Metode uzgoja i svojstva različitih vrsta vrkute (Alchemilla spp.)

Cindrić, Jelena

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:102686

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Jelena Cindrić

Metode uzgoja i svojstva različitih vrsta vrkute (*Alchemilla* spp.)

Završni rad

Mentor: dr. sc. Dubravka Špoljarić Maronić, docent

Komentor: dr. sc. Tanja Žuna Pfeiffer, docent

Osijek, 2016. godina

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za biologiju
Završni rad
Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Biologija

Metode uzgoja i svojstva različitih vrsta vrkute (*Alchemilla* spp.)

Jelena Cindrić

Rad je izrađen u: Zavod za ekologiju voda Odjela za biologiju
Mentor: dr. sc. Dubravka Špoljarić Maronić, docent
Komentor: dr. sc. Tanja Žuna Pfeiffer, docent

Sažetak:

U ovom istraživanju su primijenjene metode uzgoja sjemena dviju vrsta vrkute, *Alchemilla vulgaris* L. i *Alchemilla velebitica* Borbás ex Janch. *in vitro* te sijanjem u supstrat. Utvrđena je slaba i nepouzdana klijavost sjemena obiju vrsta vrkute. Nakon *in vitro* klijanja sjemenki *A. vulgaris*, došlo je do pravilnog rasta i razvoja klijanaca, dok je kod *A. velebitica* rast sjemenki zaustavljen u stadiju završnog razvoja supki. Istraženi su literaturni podaci o uzgoju vrkute, njezinim ljekovitim svojstvima, značaju i primjeni.

Broj stranica: 19
Broj slika: 16
Broj tablica: 0
Broj literaturnih navoda: 38
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Alchemilla vulgaris*, *Alchemilla velebitica*, uzgoj sjemena, *in vitro*, ljekovite biljke

Rad je pohranjenu:
knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Biology
Bachelor's thesis
Undergraduate university study programme in Biology

Scientific Area: Natural Sciences
Scientific Field: Biology

Cultivation methods and properties of different species of lady's mantle (*Alchemilla* spp.)

Jelena Cindrić

Thesis performed at: Sub-department of Water Ecology, Department of Biology
Supervisor: Dubravka Špoljarić Maronić, PhD, Assistant Professor
Cosupervisor: Tanja Žuna Pfeiffer, PhD, Assistant Professor

Abstract:

In vitro seed cultivation and direct sowing on substrate were applied as methods of propagation for two species of lady's mantle, *Alchemilla vulgaris* L. and *Alchemilla velebitica* Borbás ex Janch. Poor and unreliable seed germination was found in both species of lady's mantle. After germination, fully developed seedlings were observed for *A. vulgaris*, while *A. velebitica* seeds stopped their development at the cotyledon stage. Literature data on *Alchemilla* cultivation, its medicinal properties, importance and application were also addressed.

Number of pages: 19
Number of figures: 16
Number of tables: 0
Number of references: 38
Original in: Croatian

Key words: *Alchemilla vulgaris*, *Alchemilla velebitica*, seed cultivation, *in vitro*, medicinal plants

Thesis deposited in:
the Library of the Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in the National and University Library in Zagreb in electronic form. It is also available on the website of the Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek.

Sadržaj:

1. Uvod 1
   1.1. Kultura biljnih stanica i tkiva.....1
   1.2. Vrste roda *Alchemilla*.....2
      1.2.1. *Alchemilla vulgaris* L. – obična vrkuta 5
      1.2.2. *Alchemilla velebitica* Borbás ex Janch. – velebitska vrkuta 6
2. Materijali i metode.....7
   2.1. Biljni materijal.....7
   2.2. Priprema hranjive podloge.....7
   2.3. Stratifikacija sjemenki.....8
   2.4. Površinska sterilizacija sjemenki.....9
   2.5. Uzgoj sjemenki.....9
3. Rezultati.....11
4. Rasprava.....14
5. Zaključak.....16
6. Literatura 17

