



Metoder för att bryta frövila i fyra vilda växtarter

För optimering av genbanksbevarande

Moa Lagerström & Maja Ödman Ryberg

Examensarbete/Självständigt arbete • 15 hp

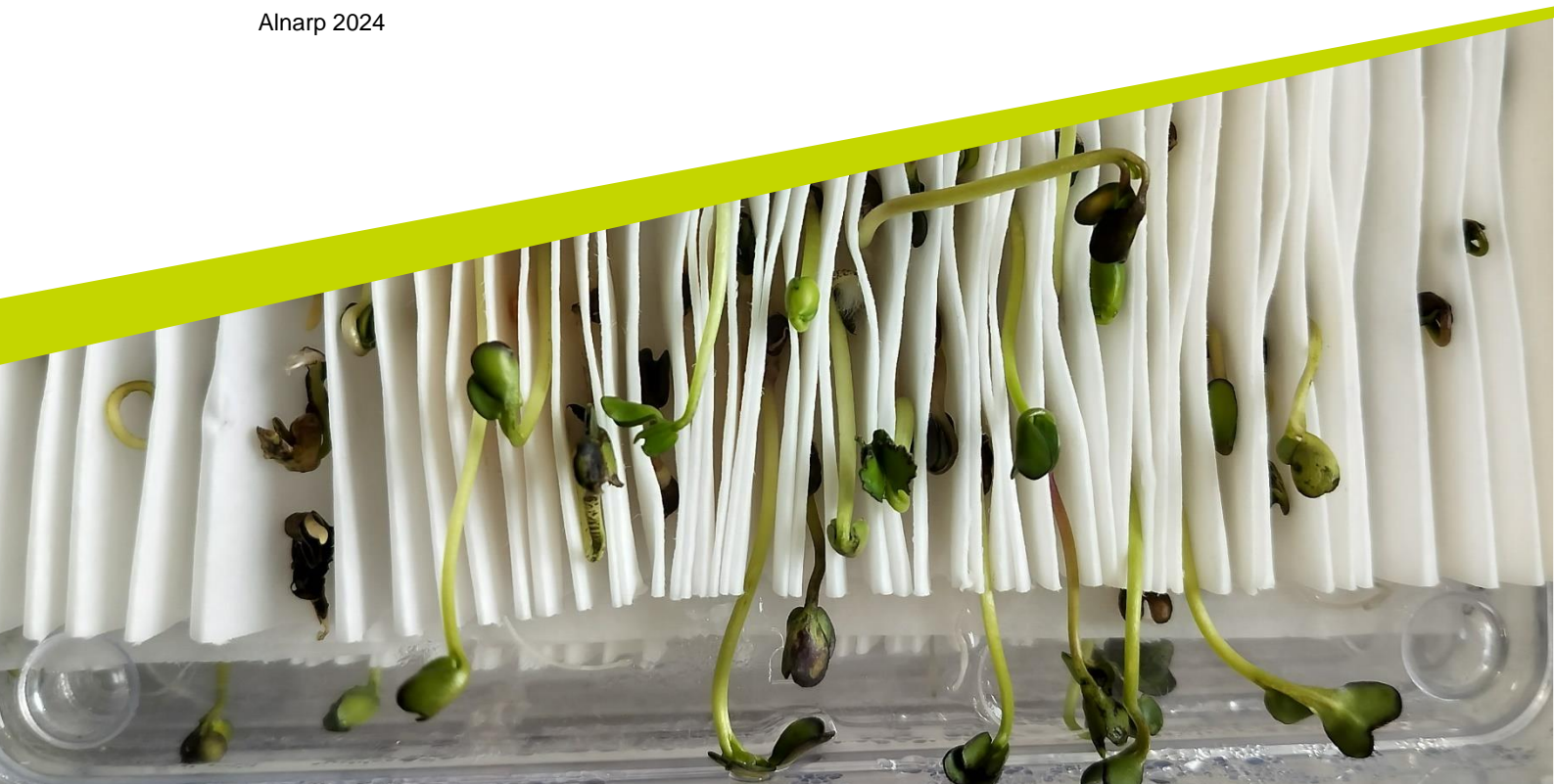
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU

Fakulteten för landskapsarkitektur, trädgårds- och växtproduktionsvetenskap

Institutionen för biosystem och teknologi

Trädgårdsingenjör - odling

Alnarp 2024



Metoder för att bryta frövila i fyra vilda växtarter

För optimering av genbanksbevarande

Moa Lagerström och Maja Ödman Ryberg

Handledare:	Salla Marttila, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för växtskyddsbiologi
Bitr. handledare:	Anna Palmé, NordGen
Bitr. handledare:	Johan Axelsson, NordGen
Bitr. handledare:	Jonatan Leo, NordGen
Examinator:	Kimmo Rumpunen, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för växtförädling

Omfattning:	15 hp
Nivå och fördjupning:	Grundnivå, G2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i Trädgårdsvetenskap
Kurskod:	EX0844
Program/utbildning:	Trädgårdsingenjörsprogrammet - odling
Kursansvarig inst.:	Institutionen för biosystem och teknologi
Utgivningsort:	Alnarp
Utgivningsår:	2024
Omslagsbild:	Moa Lagerström
Upphovsrätt:	Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: Groning, Frövila, Stratifiering, Väteperoxid, Kaliumnitrat, Tetrazoliumtest, Gibberellinsyra, *Atriplex hortensis*, *Crambe maritima*, *Ligusticum scoticum*, *Myrrhis odorata*

Sveriges lantbruksuniversitet

I samarbete med: Nordiskt Genresurscenter (NordGen)

Sammanfattning

Genetiska resurser i form av vilda släktingar till odlade grödor och vilda medicinal- och kryddväxter bevaras i form av fröer i genbanker, till exempel Nordiskt genresurscenter (NordGen). Bevarandet av dessa arter är viktigt för den genetiska mångfalden, för växtförädling samt för framtida utveckling av mediciner och livsmedel. För att bibehålla god kvalitet i de lagrade fröna krävs regelbundna grobarhetstester. Detta kräver kunskap om de artspecifika groningsförhållanden som krävs och arternas frövila och officiella groningsprotokoll saknas ofta, speciellt för vilda arter. I detta arbete utfördes groningsförsök på fyra vilda växtarter med syfte att bryta deras frövila. *Atriplex hortensis*, *Crambe maritima*, *Ligusticum scoticum* och *Myrrhis odorata* behandlades med en köldstratifiering på ca 50 dagar efterföljt av behandling med GA₃, H₂O₂ och KNO₃ och kontrollbehandling av kranvatten. *Atriplex hortensis* och *Ligusticum scoticum* grodde efter ca 50 dagars stratifiering, och ytterligare behandlingar gynnade inte groningen signifikant från kontrollbehandlingen. *Crambe maritima* gynnades av behandling med GA₃. *Myrrhis odorata* hade mycket låg grobarhet och kräver ytterligare undersökning för att hitta metoder att bryta frövilan, troligtvis genom längre stratifiering och inkubation. H₂O₂ hade generellt negativ påverkan på groningen, men bör undersökas vidare i olika koncentration och behandlingstid. Tetrazoliumtest utfördes vilket visade att metabolisk aktivitet förekom i en majoritet av de testade fröna.

Nyckelord: Groning, Frövila, Stratifiering, Väteperoxid, Kaliumnitrat, Tetrazoliumtest, Gibberellinsyra, *Atriplex hortensis*, *Crambe maritima*, *Ligusticum scoticum*, *Myrrhis odorata*

