

Katedra Roślin Przemysłowych i Leczniczych, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin
e-mail: danuta.sugier@up.lublin.pl

DANUTA SUGIER

**Plon i skład chemiczny surowca arniki górskiej (*Arnica montana* L.)
w zależności od sposobu zakładania plantacji
i terminu zbioru koszyczków kwiatowych**

Yield and chemical composition of mountains arnica (*Arnica montana* L.) raw material in relation to the method of plantation establishment and the harvesting time of flower heads

Streszczenie. Badania przeprowadzono w latach 2008–2010 na dwu-, trzy- i czteroletniej plantacji arniki górskiej, zlokalizowanej na glebie płowej o składzie granulometrycznym piasku gliniastego mocnego. Celem eksperymentu było określenie wpływu sposobu zakładania plantacji i terminu zbioru koszyczków kwiatowych na plon surowca arniki górskiej oraz jego skład chemiczny. Uwzględniono następujące sposoby zakładania plantacji: z sadzonek pędowych uzyskanych w wyniku podziału roślin matecznych oraz z rozsady wyprodukowanej w tacach wielodoniczkowych. Zbiór prowadzono sukcesywnie w czterech fazach kwitnienia koszyczków kwiatowych: A – faza żółtego pąka, B – początek kwitnienia, C – pełnia kwitnienia, D – koniec kwitnienia. Z przeprowadzonych badań wynika, że dwuletnie rośliny arniki górskiej cechowały się mniejszym potencjałem plonowania niż rośliny trzy- i czteroletnie. Pod względem wielkości plonu bardziej korzystne okazało się zakładanie plantacji z rozsady niż z sadzonek pędowych. Z kolei termin zbioru koszyczków kwiatowych istotnie wpływał na zawartość substancji biologicznie czynnych. Zawartość laktonów seskwiterpenowych systematycznie zwiększała się wraz z opóźnianiem zbiorów, a więc od fazy żółtego pąka do końca kwitnienia. Najwięcej kwercetyny gromadziły koszyczki zbierane na początku kwitnienia, natomiast najwięcej olejku eterycznego – w pełni kwitnienia arniki.

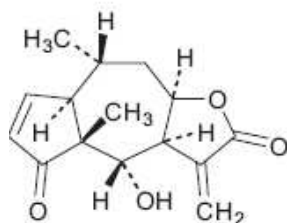
Słowa kluczowe: arnika górska, plon koszyczków kwiatowych, laktony seskwiterpenowe, kwercetyna, olejek eteryczny

WSTĘP

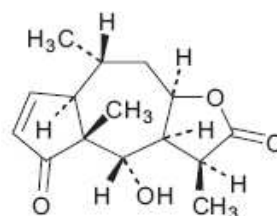
Arnika górska (*Arnica montana* L.) dostarcza surowca farmakopealnego w postaci koszyczków kwiatowych (*Arnicae anthodium*) o przyjemnym, swoistym i aromatycznym

zapachu oraz gorzkim, ostrym i piekącym smaku [Farmakopea Polska VIII 2008]. W medycynie ludowej i homeopatii wykorzystuje się również kłącza z korzeniami (*Arnicae rhizoma*), liście (*Arnicae folium*), a także ziele (*Arnicae herba*) [Brinkhaus i in. 2006]. Farmakopea Polska VI [2002] oraz Komisja Europejska za surowiec farmaceutyczny uznawała zarówno kwiaty arniki górskiej, jak i łąkowej (*Arnica chamissonis* Less.). Natomiast monografie opracowane przez ESCOP, Komisję Farmakopei Europejskiej [Jambor 2006] oraz Farmakopea Polska VIII [2008] uznają za surowiec leczniczy wyłącznie arnikę górską.

Popularność i szerokie zastosowanie arniki górskiej wynika z zawartości w tej roślinie dużej grupy substancji biologicznie aktywnych. W koszyczkach kwiatowych potwierdzono występowanie m.in. laktonów seskwiterpenowych, flawonoidów, olejków eterycznych, kwasów fenolowych (kawowy i chlorogenowy), kumaryn, goryczy, garbników, saponin i fitosteroli [Ganzera i in. 2008, Judžentienė i Būdienė 2009, Gawlik-Dziki i in. 2011, Weremczuk-Jeżyna i in. 2011, Aiello i in. 2012a]. Obecnie uważa się, że najważniejszą grupą związków chemicznych w surowcu są laktony seskwiterpenowe typu pseudogwajanolidów, z których najważniejsza jest helenalina i 11 α , 13 dihydrohelenalina.



helenalina/helenalin

11 α , 13 dihydrohelenalina/11 α , 13 dihydrohelenalin

Substancje te działają przeciwzapalnie, antyseptycznie, antybakteryjnie, przyspieszają wchłanianie wybroczyn, wzmacniają ścianki naczyń włosowatych, zapobiegają tworzeniu się zakrzepów żylnych, obniżają ciśnienie tętnicze krwi i zwalniają akcję serca. Łagodzą także bóle artretyczne. Wyciągi z arniki stosuje się zewnętrznie w leczeniu krwiałków, stłuczeń, zwichnięć i obrzęków pourazowych [Ganzera i in. 2008, Merfort 2010]. Ponadto nalewki z arniki wykazują dużą aktywność antyoksydacyjną, co może wskazywać na ich użyteczność w zapobieganiu chorobom o podłożu wolnorodnikowym lub łagodzeniu ich przebiegu [Gawlik-Dziki i in. 2011].