1. Uvod

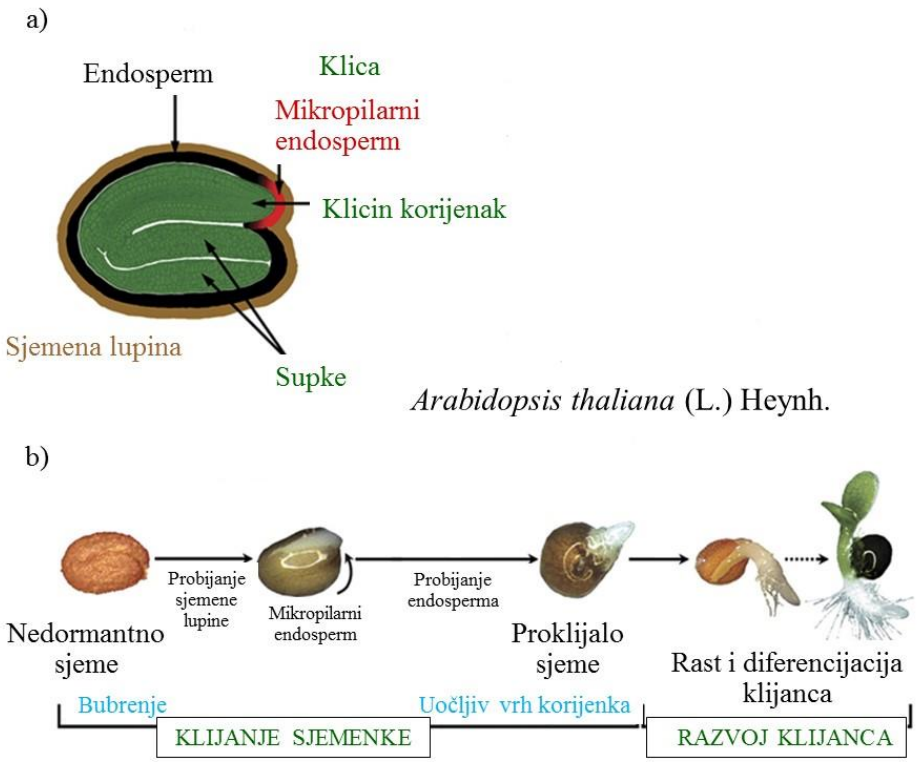
1.1. Kultura biljnih stanica i tkiva

Kultura biljnih stanica i tkiva ili kultura *in vitro* obuhvaća tehnike uzgoja biljnih dijelova (eksplantata), kao što su komadići tkiva ili biljni organi te uzgoj sjemenki ili izoliranih stanica u sterilnim uvjetima (Jelaska, 1994). Pri tome se korišteni biljni materijal prvo sterilizira te prenosi u posude s hranjivim medijem (najčešće čvrstim hranjivim podlogama) koji sadrži tvari potrebne za rast i razvoj biljke. Ovaj tip vegetativnog razmnožavanja naziva se još i mikrorazmnožavanje ili mikropropagacija zbog malih dimenzija izdanaka i biljčica koji se dobivaju u početku. Kultura biljnog tkiva koristi se za masovno klonsko razmnožavanje te oplemenjivanje biljaka,za dobivanje velike količine biomase, gume, ulja i drugih biljnih spojeva te za očuvanje ugroženih i rijetkih biljnih vrsta i biljnog genetskog fonda (Jelaska, 1994; Sathyanarayana i Varghese, 2007).

Postoji mnogo tehnika mikrorazmnožavanja biljaka, a primjenju se ovisno o biljnoj vrsti i tipu biljnog eksplantata. Neke od najpoznatijih su kultura protoplasta, stanica, tkiva i organa, meristema, embrija, vegetacijskog vrška, pojedinačnog nodija i sjemena, organogeneza, somatska embriogeneza, *in vitro* oprašivanje i oplodnja te mutageneza (Jelaska, 1994; Sathyanarayana i Varghese, 2007).

Kultura sjemena primjenjuje se za pospješivanje klijanja i razvoja klijanaca kod biljnih vrsta koje teško klijaju u uvjetima *in vivo*, za indukciju klijanja uz dodatak regulatora rasta te za uzgoj bezvirusnih biljaka (Sathyanarayana i Varghese, 2007). Više okolišnih čimbenika utječe na klijanje sjemena, a među najvažnijima su temperatura, svjetlost, pH, vlažnost i kisik te vodni potencijal i salinitet (Ghaderi-Far i sur., 2010). Dormantne sjemenke su dehidrirane i sadrže svega 10-15% vode te ju moraju apsorbirati kako bi se aktivirale i započele s klijanjem. Voda također omogućuje otapanje kisika prisutnog u tlu koji se koristi pri razvoju klice. Kako bi se osigurala dostupnost dovoljne količine kisika, sjeme se ne smije sijati na prevelikoj dubini. Klijanje se može odvijati u širokom rasponu temperatura (5-40°C), ali je optimum za većinu biljaka između 25 i 30°C. Nekim je sjemenkama za klijanje potrebna svjetlost, dok kod nekih vrsta ona sprječava klijanje (Web 1). Sjeme nekih biljaka ne klija ni kada nastupe povoljni uvjeti već miruje i naknadno dozrijeva što nazivamo dormancijom. Postupkom stratifikacije, pri kojem se sjeme određeno vrijeme izlaže niskim ili visokim temperaturama ili tretira biljnim hormonima, nastoji se postići bolja klijavost sjemena (Daneshvar i sur., 2016).

Zrela sjemenka većine kritosjemenjača sastoji se od klice obavijene slojevima triploidnog endosperma i sjemenom lupinom (Slika 1a), dok su njezina struktura i sastav pričuvnih stvari karakteristični za pojedinu vrstu (Weitbrecht i sur. 2011). Klijanje započinje primanjem vode i bubrenjem sjemenke, a završava vidljivim probijanjem klicinog korijenka kroz vanjske slojeve sjemenke, nakon čega slijedi razvoj klijanca (Slika 1b).



Slika 1. *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh a) Morfologija sjemenke.; b) Klijanje sjemenke (Preuzeto i prilagođeno iz Weitbrecht i sur., 2011 prema Müller i sur., 2006).

1.2. Vrste roda *Alchemilla*

Vrste roda *Alchemilla* su zeljaste trajnice iz skupine sjemenjača (Spermatophyta). Pripadaju podrazredu Magnoliidae (Angiospermae ili kritosjemenjače) te se ubrajaju u prave dvosupnice (eudikotiledone), nadred Rosanae, red Rosales i porodicu Rosaceae (ruže, ružičnjače) (Nikolić, 2013). Prema nacionalnoj bazi podataka o vaskularnoj flori Flora Croatica Database (FCD), u Hrvatskoj je zabilježeno 13 vrsta roda *Alchemilla* (Nikolić, 2016), a većina je vezana uz brdska i planinska staništa (Slike 2-4).