Abstract

Genetic resources in the form of crop wild relatives, as well as wild medicinal and aromatic plant species are stored as seeds in gene banks, for example the Nordic genetic resource center (NordGen). Preservation of these species is important for genetic diversity, plant breeding and future developments of food and medicines. To maintain good quality in the stored seeds regular germination tests need to be performed. These tests require knowledge about the species-specific germination requirements and seed dormancy, and oftentimes no official germination protocols for wild species exist. In this thesis germination tests were performed on four wild or naturalized species, with the goal of breaking their dormancy. *Atriplex hortensis*, *Crambe maritima*, *Ligusticum scoticum* and *Myrrhis odorata* were treated with a cold stratification of ~50 days, and then treated with GA₃, H₂O₂, KNO₃, and a control treatment of tap water. *Atriplex hortensis* and *L. scoticum* germinated after the cold stratification, and the additional treatments did not improve germination more than the control treatment. Germination improved in *Crambe maritima* after treatment with GA₃. *Myrrhis odorata* had very low germination rates and further studies are required to find methods of breaking the dormancy, possibly through longer stratification and incubation. H₂O₂ had an overall negative effect on germination, especially of seeds of smaller size, but could be studied further to find better suited concentrations and treatment times. A tetrazolium test was performed which showed metabolic activity in a majority of the tested seeds.

Keywords: Germination, Dormancy, Stratification, Hydrogen peroxide, Potassium nitrate, Gibberellic acid, Tetrazolium test, *Atriplex hortensis*, *Crambe maritima*, *Ligusticum scoticum*, *Myrrhis odorata*

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	7
Figurförteckning.....	8
Förkortningar	10
1. Introduktion	11
1.1 Syfte och frågeställning.....	12
2. Bakgrund	13
2.1 Bevarande.....	13
2.2 Frövila	13
2.2.1 Behandlingar för att bryta frövila.....	14
2.3 Utvalda växtarter	15
2.3.1 <i>Atriplex hortensis</i> – Trädgårdsmålla	16
2.3.2 <i>Crambe maritima</i> L. – Strandkål.....	17
2.3.3 <i>Ligusticum scoticum</i> L. – Strandloka	18
2.3.4 <i>Myrrhis odorata</i> L. – Spansk körvel	19
3. Material och metod	21
3.1 Avgränsningar	21
3.2 Accessioner.....	21
3.3 Tetrazolium test.....	22
3.4 Stratifiering	23
3.5 Behandlingar	24
3.6 Inkubation.....	24
3.7 Statistisk analys	25
4. Resultat	26
4.1 Tetrazoliumtest.....	26
4.2 Groningsförsök.....	27
4.2.1 <i>Atriplex hortensis</i>	28
4.2.2 <i>Crambe maritima</i>	28
4.2.3 <i>Ligusticum scoticum</i>	29
4.2.4 <i>Myrrhis odorata</i>	30
5. Diskussion	31
5.1 Tetrazolium	31

5.2	Groningsförsök.....	32
5.2.1	<i>Atriplex hortensis</i>	33
5.2.2	<i>Crambe maritima</i>	34
5.2.3	<i>Ligusticum scoticum</i>	34
5.2.4	<i>Myrrhis odorata</i>	35
5.3	Slutsats	35
	Referenser	36
	Bild referenser	40
	Tack	41
	Bilaga 1	42
	Bilaga 2.....	43
	Bilaga 3.....	46

Tabellförteckning

Tabell 1. Olika typer av frövila (Baskin & Baskin 2004)	14
Tabell 2. Översikt av sammanställd bakgrundsfakta för arterna i groningsförsöket.	16
Tabell 3. Information om accessionerna och deras insamling. Information för accessionerna hämtad via GRIN-Global (USDA 2024).....	22
Tabell 4. Utvalda Tetrazolium protokoll för respektive art, utifrån släktskap (ISTA 2011)	22
Tabell 5. Datum och tidsspann för stratifiering.....	23
Tabell 6. Behandlingar och hantering för groningsförsök (*60 ml för <i>Myrrhis odorata</i>). ...	24
Tabell 7. Översikt av frönas uppdelning inför inkubation.	25
Tabell 8. Jämförelse i andel grodda frön vid första och andra avläsning.....	27
Tabell 9. Andel anormala groddar i <i>Crambe maritima</i>	29

Figurförteckning

Illustrationerna i arbetet är författarnas egna om inget annat anges.