Na rynku surowców zielarskich powstał poważny problem związany z pozyskiwaniem koszyczków kwiatowych arniki, gdyż w konsekwencji długotrwałej eksploatacji tego gatunku nastąpiło znaczne ograniczenie jego naturalnych stanowisk w Europie. Aktualnie arnika górską objęta jest ochroną całkowitą zarówno w Polsce, jak i w wielu krajach europejskich, a zbiór ze stanu naturalnego jest zabroniony [Korneck i in. 1996, Zarzycki i Szela 2006, Falniowski i in. 2012]. Z danych zamieszczonych w literaturze światowej [Lange 1998, Kahmen i Poschlod 2000, Luijten i in. 2000, Luijten i in. 2002, Van den Berg i in. 2003, Michler 2007] i polskiej [Kozłowski i in. 1999, Forycka i in. 2004, Forycka i Buchwald 2008, Wołkowycki 2012] wynika, że ograniczone zasoby naturalne, zanikanie stanowisk naturalnych, a przede wszystkim rosnące zapotrzebowanie na surowiec [Burfield 2010] wyraźnie wskazują na potrzebę poznania agrotechniki

tego gatunku w celu prowadzenia produkcji surowcowej. Badania z tego zakresu prowadzone są zarówno w Polsce [Sugier i Gawlik-Dziki 2009, Sugier i in. 2013], jak i w innych krajach Europy [Delabays i Mange 1991, Bomme i in. 1995a, Bomme i in. 1995b, Galambosi 2004, Radanović i in. 2007, Aiello i in. 2012b, Pljevljakušić i in. 2012].

Wprowadzenie do uprawy nowego gatunku wymaga opracowania podstawowych parametrów agrotechnicznych. Jednym z nich jest sposób zakładania plantacji oraz określenie fazy rozwojowej, w jakiej należy zbierać kwiaty, by uzyskać wysoki i dobry jakościowo plon surowca. Ponadto rosnące wymagania przemysłu farmaceutycznego dotyczące jakości surowca skłaniają do podjęcia badań mających na celu zwiększenie plonowania roślin oraz zawartości w nich związków czynnych. Mając na uwadze powyższe zagadnienia, podjęto badania nad oceną wpływu sposobu zakładania plantacji i terminu zbioru koszyczków kwiatowych na plon oraz skład chemiczny surowca arniki górskiej.

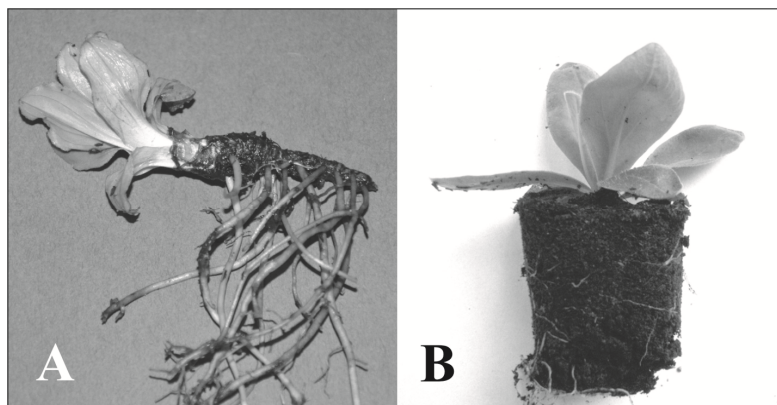
MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie polowe przeprowadzono w latach 2008–2010 na dwu-, trzy- i czteroletniej plantacji arniki górskiej, zlokalizowanej na glebie płowej o składzie granulometrycznym piasku gliniastego mocnego. Gleba charakteryzowała się kwaśnym odczynem (pH KCl – 5,38), średnią zawartością próchnicy (1,41%) i fosforu (55,4 mg P·kg⁻¹), małą potasu (64,9 mg K·ha⁻¹) i bardzo małą magnezu (12,5 mg Mg·kg⁻¹).

Doświadczenie polowe założono pod koniec pierwszej dekady maja 2007 r. Przedplonem arniki były ziemniaki uprawiane na pełnej dawce obornika. Jesienią 2006 r. wykonywano głęboką orkę, zaś wiosną przed założeniem plantacji zastosowano agregat uprawowy w celu dokładnego doprawienia gleby i wyrównania pola. Do założenia doświadczenia wykorzystano nasiona i sadzonki uzyskane z kolekcji własnej roślin zielarskich Katedry Roślin Przemysłowych i Leczniczych Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. W pierwszym roku uprawy rośliny arniki wytwarzały rozety liściowe.

Doświadczenie założono w układzie split-plot w czterech powtórzeniach na poletkach o powierzchni 6 m² (75 roślin na poletku). Czynnikiem pierwszego rzędu były dwa sposoby zakładania plantacji, z sadzonek pędowych uzyskanych w wyniku podziału roślin matecznych oraz z rozsady wyprodukowanej w tacach wielodoniczkowych. Sadzonki pozyskane z 5-letnich roślin matecznych wysadzano na plantację w pierwszej dekadzie maja. Sadzonki miały od 4 do 6 liści i charakteryzowały się dobrze rozwiniętą częścią podziemną, składającą się z walcowatego kłącza o długości 6–8 cm oraz z 8–10 korzeni przybyszowych (fot. 1 A). W celu uzyskania rozsady nasiona arniki wysiewano w ogrzewanej szklarni (I dekada marca) do tac wielodoniczkowych. Podłożem do produkcji rozsady był sterylizowany substrat torfowy przeznaczony do uprawy warzyw i roślin leczniczych, wymieszany z glebą z plantacji arniki, co umożliwia przeniesienie przetrwalników grzyba glebowego i zapewnienie roślinom właściwego symbionta [Jurkiewicz i in. 2010, Ryszka i in. 2010]. Wschody notowano po upływie 20–24 dni, były one dość równomierne i wyrównane. Rozsadę w fazie 4–6 liści (fot. 1 B), po wcześniejszym 14-dniowym hartowaniu (ograniczanie podlewania i silne wietrzenie) wysadzono na miejsce stałe pod koniec pierwszej dekady maja. Przy obydwu sposobach zakładania plantacji zachowano taką samą rozstawę roślin 40 × 20 cm, przy obsadzie 125 000 szt.·ha⁻¹.