Slika 2. *Alchemilla glaucescens* Wallr. (Web 2)

Slika 3. *Alchemilla subcrenata* Buser (Web 2)

Slika 4. *Alchemilla xantochlora* Rothm. (Web 2)

Poznato je mnogo narodnih naziva biljke, a najpoznatiji je „gospin plašt“ koji je zajednički mnogim jezicima, a koriste se još i nazivi: vrkuta, virak, plahtica, rosnik, rosica, rosanica, lava. U stranim jezicima su uobičajeni nazivi *lady's mantle* (eng.), *Spitzlappiger Frauenmantel*, *Gemeiner Frauenmantel* i *Gewöhnlicher Frauenmantel* (njem.), *alchémille commune* i *pied-de-lion* (fr.), *alchemilla* i *erba stella* (tal.), *alquimilla*, *pie de león* i *planta deleón* (špa.) te *navadna plahtica* (slo.) (Web 3). Ime ove biljke najčešće se povezuje s kapljicama vode koje se skupljaju za vlažnog vremena u ljevkastim udubljenjima listova, a izlučuju se iz hidatoda na zubićima lisnih rubova (Nikolić, 2013). I sam latinski naziv roda *Alchemilla* povezuje se s alkemičarima koji su biljku iznimno cijenili i skupljali kapljice vode s njenih listova kao „nebesku rosu“ za stvaranje „kamena mudraca“ (Pauwels i Christoffels 2006).

U Hrvatskoj se uglavnom sakuplja kao samonikla biljka, uz rubove šuma i putova među kamenjem, na obroncima i livadama uglavnom na višim i planinskim područjima (Žilić, 2014), a rjeđe se uzgaja u vrtovima kao ljekovita ili ukrasna biljka. Mladi listovi vrkute su jestivi te se koriste u pripremi raznih jela, dok se stariji listovi mogu koristiti za pripremu čajeva i tinktura. Ljekovita svojstva vrkute primjenjuju se za liječenje oboljenja mokraćno-spolnog sustava, posebice kod „ženskih“ tegoba kao što su bolne menstruacije, pretjerano krvarenje i grčevi te kod ublažavanja simptoma menopauze. Koristi se i u liječenju različitih upalnih stanja, liječenje rana i iritacija kože, tegoba probavnog sustava. Koristi za ispiranje usne šupljine, grla i očiju. Ljekovita svojstva biljke pripisuju se velikom sadržaju ljekovitih organskih tvari, posebice flavonoida koji imaju antioksidacijsko djelovanje, ali i važnih

mikro- i makroelemenata kojima obiluju svi dijelovi biljke (listovi, cvjetovi i korijen) (Juranović Cindrić i sur., 2015).

Vrste roda *Alchemilla* uglavnom se rasprostranjuju pomoću sjemena, a mogu se razmnožavati i vegetativno fragmentacijom većih dijelova podanka (Tobyn i sur., 2016)

1.2.1. *Alchemilla vulgaris* L. - obična vrkuta

Jedinke vrste *Alchemilla vulgaris* L. dosežu visinu 10-50(-70) cm, imaju dlakavu stabljiku (Web 4) koja se razvija iz rozete te može biti uspravna ili pridignuta. Listovi su režnjeviti, zelene boje, mekani i dlakavi, na dugim peteljkama i sitno nazubljeni. Vrkuta cvate sitnim i brojnim, žućkastim i neuglednim cvjetovima. Cvate od svibnja do rujna, a nakon cvatnje se iz svakog cvijeta razvije plod s jednom sjemenkom. Divlja raste na vlažnim livadama i pašnjacima, u svijetlim šumama i uz puteve, osobito u gorskim i planinskim predjelima. Područje rasprostranjenja ove vrste je središnja i zapadna Europa (Moore, 2011). *A. vulgaris* je zbirna vrsta te obuhvaća više mikrovrsta koje su klonovi nastali iz apomiktičnog sjemena i vrlo ih je teško razlikovati (Tobyn i sur., 2016). U FCD bazi, *A. vulgaris* auct. non. L. s. str. na popisu je sinonima vrste *A. xantochlora* Rothm (Nikolić, 2016). Ljekovita je biljka.

Slika 5. *Alchemilla vulgaris* (Web 5)

Slika 6. Cvat *A. vulgaris* (Web 6)

1.2.2. *Alchemilla velebitica* Borbás ex Janch. - velebitska vrkuta

Alchemilla velebitica Borbás ex Janch., velebitska vrkuta (syn. *Alchemilla plicatula* Gand. (Nikolić, 2016)) je malena biljka sa stabljikom visine 8-16 cm i dlanasto razdijeljenim zelenim listovima srebrnkastog naličja, promjera 4-6 cm (Web 6). To je ilirsko-balkanska vrsta rasprostranjena u južnoj Europi, uglavnom na jugozapadnim primorskim Dinaridima, s lokalitetima u Sloveniji, Hrvatskoj, južnoj Srbiji, Crnoj Gori, Albaniji, Makedoniji i Grčkoj na nadmorskim visinama od 1200 do 2200 m. U Hrvatskoj ju nalazimo na Velebitu, Dinari, Kamešnici i Biokovu. Ljekovita je biljka.

Slika 7. *Alchemilla velebitica* (Web 2)

2. Materijali i metode

2.1.Biljni materijal

U istraživanju su korištene sjemenke dviju vrsta vrkute, *A. vulgaris* i *A. velebitica*, porijeklom iz Alpskog botaničkog vrta Julijana u Trenti (Slovenija), dobivene iz Botaničkog vrta Sveučilišta u Ljubljani.