Figur 1. Illustration av <i>Atriplex hortensis</i> . Bild från: Johann Georg Sturm (Painter: Jacob Sturm), Wikimedia commons	16
Figur 2. Bild på <i>Crambe maritima</i> . Bild från: David Baird, Wikimedia commons	17
Figur 3. Illustration av <i>Ligusticum scoticum</i> . Bild från Carl Axel Magnus Lindman, Wikimedia commons	19
Figur 4. Illustration av <i>Myrrhis odorata</i> . Bild från: Wikimedia commons	20
Figur 5. Placering av <i>Myrrhis odorata</i> frön i petriskål.....	24
Figur 6. Placering av <i>Crambe maritima</i> inför inkubation i veckat filterpapper	25
Figur 7. Stapeldiagram som visar resultatet från tetrazoliumtestet. Felstaplar markerar det 95 procentiga konfidensintervallet.	26
Figur 8. Resultat av slutavläsningar i groningsförsöken. Staplar markerade med samma bokstav indikerar att det ej fanns statistiskt signifikant skillnad inom respektive art.....	27
Figur 9. Jämförelse mellan den bästa behandlingen för varje art och resultatet från tetrazoliumtestet.....	28
Figur 10. Skadade <i>Atriplex hortensis</i> groddar efter behandling med H ₂ O ₂	28
Figur 11. Exempelbild över en grodd från varje behandling i <i>C.maritima</i>	29
Figur 12. Exempelbild över <i>Ligusticum scoticum</i> efter slutavläsning från varje behandling	29
Figur 13. Exempelbild av varje behandling för <i>Myrrhis odorata</i> efter slutavläsning	30
Figur 14. Tetrazoliuminfärgade <i>A. hortensis</i> frön	31
Figur 15. Tetrazoliuminfärgade <i>C. maritima</i> frön	31
Figur 16. Exempelbild över tetrazoliuminfärgning i <i>L. scoticum</i> . Frön t.v. ansågs ej metaboliskt aktiva i embryot. Frön t.h ansågs metaboliskt aktiva.	31

Figur 17. Mikroskopbild av *Myrrhis odorata* efter tetrazoliuminfärgning. Frön till vänster ansågs ej vara metaboliskt aktiva i embryot. Frön till höger ansågs vara metaboliskt aktiva i embryot. 32

Förkortningar

ABA	Abskisinsyra
GA ₃	Gibberellinsyra
H ₂ O ₂	Väteperoxid
ISTA	International Seed Testing Association
KNO ₃	Kaliumnitrat
MD	Morfologisk frövila
MPD	Morfofysiologisk frövila
NordGen	Nordiskt Genresurscenter
PD	Fysiologisk frövila
PY	Fysisk frövila
PY+PD	Kombinerad Fysisk och Fysiologisk frövila
TZ	Tetrazolium

1. Introduktion

I en del av arbetet för att uppnå FN:s globala hållbarhetsmål är det nödvändigt att bevara och arbeta för ett hållbart nyttjande av genetiska resurser. Genetiska resurser definieras som ”genetiskt material av faktiskt eller potentiellt värde” och ”varje material av växt-, djur-, mikroorganism- eller annat ursprung, som innehåller funktionella enheter av arvs massa” (Food and Agriculture Organization of the United Nations 2009). I Sverige leds en del av detta arbete av det Nordiska Genresurscentret (NordGen), genom bevarande av djur och växter som är viktiga för mat och lantbruk (NordGen 2024a). Dessa genetiska resurser bevaras *in situ*, inom artens naturliga växtplats, samt *ex situ*, utanför artens naturliga livsmiljö, genom insamling av fröer och växtmaterial till genbanken i Alnarp.

En del av det växtmaterial som samlas in och bevaras är vilda kulturväxtsläktingar till odlade grödor, och arter som historiskt använts som medicinal- eller kryddväxter (Palmé *et al.* 2019; Carlson-Nilsson & Aloisi 2022). Dessa vilda släktingar kan bära på viktiga egenskaper och genetisk mångfald som över tid gått förlorade i domesticerings- och växtförädlingsprocesser. De är därmed viktiga för förädlingsprogram, speciellt för att möta de utmaningar som klimatförändringarna för med sig. Arterna kan även ha potential som odlade grödor i sig.