Czynnikiem drugiego rzędu był termin zbioru koszyczków kwiatowych: A – faza żółtego pąka (pąki kwiatowe w pełni wykształcone, kwiaty języczkowe nierozchylone, kwiaty rurkowe zamknięte); B – początek kwitnienia (kwiaty rurkowe otwarte w dwóch rzędach koszyczka kwiatowego, kwiaty języczkowe rozchylone); C – pełnia kwitnienia (połowa kwiatów rurkowych otwarta); D – koniec kwitnienia (wszystkie kwiaty rurkowe otwarte, kwiaty języczkowe zasychają).



Fot. 1. Sadzonki pędowe (A) i rozsada (B) arniki górskiej
Phot.1. Shoot cutting (A) and transplant (B) mountain arnica

Jesienią każdego roku we wszystkich obiektach zastosowano nawożenie fosforowo-potasowe w dawkach na 1 ha: 24,0 kg P i 66,4 kg K. Nawozy azotowe w łącznej dawce 40 kg N·ha⁻¹ stosowano dwukrotnie, wiosną przed rozpoczęciem wegetacji i po zbiorze koszyczków kwiatowych. W okresie wegetacji roślin wykonano zabiegi pielęgnacyjne, polegające na płytkim (do 2 cm) spulchnianiu międzyrzędzi i trzykrotnym ręcznym odchwasczaniu.

Koszyczki kwiatowe zbierano z całego poletka sukcesywnie według zaplanowanego schematu badań. Po każdym zbiorze określono świeżą, a następnie po wysuszeniu, suchą masę z poletka, co umożliwiło ustalenie ich plonu z poszczególnych obiektów badawczych. Bezpośrednio po zbiorze koszyczki były suszone w suszarni, w temperaturze 40°C. Po wysuszeniu surowiec (próby zbiorcze ze wszystkich zbiorów) poddano analizom chemicznym.

Oznaczenie zawartości sumy laktonów seskwiterpenowych przeprowadzono wg Farmakopei Polskiej VIII [2008], przy użyciu chromatografu cieczowego Varian Pro-Star z detektorem spektrofotometrycznym UV-ViS. Flawonoidy w przeliczeniu na kwercetynę oznaczono metodą spektrofotometryczną wg Farmakopei Polskiej VI [2002], przy użyciu spektrofotometru UV-VIS firmy Hitachi, natomiast zawartość olejku eterycznego wg Farmakopei Polskiej VI [2002]. Hydrodestylację surowca wykonywano w aparatach Derynga przez 3 godziny, wykorzystując metodę II z użyciem m-ksylenu. Każdą z analiz przeprowadzono w 3 powtórzeniach.

Wyniki dotyczące plonu i składu chemicznego koszyczków kwiatowych opracowano statystycznie za pomocą programu Statistica. Dane liczbowe poddano analizie wariancji (ANOVA) i obliczono najmniejsze istotne różnice testem Tukeya na poziomie ufności 0,05.

WYNIKI I DYSKUSJA

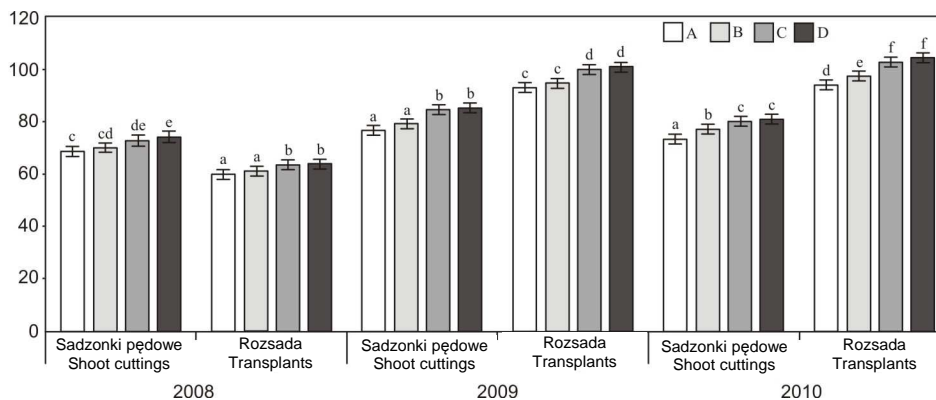
Wzrost i plonowanie roślin w znacznym stopniu zależą od przebiegu pogody w sezonie wegetacyjnym. W przypadku arniki górskiej bardzo ważny jest okres tworzenia koszyczków kwiatowych. Kwitnienie arniki w warunkach uprawy polowej w Polsce wschodniej trwa od końca maja do drugiej dekady czerwca [Sugier 2007]. Przebieg pogody w tej fazie w trzyletnim okresie prowadzenia badań był zróżnicowany, ale na ogół korzystny dla plonowania arniki (tab. 1). Najbardziej sprzyjający dla wzrostu i rozwoju roślin okazał się ciepły i umiarkowanie wilgotny rok 2010, w którym notowano optymalny rozkład opadów w okresie intensywnego wzrostu roślin (pierwsza i druga dekada maja), przez co warunki pogodowe przyczyniły się do uzyskania wysokich plonów surowca.