2.2. Priprema hranjive podloge

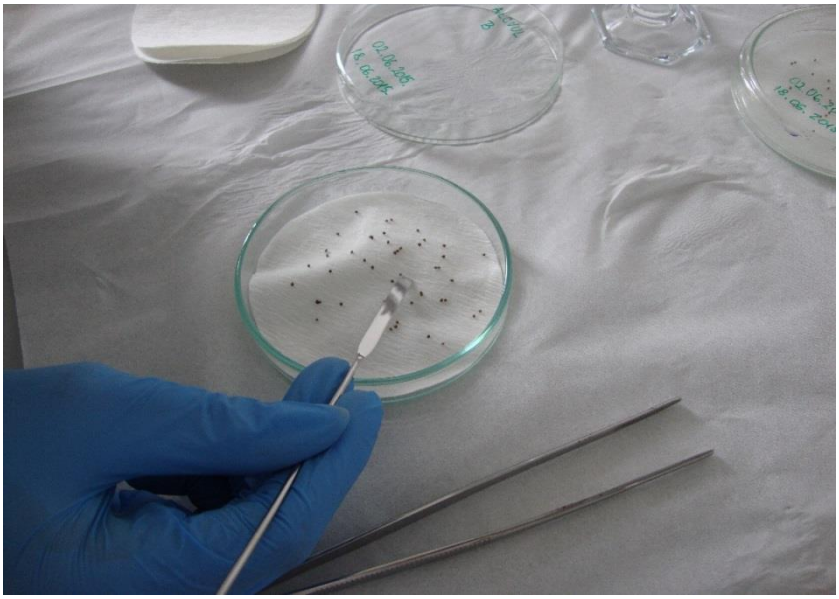
Za pripremu podloge po Murashigeu i Skoogu (1962, MS) koriste se koncentrirane matične otopine makroelemenata, željeza, mikroelemenata i organskih dodataka. Za pripremu matične otopine makroelemenata izvagano je 16,5 g NH_4NO_3, 19 g KNO_3, 4,104 g $CaCl_2$, 3,7 g $MgSO_4$ x 7 H_2O, 1,7 g KH_2PO_4, a za otopinu željeza 0,54 g $FeSO_4$ x 7 H_2O i 0,74 g EDTA. Kemikalije su otopljene u zasebnim bočicama u 100 mL destilirane vode.

Za pripremu otopine mikroelemenata, izvagano je 0,62 g H_3BO_3, 1,68 g $MnSO_4$ x H_2O, 0,86 g $ZnSO_4$ x 7 H_20, 89 mg KI, 25 mg Na_2MoO_4 x 2 H_2O, 2,7 mg $CoCl_2$ x 6 H_2O i 2,5 mg $CuSO_4$ x 5 H_2O te su soli zajedno otopljene u 100 mL destilirane vode uz lagano zagrijavanje. Kao organski dodaci podlozi, pripremljeni su tiamin (B_1) (5 mg/50 mL dest. H_2O), piridoksin (B_6) (25 mg / 50 mL dest. H_2O), nikotinska kiselina (12,5 mg/25 mL dest. H_2O), glicin (20 mg/10 mL dest. H_2O te saharoza (30 g), biotin (0,1 g) i inozitol (100 mg) koji su dodani direktno u medij.

U odmjernoj tikvici od 1000 mL pomiješano je 10 mL otopine makroelemenata, 1 mL otopine mikronutrijenata, 5 mL otopine $FeSO_4$ x 7 H_2O + EDTA, 0,1 mL otopine B_1, 0,5 mL otopine B_6, 0,5 mL otopine nikotinske kiseline i 200 µL otopine glicina. Dodana je saharoza, biotin i inozitol te destilirana voda. Dobivena otopina je potom prelivena u čašu te je prilagođen pH otopine do vrijednosti 5,7. U otopinu je u tikvici dodana destilirana voda do oznake od 1000 mL. U hranjivu podlogu je dodano 8 g agara te je zagrijavana do vrenja uz stalno miješanje. Podloga je autoklavirana u staklenim bocama (121°C, 15 min) i nakon sterilizacije izlivena u sterilne plastične Petrijeve zdjelice u sterilnim uvjetima u laminaru.

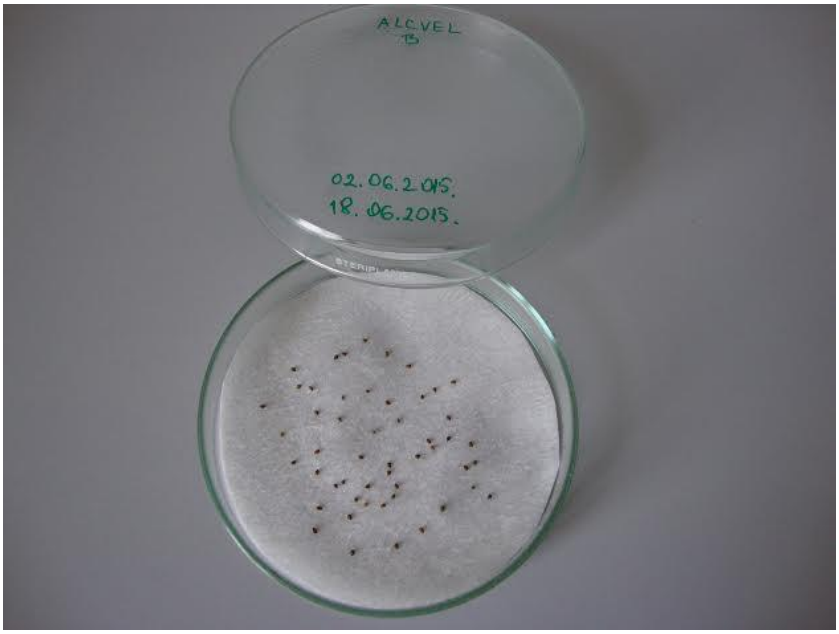
2.3. Stratifikacija sjemenki

Sjemenke su metalnom špatulom i pincetom očišćene od ostatka ploda (hipantija) i pripremljene za stratifikaciju. Izbrojano je i izvagano 100 sjemenki svake vrste. U četiri Petrijeve zdjelice postavljena su po dva sloja filter papira izrezanog u krugove koji odgovaraju promjeru zdjelice. Filter papir je u svakoj zdjelici navlažen s 2 mL destilirane vode. U zdjelicu je na filter papir jednoliko raspoređeno 50 sjemenki pojedine vrste (100 sjemenki za svaku vrstu vrkute). Zdjelice su poklopljene poklopcem, označene i umotane u aluminijsku foliju. Tako pripremljene sjemenke inkubirane su u hladnjaku na temperaturi od 9°C u trajanju od četiri tjedna. Tijekom stratifikacije je redovito provjeravana vlažnost filter papira u zdjelicama te je po potrebi dodatno navlažen destiliranom vodom.