Frösamlingen som bevaras i genbanken behöver hållas vid liv och hålla god kvalitet, därför krävs det regelbundna grobarhetstester (NordGen 2024b). Är grobarheten för låg efter lång lagringstid i frys eller antalet frön i lagring har minskat genom användning behöver fröna förökas och förnyas genom odling i fält eller växthus. För att kunna genomföra dessa grobarhetsanalyser eller odlingar krävs det kunskap om de specifika arternas optimala förutsättningar för att gro samt de åtgärder som krävs för att bryta frövilan. För många vilda eller sällan kommersiellt odlade arter saknas officiella groningsprotokoll från organisationer som ISTA (International Seed Testing Association). Kunskapen om vilda arters specifika groningsförutsättningar är ofta lägre, och arterna kan naturligt ha mer oregelbunden groning och stark frövila än domesticerade arter där dessa egenskaper förädlats bort.

1.1 Syfte och frågeställning

Syftet med detta arbete är att genomföra groningsförsök för att bryta frövilan hos fyra utvalda växtarter; trädgårdsmålla (*Atriplex hortensis*), strandkål (*Crambe maritima*), strandloka (*Ligusticum scoticum*), och spansk körvel (*Myrrhis odorata*). Dessa arter har valts ut då groningsprotokoll i dagsläget saknas, eller tidigare försök inte lyckats uppnå tillräcklig grad av groning. Målsättningen för groningsförsöken utgår från NordGens interna standard att uppnå 85% grodda frön.

Arbetet kommer utgå ifrån frågeställningen:

Hur påverkar de utvalda behandlingarna dem fyra växtarternas potential att bryta frövilan?

2. Bakgrund

2.1 Bevarande

Bevarandet av vilda släktingar i genbanker uppfyller ett viktigt syfte för att bibehålla en variation av genetiskt material. Domesticerade arter har en reducerad genetisk diversitet genom selektionsförädling som isolerat gener av agrikulturellt värde (Dempewolf *et al.* 2017). De vilda populationerna kan stärka förädlingen av domesticerade arter, genom att bära på relevanta gener som exempelvis kan användas inom resistensförädling, samt andra anpassningar för att klara klimatförändringarna vi står inför (Landqvist 2018). Ett exempel på detta är resistensförädling mot potatisbladmögel (*Phytophthora infestans*) genom att överföra resistensgener från den vilda potatissläktingen *Solanum demissum* (Dempewolf *et al.* 2017). Många vilda släktingar fyller även ett kulturhistoriskt värde, ofta utifrån ett medicinalt eller livsmedelsbruk. Genom insamling av dessa för bevarande i genbank, säkras de från att gå förlorade. Växter i naturen hotas av den ökade skövlingen av naturliga habitat för att bereda plats för monokulturer och infrastruktur (Naturvårdsverket 2024).

2.2 Frövila

Frövila är mekanismer hos växter för att groningen ska ske vid de mest gynnsamma förhållandena för växten och för att undvika att groningen sker direkt efter frömodnaden när de sitter kvar på moderplantan. Den kan definieras som ett frö som inte gror trots att grundläggande miljöfaktorer som vatten, syre och temperatur är uppfyllda, även ljus, beroende på art (Baskin & Baskin 2014). Frövilan möjliggör för växten att vänta in nästa växtsäsong, gynna bättre spridning av fröna innan de gror eller uppbyggnad av en fröbank i jorden (Leadem 1997; Bewley *et al.* 2013). Baskin & Baskin (2004; 2014) klassificerar frövilan i fem huvudsakliga kategorier, dessa redovisas översiktligt i Tabell 1 nedan, dessa kan även vidare klassificeras utefter hur djup frövilan är. Abskisin (ABA) har en stor roll för inducering och bibehållande av frövilan, även om dess direkta roll är oklar och nivåer av ABA kan variera inom olika arter (Baskin & Baskin 2014).