Tabela 1. Dane meteorologiczne (Obserwatorium Agrometeorologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie – Felin)
Table 1. Meteorological data (Agrometeorological Observatory of University of Life Sciences in Lublin – Felin)

Miesiąc Month	Dekada Decade	Temperatura powietrza w °C Air temperature in °C				Suma opadów w mm Rainfall sum in mm			
		2008	2009	2010	1951–2000	2008	2009	2010	1951–2000
Maj May	I	11,3	13,6	13,6	11,6	57,1	3,6	39,7	16,6
	II	13,3	13,1	14,5	13,6	34,7	34,6	106,7	18,3
	III	13,6	14,2	15,2	13,7	9,8	32,9	10,3	23,5
Średnia/suma Mean/sum		12,8	13,6	14,5	13,0	101,6	71,1	156,7	58,4
Czerwiec June	I	18,0	15,3	19,0	16,0	0,0	28,2	34,6	20,8
	II	16,4	15,0	17,9	16,3	19,6	32,7	30,2	21,2
	III	18,9	19,1	17,1	17,1	6,3	64,6	0,8	23,8
Średnia/suma Mean/sum		17,7	16,4	18,0	16,5	25,9	125,5	65,6	65,8
Lipiec July	I	17,2	19,9	20,2	17,4	39,6	15,6	15,3	23,5
	II	18,8	20,5	24,0	18,2	19,3	9,8	9,8	25,7
	III	18,9	19,3	20,7	18,0	18,2	31,7	75,9	29,0
Średnia/suma Mean/sum		18,3	19,3	21,6	17,9	77,1	57,1	101,0	78,2
Sierpień August	I	19,9	20,0	22,9	18,5	11,4	16,2	65,6	23,8
	II	20,8	18,9	18,1	17,4	7,0	29,9	6,9	27,0
	III	17,3	17,3	17,1	15,2	26,6	8,6	60,3	19,3
Średnia/suma Mean/sum		19,3	19,0	20,2	17,3	45,0	54,7	132,8	70,1
Średnia/suma Mean/sum		17,0	17,1	18,5	16,1	249,6	308,4	456,1	272,5

Sposób zakładania plantacji istotnie różnicował plony koszyczków kwiatowych arniki (rys. 1). W drugim roku wegetacji wyższy plon koszyczków kwiatowych (średnio o 15,2%) otrzymano w obiekcie z sadzonkami pędowymi. Jednak w dwóch kolejnych latach zdecydowanie wyższe plony surowca (o 19,8% i 27,8%) uzyskano w obiektach,

gdzie zakładano plantację z rozsady. Również w opinii wielu autorów [Kordana i Mordalski 2001, Sugier 2003, Andruszczak 2004, Andruszczak i Wiśniewski 2006, Kołodziej 2009, Kołodziej i Winiarska 2012] wysadzanie rozsady przygotowanej w tacach wielodoniczkowych jest dobrą metodą zakładania plantacji wielu gatunków roślin zielarskich.



Rys. 1. Plon powietrznie suchej masy koszyczków kwiatowych *Arnica montana* ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$), w zależności od badanych czynników; A – faza żółtego pąka, B – początek kwitnienia, C – pełnia kwitnienia, D – koniec kwitnienia. Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się między sobą istotnie przy $p = 0,05$

Fig. 1. Yield of dry mass flower heads *Arnica montana* ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$) depending on the experimental factors; A – stage of yellow bud, B – beginning of flowering, C – full of flowering, D – end of flowering. Means followed by the same letter do not differ significantly at $p = 0.05$

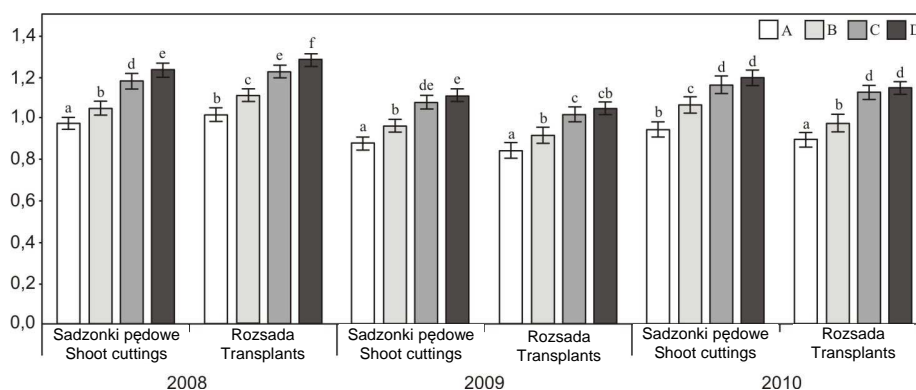
Na ocenianych obiektach arniki uprawianej z rozsady wysokie plony surowca otrzymano w trzecim i czwartym roku uprawy (odpowiednio $97,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ i $99,7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$). Z kolei rośliny pochodzące z sadzonek pędowych wykazywały istotnie mniejszy potencjał plonowania, a maksymalny plon koszyczków kwiatowych uzyskano w trzecim roku wegetacji (średnio $85,1 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$). Także w badaniach przeprowadzonych przez Sugier i Gawlik-Dziki [2009] oraz Radanović i in. [2007] arnika górską wykazywała największy potencjał plonotwórczy w trzecim roku uprawy, zaś arnika uprawiana w Finlandii najlepiej plonowała w czwartym roku [Galambosi i in. 1998]. Uzyskane plony można uznać za zadowalające, zbliżone do tych, jakie uzyskano wcześniej w Polsce [Sugier i Gawlik-Dziki 2009, Sugier i in. 2013], nieco niższe niż w Niemczech [Bomme i in. 1995a, 1995b] i Finlandii [Galambosi i in. 1998], zaś zdecydowanie wyższe niż we Włoszech, Szwajcarii i Serbii [Bezzi i Ghidini 1988, Delabays i Mange 1991, Radanović i in. 2007].

Przy obydwu sposobach zakładania plantacji arnika najslabiej plonowała w drugim roku uprawy. Plon koszyczków kwiatowych zebrany w obiektach z rozsadą mieścił się w zakresie $59,6\text{--}64,1 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$, natomiast na poletkach z sadzonkami pędowymi był wyższy o ponad 10% ($68,9\text{--}74,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$). Otrzymane plony koszyczków były wyższe od uzyskanych przez Aiello i in. [2012b] oraz Galambosi [2004], ale niższe od tych, które odnotowali Bomme i Nast [1998].