Slika 8. Priprema sjemena za stratifikaciju

(Fotografija: Zavod za ekologiju voda)



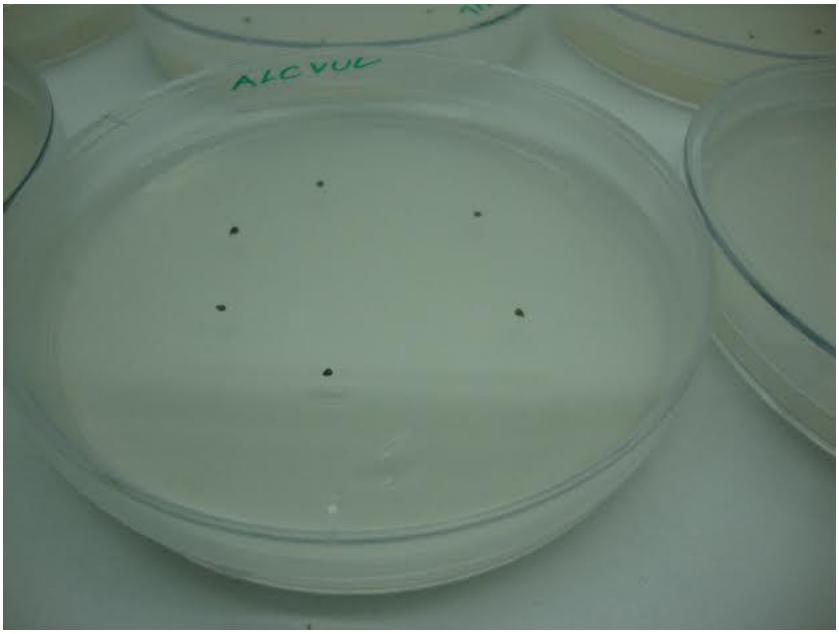
Slika 9. Provjera vlažnosti sjemena tijekom stratifikacije
(Fotografija: Zavod za ekologiju voda)

2.4. Površinska sterilizacija sjemenki

Nakon stratifikacije sjeme je sterilizirano u otopinama 70%-tnog etanola i klornog dezinfekcijskog sredstva. Radna površina i pribor su sterilizirani 96%-tnim etanolom. Sjemenke su sterilizirane uranjanjem u otopinu 70%-tnog etanola 1 min uz miješanje te su prenešene u sterilne uvjete u laminar. Prebačene su na filter papir pomoću lijevka i sterilizirane 20 min u 1,5%-tnoj otopini sredstva Chlormax® (1,5 g/100 mL dest. H_2O) uz miješanje. Nakon toga su ponovo prebačene na filter papir i isprane pet puta u sterilnoj destiliranoj vodi.

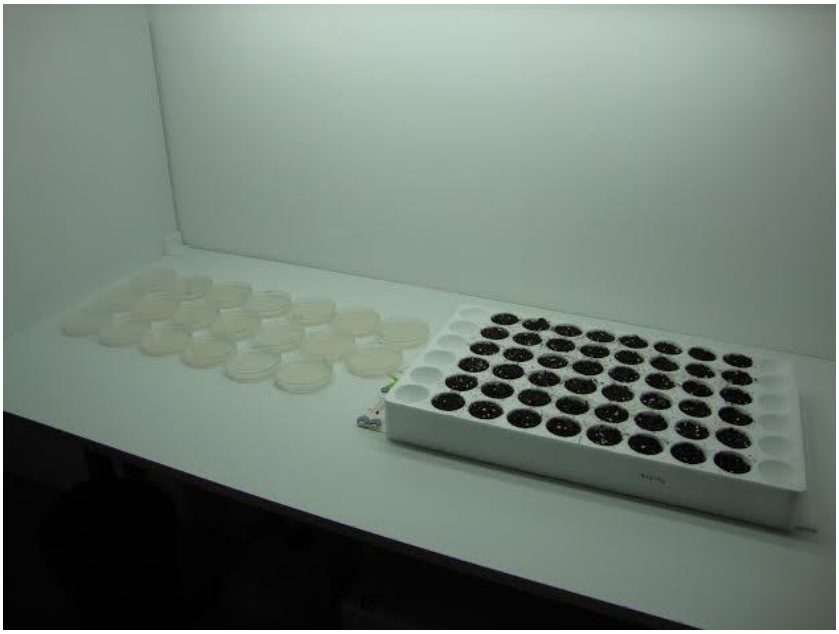
2.5. Uzgoj sjemenki

Dio stratificiranih i steriliziranih sjemenki nasađen je pincetom na krute hranjive MS podloge u sterilnim uvjetima u laminaru. U svaku Petrijevu zdjelicu nasađeno je 6 sjemenki (ukupno 60 sjemenki za svaku vrstu vrkute).