Tabell 1. Olika typer av frövila (Baskin & Baskin 2004)

Typ av frövila:	Yttre frövila		Inre frövila		
	Fysisk (PY)	Fysiologisk (PD)	Morfologisk (MD)	Morfofysiologisk (MPD)	Kombinerad (PY+PD)
Orsak:	Vatten kan ej tränga in i fröet på grund av ogenomträngliga strukturer, ex. fröskal, frökapsel eller lager av pallisadceller	Fysiologiska mekanismer som motverkar groningen, ex. hormonbalansen i fröet.	Underutvecklat embryo, litet embryo i förhållande till endosperm	Kombination av underutvecklat embryo och fysiologiska mekanismer.	Kombination av fysisk vila och fysiologisk vila
Metod för att bryta:	Öppna eller ta bort strukturen, eller såra den genom att till exempel slipa skalet med sandpapper (rispning, <i>scarification</i>)	Varm eller kall stratifiering, som simulerar en sommar eller vinterperiod. Behandling med hormoner som GA ₃ , KNO ₃ eller etylen.	Tid att utvecklas under fördelaktiga förhållanden	Varm eller kall stratifiering.	Kombination av stratifiering och rispning

2.2.1 Behandlingar för att bryta frövila

I denna sektion beskrivs det urval av behandlingar för att bryta frövila som använts under detta arbete, samt översiktligt hur de fungerar. Behandlingarna har baserats på material som är lättillgängligt i NordGens frölaboratorium, samt utifrån rekommendationer från ISTA:s International Rules for Seed Testing (1993).

Köldstratifiering - För att bryta fysiologisk frövila används en period av kyla och fukt, s.k. stratifiering, mellan ca 0 till 10°C (Baskin & Baskin 2014). Detta simulerar vintern och när köldperioden sen avslutas uppfattas det av fröet som att det är vår och därför ett gynnsamt tillfälle att gro (Bewley *et al.* 2013). Köldstratifiering behövs ofta för växter anpassade till ett tempererat klimat där fröna mognar under hösten och sedan gror på våren (Baskin & Baskin 2014). I många arter orsakar köldstratifieringen att nivåerna av ABA minskar, eller att embryots känslighet för ABA minskar (Kucera *et al.* 2005).

Gibberellinsyra – Gibberellinsyra (GA_3) är ett vanligt förekommande växthormon som reglerar flera processer i växtens livscykel, bland annat för att bryta frövila och under frögroningen (Evert & Eichhorn 2013).

Gibberellinsyra verkar antagonistiskt med ABA och i många arter kan tillsats av gibberellinsyra öka gröningshastigheten eller fungera som substitut för andra frövilebrytande behandlingar (Kucera *et al.* 2005; Evert & Eichhorn 2013).

Kaliumnitrat (KNO_3) - I många arter kan frögroningen gynnas genom exogen tillsats av nitrater (Nautiyal *et al.* 2023). Kaliumnitrat (KNO_3) är den mest använda kemikalien för att bryta frövila på detta sätt. Det kan även förbättra hastigheten och ge jämnare groning. KNO_3 är även effektivt för att motverka inhiberande grönings effekt orsakat av salter (Nautiyal *et al.* 2023).

Väteperoxid (H_2O_2) - H_2O_2 och andra reaktiva syreradikaler (ROS) genereras i fröet i samband med imbibitionen och groningen då fröet tar upp vatten (Wojtyla *et al.* 2016). Dessa kan verka skadliga för fröet genom oxidativ stress och därmed negativt påverka groningen. Dock kan H_2O_2 även verka som en signalsubstans som reglerar frövilan och gröningsprocesser, balansen mellan de skadliga effekterna och de gynnsamma signaleringseffekterna kan vara svår att uppnå (Wojtyla *et al.* 2016). Exogen tillsats av H_2O_2 under olika ljusförhållanden har visats kunna både främja och hämma groning beroende på de olika ljuskvaliteterna (Lariguet *et al.*, 2013 se Wojtyla *et al.* 2016). H_2O_2 kan även användas för att sterilisera fröna och därmed undvika att angrepp av patogener skadar fröet (Gilbert *et al.* 2023). Det var främst på grund av denna steriliserande effekt, behandlingen valdes. Utöver detta kan H_2O_2 fungera som en rispningsmetod (*scarification*) genom att lösa upp hårda fröskal (Rosner *et al.* 2003).