Plon surowca zależał istotnie od terminu zbioru koszyczków kwiatowych, a jego wpływ w coraz większym stopniu uwidaczniał się w kolejnych latach uprawy arniki (odpowiednio o 7,7%, 9,8% i 11,0%). Stwierdzono, że wraz z opóźnianiem zbioru wzrastał plon surowca, niezależnie od sposobu zakładania plantacji i przebiegu pogody w latach badań (rys. 1).

W przeprowadzonych badaniach dokonano oceny chemicznej otrzymanego surowca uwzględniającej zawartość laktonów seskwiterpenowych, flawonoidów w przeliczeniu na kwercetynę oraz olejku eterycznego.

Zawartość laktonów seskwiterpenowych w koszyczkach arniki istotnie zależała od terminu zbioru koszyczków. Ich koncentracja zwiększała się w miarę opóźniania zbiorów (rys. 2). Niezależnie od sposobu zakładania plantacji surowiec pozyskiwany pod koniec kwitnienia koszyczków gromadził najwięcej laktonów (średnio 1,17%), zaś najmniej tego składnika (średnio 0,92%) stwierdzono w surowcu, który zbierany był w fazie żółtego pąka. Wyniki te są zgodne z doniesieniami Douglas i in. [2004], według których zawartość laktonów w koszyczkach kwiatowych arniki systematycznie zwiększa się od fazy pąków kwiatowych do momentu pojawienia się owoców.



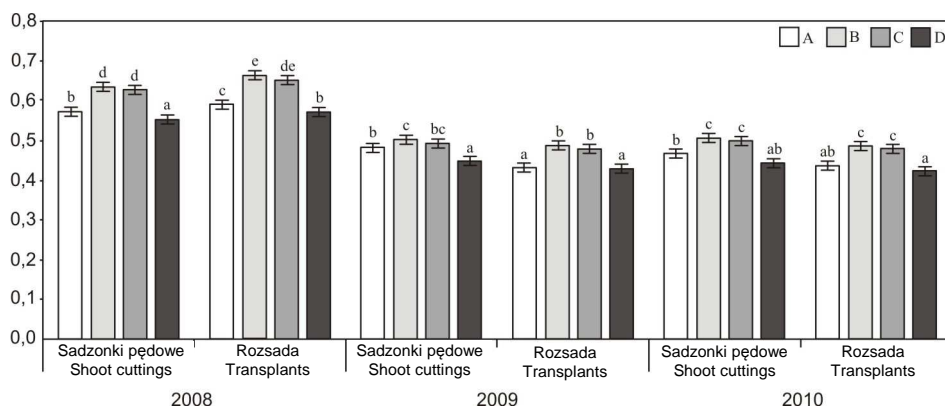
Rys. 2. Zawartość laktonów seskwiterpenowych w koszyczkach kwiatowych *Arnica montana* (%) w zależności od badanych czynników; A – faza żółtego pąka, B – początek kwitnienia, C – pełnia kwitnienia, D – koniec kwitnienia. Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się między sobą istotnie przy $p = 0,05$

Fig. 2. Lactones sesquiterpene content in flower heads *Arnica montana* (%) depending on the experimental factor, A – stage of yellow bud, B – beginning of flowering, C – full of flowering, D – end of flowering. Means followed by the same letter do not differ significantly at $p = 0.05$

Na podstawie przeprowadzonych analiz chromatograficznych stwierdzono, że zawartość laktonów w badanym surowcu mieściła się w szerokim zakresie od 0,85% do 1,28% (rys. 2). Przedstawione wartości są zdecydowanie większe od podanych (0,4%) w Farmakopei Europejskiej V [2005] i Farmakopei Polskiej VIII [2008], zaś mieszczą się w zakresach podawanych przez innych autorów: Bomme [1999] średnio 0,8%, Douglas i in. [2004] – od 0,66% do 0,94%, Seemann i in. [2010] – od 0,40% do 1,55%, Aiello i in. [2012b] – od 0,45% do 1,51%, Dall'Acqua i in. [2012] – od 0,54% do 1,50%. Bardzo wysoką zawartość laktonów w koszyczkach arniki podaje natomiast Radanović i in. [2007] – od 1,21% do 3,12%.

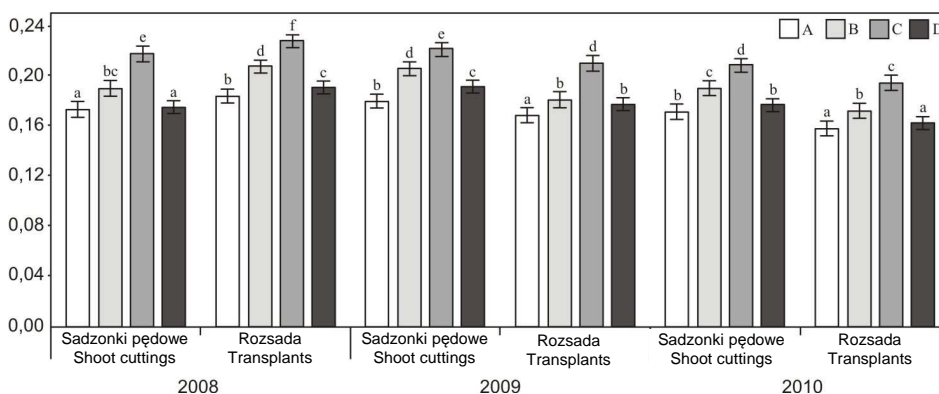
W przeprowadzonych badaniach zawartość flawonoidów w koszyczkach kwiatowych arniki górskiej, w przeliczeniu na kwercetynę, mieściła się w szerokim zakresie od 0,43% do 0,67% (rys. 3), co jest potwierdzeniem wcześniejszych badań Sugier i Gawlik-Dziki [2009]. Termin zbioru istotnie modyfikował zawartość kwercetyny w surowcu. Bardziej korzystne pod względem koncentracji flawonoidów jest pozyskiwanie kwiatostanów na początku i w połowie kwitnienia koszyczków arniki (odpowiednio, 0,55%

i 0,54%). Opóźnienie terminu zbioru spowodowało zmniejszenie zawartości kwercetyny do 0,48%. Analizy chemiczne wykazały, że koszyczki kwiatowe roślin dwuletnich zawierały przeciętnie 0,61% flawonoidów, podczas gdy trzy- i czteroletnie zaledwie 0,48% i 0,47%. Wymagana zawartość flawonoidów, w przeliczeniu na kwercetynę, w surowcu arniki według Farmakopei Polskiej VI [2002] wynosi nie mniej niż 0,4%, a więc otrzymany surowiec uzyskany ze wszystkich kombinacji eksperymentu spełniał stawiane wymogi.