Slika 10. Sjemenke nasađene na MS podlogu
(Fotografija: Zavod za ekologiju voda)

Preostale sjemenke posijane su u steriliziranu zemlju (Plantella®; 60% huminskog treseta, 30% humusa, 10% bio biljnih vlakana i perlita; 200-500 mg/L N, 200-500 mg/L P_2O_5, 300-1000 mg/L K_2O, 100-200 mg/L MgO, pH (0,1 NKCl) = 5-6) u stiropornim pliticama. Zemlja sa sjemenkama je redovito vlažena sterilnom destiliranom vodom. Sjemenke su inkubirane u uzgojnoj komori pri fotoperiodu od 16 sati svjetlosti i 8 sati tame, količini svjetlosti od oko 2000 lux i temperaturi od 25±2°C. Podloge sa sjemenkama su premiještane unutar uzgojne komore, kako bi se umanjile prostorne razlike u osvjetljenju i temperaturi. Klijanje sjemenki praćeno je osam tjedana. Postotak klijavosti izračunat je prema formuli: klijavost (%) = broj isklijanih sjemenki / ukupan broj sjemenki × 100.



Slika 11. Sjemenke vrkute u uzgojnoj komori nasađene na hranjivu podlogu i u steriliziranu zemlju (Fotografija: Zavod za ekologiju voda)

3. Rezultati

Prosječna masa sjemenki dviju vrsta vrkute nije se mnogo razlikovala te je za *A. velebitica* iznosila 0,489 mg, a za *A. vulgaris* 0,477 mg. Klijanje sjemenki bilježeno je 5.-10. dan nakon nasađivanja kod obje vrste vrkute. Utvrđene su niske vrijednosti klijavosti sjemenki, koja je za *A. velebitica* iznosila 10% te 20% za *A. vulgaris*. Klijanje je započelo bubrenjem sjemenki te probijanjem klicinog korijenka kroz sjemenu lupinu (Slika 12). Poslije dodira klicinog korijenka s hranjivom podlogom nakon 10. dana (Slika 13) slijedio je potpuni razvoj supki. U drugoj su se fazi (17.-50. dan) diferencirali prvi pravi listovi i korijen (Slika 15). Sjemenke *A. velebitica* prošle su fazu klijanja do izbijanja klicinog korijenka, a klijanci su prestali s rastom nakon završnog razvoja supki. Nakon klijanja sjemenki *A. vulgaris* razvili su se klijanci s diferenciranim korijenom i četiri prava lista (Slika 16). Sjemenke *A. velebitica* i *A. vulgaris* posijane u zemlju nisu proklijale nakon osam tjedana inkubacije.

Slika 12. Klijanje - probijanje sjemene lupine (*A. velebitica*)

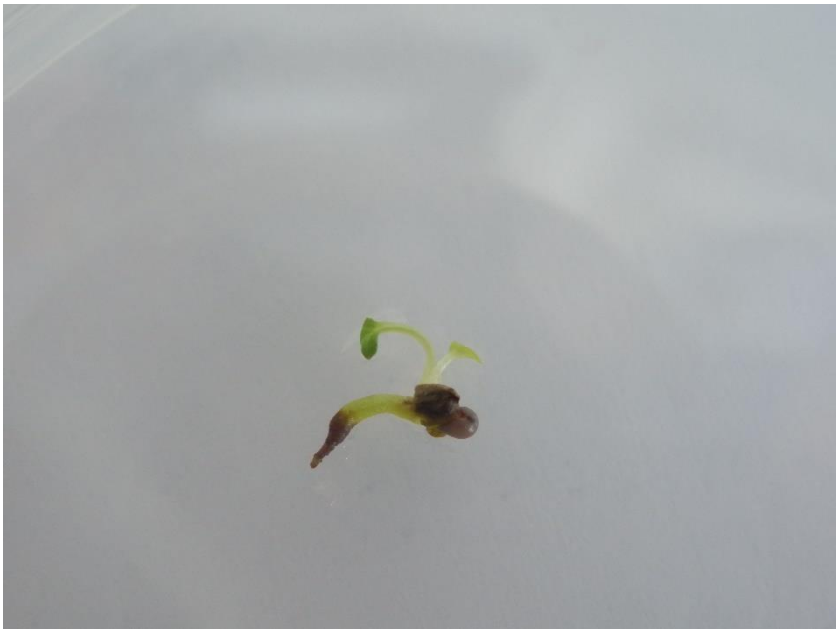
(Fotografija: Zavod za ekologiju voda)

Slika 13. Dodir klicinog korijenka s hranjivom podlogom (*A. vulgaris*)

(Fotografija: Zavod za ekologiju voda)

Slika 14. Razvoj klijanca (*A. vulgaris*)

(Fotografija: Zavod za ekologiju voda)



Slika 15. Diferencijacija klijanca (*A. vulgaris*)

(Fotografija: Zavod za ekologiju voda)

Slika 16. Klijanac vrkute (*A. vulgaris*)
(Fotografija: Zavod za ekologiju voda)

4. Rasprava

In vitro uzgoj i tehnike brze mikropropagacije biljaka koriste se za proizvodnju velike količine biljnog materijala u kratkom vremenskom razdoblju. Većina komercijalnih *in vitro* biljaka uzgaja se na agaroznim podlogama, dok se neke važne ratarske kulture, ukrasne i ljekovite biljke uspješno uzgajaju također i u bioreaktorima koji mogu poslužiti kao dobra alternativa plantažnom uzgoju (Ziv, 2000). Posebno se korisnim pokazao *in vitro* uzgoj ukrasnih biljaka, dvenastih vrsta te voća i povrća, a sve više se koristi pri uzgoju rijetkih i ugroženih biljnih vrsta, osobito onih koje imaju veliki značaj u medicini (Stanilova i sur., 2012). *In vitro* uzgoj također je primijenjen u poboljšanju umnožavanja i *ex vitro* adaptacije endemskih i rijetkih ljekovitih vrsta vrkute (*A. achtarowii*, *A. jumrukczalica*, *A. bundericensis* i *A. mollis*) u svrhu njihove zaštite i očuvanja divljih populacija (Gorgorov i sur., 2011). Metode uzgoja vrkute *in vitro* korištene su i za sanaciju erodiranog zemljišta u cilju očuvanja strukture i funkcije takvih staništa. Tako se vrsta *A. alpina* pokazala kao pogodna za restauraciju nativne islandske vegetacije vriština (Karlsdóttir i Aradóttir, 2006). Slično rezultatima našeg istraživanja, utvrđena je slaba i nepouzdana klijavost sjemena vrkute prilikom takvih postupaka. Za klijanje sjemenki *A. alpina* bile su potrebne dvije godine, što je potvrdilo pojavu dormancije sjemena (Karlsdóttir i Aradóttir, 2006). Slabu klijavost sjemena

