roots harvested in natural habitat (Nanos) of yellow gentian. Means  $\pm$  SD are presented, different letters above columns mark statistically significant differences between the treatments (Duncan's test,  $p < 0.05$ ).



kot so jih Barralis in sod. (1978) izmerili v pridelanih koreninah košutnika na območju Francije. Žal nismo zasledili podatkov o podvrsti košutnika, ki so ga v omenjeni raziskavi pridelovali, vendar glede na manjšo vsebnost grenčin lahko sklepamo, da so imeli v poskusu podvrsto *Gentiana lutea* L. subsp. *lutea*, za katero najdemo v literaturi podatke, da je vsebnost grenčin v koreninah do 5 krat manjša kot v koreninah podvrste *Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murb. (Aiello in Bezzi, 1998). Za razliko od prej omenjene raziskave, pa sta Aiello in Bezzi (1989) po dveh letih pridelovanja v koreninah košutnika izmerila vsebnosti grenčin, ki sovpadajo z vsebnostmi, izmerjenimi v naših poskusih. Po vsej verjetnosti je šlo za pridelovanje iste podvrste.



Slika 3: Vsebnost amarogencina v koreninah bratinskega košutnika ekotipov Vremščica in Nanos, pridelanih na lokacijah Vremščica in Vogrsko, v primerjavi s koreninami nabranimi na naravnem rastišču (Nanos) bratinskega košutnika. Podana so povprečja  $\pm$  SO, enaka črka nad stolpcem označuje obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test,  $p < 0,05$ ).

Figure 3: Amarogentin content in yellow gentian roots of Vremščica and Nanos ecotype from Vremščica and Vogrsko locations in comparison with roots, harvested in natural habitat (Nanos) of yellow gentian. Means  $\pm$  SD are presented, different letters above columns mark statistically significant differences between the treatments (Duncan's test,  $p < 0.05$ ).

Na podlagi rezultatov našega poskusa o uvajanju bratinskega košutnika v pridelovanje lahko sklenemo, da je na območju Vipavske doline, znotraj katere ležita dve poskusni lokaciji, pridelovanje bratinskega košutnika možno, tako glede na preživetje rastlin po presajanju v nasad kot glede na pridelek in kakovost pridelane rastlinske droge. V prihodnje bo potrebno preveriti primernost lokacij za nasade košutnika tudi drugod po Sloveniji, saj je košutnik tržno zanimiva zdravilna rastlina. Prav gotovo pa predstavlja introdukcija rastline v pridelovanje v Sloveniji pomemben prispevek k ohranjanju

ogrožene rastlinske vrste na naravnih rastiščih in zagotavljanje kakovostnega rastlinskega materiala za pokrivanje potreb farmacevtske industrije in industrije alkoholnih pijač.

## SUMMARY

Yellow gentian (*Gentiana lutea* L.) is a medicinal plant, widely used in folk medicine as well as in pharmaceutical and food industry. Because of excessive and uncontrolled gathering of plants' roots from natural populations in the past, nowadays this plant has become a threatened plant species, included in the Red list of Slovenia. It is protected also elsewhere in Europe. The demand on drug plant, gentian roots, is still increasing. Plant seedling establishment and knowledge on plants' requirements for transplanting period play an important role in conservation of this plant species. The cultivation of this plant species has been recognized as a necessary measure to ensure raw materials for industry needs.

The present work presents an attempt to introduce a yellow gentian into cultivation in Slovenia and to evaluate the quality of harvested drug. Two autochthonous populations of yellow gentian were included into the experiment, the ecotypes Nanos and Vremščica. From the seeds of the above mentioned ecotypes, collected in the year 2001, plants for cultivation were brought up. Field experiment was established on three locations, Vogrsko, Vremščica and Podkraj. Impacts of ecotype, location and transplant period on survival, yield and quality of harvested drug were studied.

The location Podkraj was found out to be the most convenient location for yellow gentian cultivation. The survival of plants on this location was about 85 % in both planting periods (spring, autumn). On Vremščica location the only suitable planting period was autumn, when about 60 % of planted plants survived, while plants, planted in spring did not survive because of summer drought and high temperatures. The problems caused by drought and extreme high temperatures in summer 2003 on Vogrsko location were solved by irrigation. The planting period on this location had no impact on plant's survival, about 40 % of plants survived. Plant's ecotype had no impact on survival in none of experimental locations.

The yield after two years of cultivation was as expected, according to other literature sources (from 2.3 to 3.1 tones of fresh roots per hectare) (Aiello in Bezzi, 1989, 1998). A location of plantation had no impact on the yield, while an ecotype had. The quality of harvested drug was determined by the location and plant's ecotype. Roots, harvested on the location Vogrsko, contained significantly more secoiridoids than the roots harvested on the location Vremščica. On both locations ecotype Vremščica contained significantly less secoiridoids than ecotype Nanos. Secoiridoid contents in roots from natural habitat (Nanos) and those from harvested roots of Nanos ecotype were not statistically different, while the roots of the ecotype Vremščica contained significantly less secoiridoids than other two samples.