Rys. 3. Zawartość kwercetyny w koszyczkach kwiatowych *Arnica montana* (%) w zależności od badanych czynników; A – faza żółtego pąka, B – początek kwitnienia, C – pełnia kwitnienia, D – koniec kwitnienia. Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się między sobą istotnie przy $p = 0,05$

Fig. 3. Quercetine content in flower heads *Arnica montana* (%) depending on the experimental factors; A – stage of yellow bud, B – beginning of flowering, C – full of flowering, D – end of flowering. Means followed by the same letter do not differ significantly at $p = 0.05$



Rys. 4. Zawartość olejku eterycznego w koszyczkach kwiatowych *Arnica montana* (%) w zależności od badanych czynników; A – faza żółtego pąka, B – początek kwitnienia, C – pełnia kwitnienia, D – koniec kwitnienia. Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się między sobą istotnie przy $p = 0,05$

Fig. 4. Essential oil content in flower heads *Arnica montana* (%) depending on the experimental factors; A – stage of yellow bud, B – beginning of flowering, C – full of flowering, D – end of flowering. Means followed by the same letter do not differ significantly at $p = 0.05$

Średnia zawartość olejku eterycznego w badanych koszyczkach kwiatowych wynosiła 0,19%. Najwięcej zawierały go kwiatostany roślin dwuletnich uprawianych z rozsady, zbierane w połowie kwitnienia (średnio, 0,23%), zaś najmniej surowiec pozyskiwany z roślin czteroletnich, pochodzący z sadzonek pędowych, zbierany w fazie żółtego pąka (średnio 0,16%). Wykazano istotną zależność koncentracji olejku w koszyczkach kwiatowych od terminu zbioru. Jego zawartość zwiększała się regularnie od fazy żółtego pąka do połowy kwitnienia, po czym pod koniec kwitnienia malała. Koszyczki kwiatowe arniki odznaczały się przeciętną koncentracją olejku eterycznego. Z badań Willuhn [1996] wynika, że jego zawartość w koszyczkach arniki wynosi od 0,23% do 0,35%, ale Ristic i in. [2007] podają mniejszą zawartość – 0,1%. Koszyczki kwiatowe pozyskiwane z roślin dwu-, trzy- i czteroletnich, niezależnie od badanych czynników doświadczenia, charakteryzowały się zbliżoną zawartością olejku eterycznego (odpowiednio, 0,20, 0,19 i 0,18%).

WNIOSKI

1. Sposób zakładania plantacji miał wpływ na wielkość plonu koszyczków kwiatowych arniki. W drugim roku uprawy lepsze efekty uzyskano, wysadzając sadzonki pędowe, natomiast w kolejnych dwóch latach prowadzenia doświadczenia wyższy plon uzyskano w obiektach, gdzie rośliny uprawiano z rozsady.

2. Plon surowca zależał istotnie od terminu zbioru koszyczków kwiatowych. Wraz z opóźnieniem zbioru od fazy żółtego pąka do końca kwitnienia notowano zwiększenie plonu surowca.

3. Skład chemiczny surowca zależał od terminu zbioru koszyczków kwiatowych. Zawartość laktonów seskwiterpenowych systematycznie zwiększała się od fazy żółtego pąka do końca kwitnienia. Najwięcej flawonoidów w przeliczeniu na kwercetynę gromadziły koszyczki zbierane na początku i w połowie kwitnienia. Największą koncentrację olejku eterycznego stwierdzono w surowcu pozyskiwanym w połowie kwitnienia koszyczków.

4. Na podstawie przeprowadzonej oceny chemicznej stwierdzono, że badany surowiec spełnia wymogi FP VIII (pod względem zawartości laktonów seskwiterpenowych) i FP VI (pod względem zawartości flawonoidów w przeliczeniu na kwercetynę).

PIŚMIENNICTWO

- Aiello N., Bontempo R., Vender C., Ferretti V., Innocenti G., Dall'Acqua S., 2012a. Morpho-quantitative and qualitative traits of *Arnica montana* L. wild accessions of Trentino, Italy. *Industrial Crops and Products*, 40, 199–203.
- Aiello N., Scartezzini F., Vender C., 2012b. Cultivation trial of *Arnica montana* wild accessions – Results of the second year. *Acta Hort.* 955, 253–257.
- Andruszczak S., 2004. Wpływ sposobu zakładania plantacji i terminu zbioru liści na plonowanie lubczyku ogrodowego (*Levisticum officinale* L.) *Annales UMCS, sec. E, Agricultura* 59, 3, 1049–1059.
- Andruszczak S., Wiśniewski J., 2006. Wpływ sposobu zakładania plantacji na wielkość i jakość plonu korzeni prawoślazu lekarskiego (*Althaea officinalis* L.). *Acta Agrophysica* 8 (2), 291–298.
- Bezzi A., Ghidini G., 1989. Prime esperienze di coltivazione di *Arnica montana* L. sulle Alpi meridionali e sull'Appennino settentrionale. *Annali ISAFa, Trento* XI, 305–320.