ove vrste utvrdili su također Austrheim i Eriksson (2003), koji su također zabilježili veći broj klijanaca tek u drugoj godini uzgoja sjemenki *in vivo*. Slično našem istraživanju, Gorgorov i sur. (2011) su uspoređujući pojedine vrste vrkute uočili razlike u klijanju sjemenki. Uočili su da kod nekih vrsta razvoj sjemenke također prestaje u stadiju završnog razvoja supki. Međutim, u njihovim je istraživanjima utvrđena veća klijavost sjemena, što se može objasniti korištenjem giberelinske kiseline nakon hladne stratifikacije za stimulaciju klijanja sjemenki.

Mnoge vrste roda *Alchemilla* imaju ljekovita svojstva te su našle široku primjenu u narodnoj medicini, ali i farmaceutskoj industriji. Većina ljekovitih svojstava vrkute povezana je sa snažnim antioksidacijskim djelovanjem od kojih svako svojstvo djeluje kroz poseban mehanizam i na više razina, štiteći organizam od slobodnih radikala (Ergene i sur., 2010). Vrkuta sadrži spojeve kao što su tanini, flavonoidi, organske kiseline, fitosterini, salicilna kiselina, eterična ulja i vitamin C, koji imaju moćno protuupalno i antibakterijsko djelovanje. Sami polifenoli kojima obiluje (uglavnom tanini i flavonoidi) poznati su kao tvari s mnogostrukim ljekovitim svojstvima, kao što su protuupalno, antimutageno, antikancerogeno, protualergijsko, antibakterijsko te vazodilatacijsko djelovanje (Reuben, 1995; Whitney i Rolfes, 1996; Mindell, 1996; Hoffer, 1999; Null, 2000; Packer i Colman, 2000). Analiza ekstrakata *A. vulgaris* (Condrat i sur., 2009) pokazala je velik sadržaj polifenola u nadzemnim dijelovima biljke. Rezultati potvrđuju antioksidacijska svojstva ekstrakata vrkute (*A. mollis*) te ulogu aktivnih tvari biljke, posebice različitih vrsta flavonoida u suzbijanju slobodnih radikala (Trendafilova i sur., 2011), zbog čega je moguća njezina primjena u prehrani, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Juranović Cindrić i sur. (2015) su istaknuli da *A. velebitica* osim velikim sadržajem ljekovitih organskih tvari, poput snažnih antioksidansa flavonoida, obiluje važnim mikro- i makroelementima koji pospješuju njezina ljekovita svojstva.

Snažna antibakterijska svojstva ekstrakata *A. mollis* utvrđena su kroz inhibiciju rasta kultura bakterija *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella pneumoniae* (Usta i sur., 2014). Antimikrobna aktivnost utvrđena je i za *A. vulgaris* (Keskin i sur., 2010) pri čemu su ekstrakti ove biljke osim kultura bakterija (*Staphylococcus aureus*, *Kocuria rhizophila*, *Proteus vulgaris* i *Enterococcus faecalis*) inhibirali rast gljivice *Candida albicans*.

Vrkuta je u narodu posebno poznata kao biljka s mnogim pozitivnim učincima na zdravlje žena. Učinkovita je kao sredstvo protiv menstrualnih bolova, koristi se za liječenje neplodnosti, mioma, cista i endometrioze, regulira razinu hormona te ublažava simptome menopauze (Web 7). Koristi kod bolnih i obilnih menstruacija zbog velikog sadržaja tanina i adstringensa koji ublažavaju krvarenje (Hudson, 2012).

Vrkuta može služiti pri organskom uzgoju stoke kao alternativni lijek za bolesne ili ozlijeđene životinje, kod kojih nije dopušteno korištenje komercijalnih lijekova ili ukoliko takvo liječenje nije financijski isplativo. Tinktura *A. vulgaris* već se koristi u veterinarskoj medicini pri liječenju infekcije maternice, dijareje te zaostale posteljice (Lans i sur., 2007).

5. Zaključak

Vrste roda *Alchemilla* sadrže brojne aktivne spojeve koji imaju protuupalno, antimutageno, antikancerogeno, protualergijsko, antibakterijsko te vazodilatacijsko djelovanje. Zbog velikog sadržaja polifenola, posebice flavonoida imaju snažan antioksidacijski kapacitet, a sadržaj važnih mikro- i makroelemenata dodatno pospješuje njihova ljekovita svojstva.

Zbog velike vrijednosti vrkute kao ljekovite biljke, ali i očuvanja vrsta ovog roda od kojih su u Europi mnoge rijetke i zaštićene, a njihova staništa ugrožena, važno je prilagoditi i usavršiti metode uzgoja vodeći računa o posebnostima svake pojedine svojte, optimalnim uvjetima klijanja te čimbenicima rasta i razvoja kako bi se mogao iskoristiti njihov puni ekološki i medicinski potencijal.

6. Literatura

Condrat D, Harja F, Lupea AX. 2009. Analysis of the polyphenols from the Angiospermatophyta and Spermatophyta plant species. *Univ Oradea Publ House* 223-228.