## VIRI

- Aiello, N., Bezzi, A. 1989. La coltivazione di *Gentiana lutea* L. in ambienti semiaridi del Trentino meridionale e dell'Appennino settentrionale e centrale. Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Assestamento Forestale e per l'Apicoltura, 9: 237–264.
- Aiello, N., Bezzi, A. 1998. Genziana maggiore (*Gentiana lutea* L.): aspetti biologici, qualitativi e produttivi. Agricoltura Ricerca, 176: 5–17.
- Baričevič, D., Zupančič, A. 2000. Biodiversity conservation of medicinal and aromatic plants in Europe – future imperative. V: Proceedings of the First Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries. Arandelovac, 29. May – 3. June 2000. Sekulović D., Radanović D. (ur.). Beograd, Institute for Medicinal Plant Research Josif Pančić: 81–88.
- Baričevič, D., Dedek, J., Bartol, T., Zupančič, A. 1996. Tržne možnosti zdravilnih in aromatičnih rastlin v Sloveniji. V: Novi izzivi v poljedelstvu '96. Radenci, 9.–10. december 1996. Šesek P. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 95–99.
- Barralis, G., Chadoeuf, R., Desmarest, P. 1978. New trends of *Gentiana lutea* cultivation. Acta Horticulturae, 73: 303–306.
- Bezzi, A., Aiello, N. 1993. The cultivation of yellow gentian (*Gentiana lutea* L.) on the pre-Alps and Apeninic mountains: results and applications. Acta Horticulturae, 331:19–26.
- Bloem, E., Haneklaus, S., Schnug, E. 2004. Influence of nitrogen and sulfur fertilization on the alliin content of onions and garlic. Journal of Plant Nutrition, 27, 10: 1827–1839.
- Council Directive on the Conservation of Natural Habitats and of Wild Fauna and Flora. 1992. 92/43/EEC.
- ESCOP monographs on the medicinal uses of plant drugs. 1997. Exeter, ESCOP (the European Scientific Cooperative on Phytotherapy): 570 str.
- Europe's Medicinal and aromatic plants: their use, trade and conservation. 2004. <http://www.traffic.org/plants/species-g.html> (september 2004).
- European pharmacopoeia. 2004. 5<sup>th</sup> edition. Strasbourg, European Directorate for Quality of Medicines, Council of Europe: 2779 str.
- Fridl, J., Kladnik, D., Orožen Adamič, M., Perko, D. 1998. Geografski atlas Slovenije. Država v prostoru in času. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 360 str.
- Galambosi, B. 2005. Acclimatization studies with cold tolerant medicinal plants in Finland. [http://www.ienica.net/specchemseminar/GALAMBOSI\\_copy\(1\).pdf](http://www.ienica.net/specchemseminar/GALAMBOSI_copy(1).pdf) (april 2005).
- Gaudin, M., Simonnet, X., Debrunner, N., Ryser, A. 2002. Breeding for a *Hypericum perforatum* L. variety both productive and *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) tolerant. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 9, 2/3: 107–120.
- Glatz, Z., Pospíšilová, J., Musil, P. 2000. Determination of gentiopicroside in extracts of *Centaureum erythrae* and *Gentiana lutea* by micellar electrokinetic capillary chromatography. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 23, 12: 1831–1839.
- Healing power from nature. 2002. Background article for a slide show/ Power Point Presentation entitled 'Healing Power from nature'. WWF/TRAFFIC Europe Germany in German: 42 str. (osebni vir, sept. 2002).
- Jankovič, M., Volčanšek, I. 1984. Biologija in kemizem vrste *Gentiana lutea* L. subsp.

*symphyandra* ter poskus obnovitve naravnih rastišč. Diplomsko delo. Ljubljana, BF, Oddelek za biologijo: 82 str.

- Kretschmer, M., Franz, C. 1997. Versuche zur Felddaussaat von *Gentiana lutea*. Gemüse, 1: 8–11.
- Leskošek, M. 1993. Gnojenje. Ljubljana, Kmečki glas: 197 str.
- Manukyan, A. E. 2004. The productivity and quality of some herbs under controlled environmental conditions: II. Medicinal and aromatic plants. Journal of Applied Botany and Food Quality, 78, 2: 104–111.
- Menković, N., Šavikin-Fodulović, K., Savin, K. 2000. Chemical composition and seasonal variations in the amount of secondary compounds in *Gentiana lutea* leaves and flowers. Planta Medica, 66: 178–180.
- Mesečni bilten ARSO. 2005. [http://www.arso.gov.si/o\\_agenciji/knji~znica/publikacije/bilten.htm\\_\(marec\\_2005\)](http://www.arso.gov.si/o_agenciji/knji~znica/publikacije/bilten.htm_(marec_2005)).
- Mukherjee, P.K. 2002. Quality control herbal drugs: An approach to evaluation of botanicals. New Delhi, Business Horizons: 800 str.
- Ogrin, D. 1996. Podnebni tipi v Sloveniji. Geografski vestnik, 68: 39–56.
- Pedološka karta Slovenije v merilu 1:25.000. 2002. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Center za pedologijo in varstvo okolja.
- Pravilnik o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam. Ur.l. RS, št. 82/2002.
- Skobrne, P. 2000. Grožnja: zaslužkarstvo in spreminjanje življenjskega prostora. Herbika, 6: 40–41.
- Strategija ohranjanja biotske raznovrstnosti v Sloveniji. 2002. Ljubljana, Ministrstvo za okolje in prostor republike Slovenije: 78 str.
- Uredba Sveta (EGS) o varstvu prosto prostoživečih živalskih in rastlinskih vrst z zakonsko ureditvijo trgovine z njimi. Council Regulation (EC) No. 338/97.
- WHO monographs on selected medicinal plants. 2005. <http://www.who.int/medicines/library/trm/medicinalplants/monographs.shtml> (2005).
- Zupančič, A. 2004. Morfološke, kemijske in genetske lastnosti avtohtonih populacij navadne dobre misli (*Origanum vulgare* ssp. *vulgare*). Doktorska disertacija. Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 153 str.