- Bomme U., Mittermeier M., Regenhardt I., 1995a. Ergebnisse zur Entwicklung eines Verfahrens fuer den feldmaefigen Anbau von *Arnica montana* L. (1 Mitteilung). Drogen Report 8 (12), 5–10
- Bomme U., Mittermeier M., Regenhardt I., 1995b. Ergebnisse zur Entwicklung eines Verfahrens fuer den feldmaefigen Anbau von *Arnica montana* L. (2 Mitteilung). Drogen Report 8 (13), 3–11.
- Bomme U., Nast D., 1998. Nährstoffentzug und ordnungsgemäße Düngung im Feldanbau von Heil- und Gewürzpflanzen. Zeitschrift für Arznei-Gewürzpfl. 3 (2), 82–90.
- Bomme U., 1999. Anbau und Züchtung von *Arnica montana* L. Zeitschrift für Arznei-Gewürzpfl. 4(4), 202–203.
- Brinkhaus B., Wilkens J.M., Lüdtker R., Hunger J., Witt C.M., Willich S.N., 2006. Homeopathic arnica therapy in patients receiving knee surgery, results of three randomised double-blind trials. Compl. Ther. Med. 14, 237–246.
- Burfield T., 2010. Arnica, Updated list of threatened aromatic plants used in the aroma & cosmetic industries (v 1.21 Mar. 2010), <http://www.cropwatch.org/>.
- Dall'Acqua S., Innocenti G., Ferretti V., Aiello N., Scartezzini F., Vender C. 2012. Qualitative analysis of *Arnica montana* wild accessions compared in field, results of the second year. Acta Hort. 955, 325–327.
- Delabays N., Mange N., 1991. La culture d'*Arnica montana* L., aspects agronomiques et phytosanitaires. Revue Suisse Vitic. Arboric. Hort. 23 (5), 313–319.
- Douglas J.A., Smallfield B.M., Burgess E.J., Perry N.B., Anderson R.E., Douglas M.H., Glennie V.A., 2004. Sesquiterpene lactones in *Arnica montana*, a rapid analytical method and the effects of flower maturity and simulated mechanical harvesting on quality and yield. Planta Med. 70, 166–170.
- European Pharmacopoeia V, 2005. Arnica Flower 1, 1391.
- Falniowski A., Bazos I., Hodálová I., Lansdown R., Petrova A., 2012. „*Arnica montana*”, in IUCN 2012, IUCN Red List of Threatened Species, Version 2012.2, 2012.
- Farmakopea Polska VI, 2002. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa.
- Farmakopea Polska VIII, 2008. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, Warszawa.
- Forycka A., Buchwald W., 2008. Badania zasobów naturalnych roślin leczniczych objętych w Polsce ochroną prawną. Herba Pol., 54, 3, 81–112.
- Forycka A., Szczyglewska D., Buchwald W., 2004. Ocena wybranych populacji amiki górskiej (*Arnica montana* L.) występujących na terenie Polski. Zesz. Probl. Postęp. Nauk Rol. 497, 223–230.
- Galambosi B., Galambosi Z.S., Svoboda K.P., Deans S.G., 1998. Flower yield and antioxidant properties of *Arnica montana* L. grown in Finland. Drogenreport 11, 19.
- Galambosi B., 2004. Introduction of *Arnica montana* L. in Finland. Zeitschrift für Arznei-Gewürzpfl. 9 (4), 174–179.
- Ganzera M., Egger C., Zidorn C., Stuppner H., 2008. Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acids in *Arnica montana* L. by micellar electrokinetic capillary chromatography. Anal. Chim. Acta 614, 196–200.
- Gawlik-Dziki U., Świeca M., Sugier D., Cichočka J., 2009. Seeds of *Arnica montana* and *Arnica chamissonis* as a potential source of natural antioxidants. Herba Pol. 55, 1, 60–71.
- Gawlik-Dziki U., Świeca M., Sugier D., Cichočka J., 2011. Comparison of *in vitro* lipoxygenase, xanthine oxidase inhibitory and antioxidant activity of *Arnica montana* and *Arnica chamissonis* tinctures. Acta Sci. Pol., ser. Hortorum Cultus 10 (3), 15–27.
- Jambor J., 2006. Rośliny lecznicze – od aloesu do żeń-szenia. Wyd. Farmapress. Warszawa, 18–21.
- Judžentienė A., Būdienė J., 2009. Analysis of the chemical composition of flower essential oils from *Arnica montana* of Lithuanian origin. Chemija 20, 3 P, 190–194.
- Jurkiewicz A., Ryszka P., Anielska T., Waligórski P., Białońska D., Góralska K., Tsimilli-Michael M., Turnau K., 2010. Optimization of culture conditions of *Arnica montana* L., effects of mycorrhizal fungi and competing plants. Mycorrhiza 20, 293–306.
- Kahmen S., Poschlod P., 2000. Population size, plant performance, and genetic variation in the rare plant *Arnica montana* L. in the Rhön, Germany. Basic Appl. Ecol. 1, 43–51.