Daneshvar A, Tigabu M, Karimidoost A, Odén PK. 2016. Stimulation of germination in dormant seeds of *Juniperus polycarpos* by stratification and hormone treatments. *New Forest* 48:1-11.

Ergene B, Bahadir Acikara O, Bakar F, Saltan G, Nebioglu S. 2010. Antioxidant activity and phytochemical analysis of *Alchemilla persica* ROTHM. *J Fac Pharm Ankara* 39:145-154.

Ghaderi-Far F, Gherekhloo J, Alimagham M. 2010. Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of yellow sweet clover (*Melilotus officinalis*). *Planta Daninha* 28:463-469.

Gorgorov R, Stanilova M, Vitkova A. 2011. *In vitro* cultivation of some endemic and rare *Alchemilla* species in Bulgaria. *Rom Biotech Lett* 16:65-70.

Hoffer A, 1999. *Dr. Hoffer's ABC of Natural Nutrition for Children*. Quarry Press Inc., Kingston (ON), p. 57.

Hudson T. (2012) *Menorrhagia*. In: Pizzorno JE, Murray MT, Eds. Textbook of Natural Medicine. 4th ed. Elsevier Health Sciences, Saint Louis, Missouri.

Jelaska S, 1994. *Kultura biljnih stanica i tkiva: temeljna istraživanja i primjena*. Školska knjiga, Zagreb, 76 pp.

Juranović Cindrić I, Zeiner M, Požgaj M, Šilić T, Stingeder G. 2015. Elemental characterisation of the medical plant *Alchemilla velebitica*. *J Trace Elem Med Biol* 31:274-278.

Karlsdóttir L, Aradóttir ÁL. 2006. Propagation of *Dryas octopetala* L. and *Alchemilla alpina* L. by direct seeding and planting of stem cuttings. *Icel Agric Sci* 19:25-32.

Keskin D, Oskay D, Oskay M. 2010. Antimicrobial activity of selected plant spices marketed in the West Anatolia. *Int J of Agric Biol* 12:916-920.

Lans C, Turner N, Khan T, Brauer G, Boepple W. 2007. Ethnoveterinary medicines used for ruminants in British Columbia. *Canada J Ethnobiol Ethnomed* 3:11.

Mindell E. 1996. *Dr. Earl Mindell's What You Should Know About The Super Antioxidant Miracle*. Keats Publ. Inc., New Canaan, Connecticut, p. 132.

Moore P. 2011. *The Pocket Guide to Wild Flowers*. Bounty Books, London, UK.

Müller K, Tintelnot S, Leubner-Metzger G. 2006. Endosperm-limited Brassicaceae seed germination: abscisic acid inhibits embryo-induced endosperm weakening of *Lepidium sativum* (cress) and endosperm rupture of cress and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 47:864-877.

Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Phisiol Plant* 15:473-497.

Null G. 2000. *Gary Null's Ultimate lifetime diet: a revolutionary all-natural program for losing weight and building a healthy body*. Broadway Books, New York, p. 87.

Nikolić T. 2013. *Sistematska botanika*. Alfa d.d., Zagreb.

Nikolić T. 2016. Flora Croatica Database. Pristupljeno u srpnju 2016. sa http://hirc.botanic.hr/fcd.

Packer L, Colman C. 2000. *The Antioxidant Miracle*. John Wiley and Sons, Inc., New York, p. 126.

Pauwels I, Christoffels G. 2006. *Herbs*. Struik Publishing, Cape Town, South Africa.

Reuben C. 1995. *Antioxidants*. Prima Publ., Rocklin (CA), p. 49.

Sathyanarayana BN, Varghese DB. 2007. *Plant Tissue Culture: Practices and New Experimental Protocols*. I K International Publishing House, New Delhi.

Stanilova M, Gorgorov R, Trendafilova A, Nikolova M, Viktorova A. 2012. Influence of nutrient medium composition on *in vitro* growth, polyphenolic content and antioxidant activity of *Alchemilla mollis*. *Nat Prod Commun* 7:1-6.

Tobyn G, Denham A, Whitelegg M. 2016. *The Western herbal tradition: 2000 years of medicinal plant knowledge*. Singing Dragon Books, London, UK.

Trendafilova A, Todorova M, Nikolova M, Gavrilova A, Vitkova A. 2011. Flavonoid constituents and free radical scavenging activity of *Alchemilla mollis*. *Nat Prod Commun* 6:1851-1854.

Usta C, Yildirim AB, Turker AU. 2014. Antibacterial and antitumour activities of some plants grown in Turkey. *Biotechnol Biotechnol Equip* 28:306-315.

Weitbrecht K, Muller K, Leubner-Metzger G. 2011. First off the mark: early seed germination. *J Exp Bot* 62:3289-309.

Whitney EN, Rolfes SR. 1996. *Understanding Nutrition*, 7th Ed. West Publishing, Minneapolis/St. Paul, p. 65.

Ziv M. 2000. *Bioreactor technology for plant micropropagation*. In: Janick, J. (Ed.) Horticultural Reviews. John Wiley and Sons, New York, pp.1-30.

Žilić I. 2014. *Udžbenik za sakupljanje samoniklog bilja*. Poljoprivredna zadruga "Glinska Banovina", Glina.

Internetske stranice:

Web 1: http://www.tutorvista.com/content/biology/biology-iv/plant-growth-movements/affecting-seed-germination.php

Web 2: http://hirc.botanic.hr/fcd/

Web 3: http://www.plantea.com.hr/vrkuta/

Web 4: http://botany.cz/cs/alchemilla-vulgaris/

Web 5: http://www.plant-identification.co.uk/skye/rosaceae/alchemilla-vulgaris.htm

Web 6: http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology/plant_details.php?id=45

Web 7: http://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/vrkuta