- Kołodziej B., Winiarska S., 2012. The effect of selected cultivation methods on yield and quality of artichoke (*Cynara scolymus* L.) raw material. *Acta Sci. Pol., ser. Hortorum Cultus* 11(1), 171–182.
- Kołodziej B., 2009. Wpływ sposobu zakładania plantacji i nawożenia dolistnego na plon i jakość tymianku pospolitego. *Annales UMCS, sec. E, Agricultura* 64, 2, 1–7.
- Kordana S., Mordalski R., 2001. Badania uprawowe nad nowymi gatunkami roślin zielarskich. *Annales UMCS, sec. EEE, Horticultura* 9, 91–97.
- Korneck D., Schnittler M., Vollmer I., 1996. Red list of Pteridophyta and Spermatophyta in Germany W: Red list of endangered plants in Germany, G. Ludwig and M. Schnittler (red.), 28, 21–187, Schriftenreihe für Vegetationskunde, Bundesamt für Naturschutz, Bonn.
- Kozłowski J., Buchwald W., Szczygłowska D., Forycka A., 1999. Próby uprawy roślin leczniczych objętych ochroną. *Wiad. Ziel.* 4, 13.
- Lange D., 1998. Europe's medicinal and aromatic plants, their use, trade and conservation, TRAFFIC International, Cambridge.
- Luijten S.H., Dierick A., Gerard J., Oostermeijer B., Raijmann L.E.L., Den Nijs H.C.M., 2000. Population size, genetic variation, and reproductive success in a rapidly declining, self-incompatible perennial (*Arnica montana*) in the Netherlands. *Conserv. Biol.* 14, 1776–1787.
- Luijten S.H., Kéry M., Oostermeijer J.G.B., Den Nijs H.C.M., 2002. Demographic consequences of inbreeding and outbreeding in *Arnica montana*, a field experiment. *J. Ecol.* 90, 593–603.
- Merfort I., 2010. Arnika – Aktueller Stand hinsichtlich Wirksamkeit, Pharmakokinetik und Nebenwirkungen. *Zeitschrift Phytother* 31 (4), 188–192.
- Michler B., 2007. Conservation of eastern European medicinal plants *Arnica montana* in Romania. Case study Gârda de Sus. Management Plan.
- Pljevljakušić D., Rančić D., Ristić M., Vujišić L., Radanović D., Dajić-Stevanović Z., 2012. Rhizome and root yield of the cultivated *Arnica montana* L., chemical composition and histochemical localization of essential oil. *Ind. Crop. Prod.* 39, 177–189.
- Radanović D., Marković T., Antić-Mladenović S., Pljevljakušić D., Ristić M., Krivokuća-Dokić D., 2007. Yield and quality of Arnica (*Arnica montana* and *Arnica chamissonis* var. *foliosa*) cultivated in Serbia. W: M. Habán, P. Otepka (red.). Book of scientific papers and abstracts, 1st International scientific conference on medicinal, aromatic and spice plants (5–6 December 2007, Nitra, Slovakia), 157–161.
- Ristic M., Krivokuća-Djokic D., Radanovic D., Nastovski T., 2007. Essential oil of *Arnica montana* and *Arnica chamissonis*. *Hem. Indust.* 61, 272–277.
- Ryszka P., Błaszowski J., Jurkiewicz A., Turnau K., 2010. Arbuscular mycorrhiza of *Arnica montana* under field conditions – conventional and molecular studies. *Mycorrhiza* 20, 551–557.
- Seemann A., Wallner T., Poschold P., Heilmann J., 2010. Variation of sesquiterpene lactone content in different *Arnica montana* populations: Influence of Ecological Parameters. *Planta Med.* 76, 837–842.
- Sugier D., 2003. Wpływ sposobu zakładania plantacji i dokarmiania dolistnego mniszka lekarskiego (*Taraxacum officinale* Web.) na plon korzeni i zawartość inuliny. *Acta Agrophysica* 85, 331–337.
- Sugier D., 2007. The flowering course of the *Arnica montana* L. and the *A. chamissonis* Less. in conditions of field cultivation with successive head collecting. *Acta Agrobotanica* 60, 2, 133–139.
- Sugier D., Gawlik-Dziki U., 2009. Wpływ nawożenia dolistnego na plonowanie i jakość surowca *Arnica montana* L. i *Arnica chamissonis* var. *foliosa*, *Annales UMCS, Sec. E, Agricultura* 64 (3), 129–139.
- Sugier D., Kołodziej B., Bielińska E., 2013. The effect of leonardite application on *Arnica montana* L. yielding and chosen chemical properties and enzymatic activity of the soil. *J. of Geochem. Explor.* 129 (2013), 76–81.
- Van den Berg L.J.L., Vergeer P., Roelofs J.G.M., 2003. Heathland restoration in The Netherlands, Effects of turf cutting depth on germination of *Arnica montana*. *Appl. Veg. Sci.* 6, 117–124.

- Weremczuk-Jeżyna I., Kalembe D., Wysokińska H., 2011. Constituents of the essential oil from hairy roots and plant roots of *Arnica montana* L. J. Essent. Oil Res. 23, 91–97.
- Wołkowycki D., 2012. Arnika górską *Arnica montana* L., W: J. Perzanowska. Monitoring gatunków roślin, Przewodnik metodyczny, Część III, GIOŚ, Warszawa.
- Willuhn G., 1996. Arnika flowers; pharmacology, toxicology and analytics of the sesquiterpene lacton as their main active substances. Abstracts of papers of the American Chemical Society 212, 104 – AGFD Part 1.
- Zarzycki K., Szelaż Z., 2006. Czerwona lista roślin naczyniowych w Polsce. W: Z. Mirek, K. Zarzycki, W. Wojewoda, Z. Szelaż (red.). Czerwona lista roślin i grzybów Polski. Instytut Botaniki PAN, Kraków.

Summary. The investigations were conducted in 2008–2010 in two-, three-, and four-year-old mountain arnica plantations established on podzolic soil with the particle size of loamy sand. The aim of the experiment was to assessing the effect of the plantation establishment method and the developmental stage of flower heads on the yield of *Arnicae anthodium* raw material and its chemical composition. The methods of plantation establishment employed included planting of shoot cuttings obtained by dividing the mother plants and seedlings transplanting produced in multiplates. The raw material was harvested in four phases of flowering of the flower heads, i.e. the phase of the yellow bud, at the beginning of flowering, at full bloom and at the end of flowering. The studies showed that two-year-old mountain arnica plants were characterised by a lower yield potential than that of plants from the three- and four-year-old plantations. In terms of the yield, establishment of plantations from seedlings rather than shoot cuttings seems more beneficial. The time of flower heads harvesting had a significant effect on bioactive substances content. The content of sesquiterpene lactones systematically increased from the yellow bud stage to the end of flowering. The greatest quantities of quercetin was contained in flower heads harvested at the beginning of flowering, while the highest content of essential oil was observed in arnica flower heads harvested at full bloom.

Key words: *Arnica montana* L., heads yields, sesquiterpene lactons, quercetine, essential oil