2.3 Utvalda växtarter

Arterna gröningsförsöken innefattar har valts ut eftersom det i dagsläget saknas information om grobarhet och gröningsprotokoll av dessa hos NordGen (Tabell 2). Samt att de vid upprepade tillfällen haft en låg grobarhet vid tidigare tester. Urvalet baserades även på tillgänglighet av tillräcklig mängd fröer för att genomföra försöken. För att förstå arternas typer av frövila och hur man kan bryta frövilan, är det viktigt att veta deras gröningssekologi.

Tabell 2. Översikt av sammanställd bakgrundsfakta för arterna i groningsförsöket.

Latin	Trivialnamn	Engelskt namn	Familj	Livscykel	Frövila
<i>Atriplex hortensis</i>	Trädgårdsmålla	Garden orache	Amaranthaceae	Annuell	PD
<i>Crambe maritima</i>	Strandkål	Sea kale	Brassicaceae	Perenn	PD
<i>Ligusticum scoticum</i>	Strandloka	Scots lovage	Apiaceae	Perenn	MD/MPD
<i>Myrrhis odorata</i>	Spansk körvel	Sweet cicely	Apiaceae	Perenn	MPD

2.3.1 *Atriplex hortensis* – Trädgårdsmålla

Atriplex hortensis med svenskt namn trädgårdsmålla eller mållspenat är en ettårig örtartad växt i familjen *Amaranthaceae* (tidigare *Chenopodiaceae*) och är en gammal kulturväxt. Den är besläktad med odlade växter som quinoa, amarant, spenat och mangold, samt ogräset svinmålla (Brittanica 2024).

Den växer i stora delar av Sverige men främst i södra och mellersta delarna, ofta på störd mark eller i trädgårdar, vid huskanter och tippar (Mossberg & Stenberg 2018; Artdatabanken 2024a). Den har en upprätt stjälk som är lätt förgrenad, och kan bli upp till ca 40–100 cm hög (Figur 1). Bladen är hjärtlika eller triangulära och ca 4–9 cm långa. De bildar täta blomsamlingar i toppen av plantan av oansenliga blommor. Fröna är små, ca 1–2 mm i diameter, oftast bruna eller svartfärgade och sitter i platta pappersaktiga frökapslar.



Figur 1. Illustration av *Atriplex hortensis*. Bild från: Johann Georg Sturm (Painter: Jacob Sturm), Wikimedia commons

I handeln förekommer flera sorter av trädgårdsmålla med varierande färger, många starkt röda eller rosafärgade men även gröna och gula sorter (Cornell Garden Based Learning 2024). Den odlas som bladgrönsak men har även på grund av dess färger och fröställningar prydnadsvärde i rabatter eller som snittblomma (Cornell University 2024). Som grönsak äts den främst likt dess släkting spenat, men även fröna är ätbara. Fröna används då torkade och malda som mjöl eller som gryn och

gröt likt quinoa (Källman 1997; Sundgren 2017). Enligt Kubiak-Martens (1999) har arter inom *Atriplex* troligtvis använts som mat i södra Skandinavien ända sedan stenåldern, i det som kallas Erteböllekulturen. *Atriplex hortensis* har även noterats i arkeobotaniska uppgifter från norra Europa från järnåldern till medeltiden (Hjelmqvist 1991; Karg 2014).

Trädgårdsmållan är näringsrik, och fröna har även en hög proteinhalt på ca 25,7% (Wright *et al.* 2002). Den är mer värmetålig än spenat, och är även tålig för torra och salt (Cornell University 2024). Enligt Wright *et al.* (2002) är *A. hortensis* ett potentiellt alternativ till quinoa, *Chenopodium quinoa*, då frön från *A. hortensis* inte innehåller saponiner så som quinoa gör.

Trädgårdsmållan är heterokarp, vilket innebär att dess frukter förekommer i tre olika typer som är morfologiskt distinkta och har varierande frövila. I en studie av Mandák (2003) kallas dessa frukttyper A, B och C, och groningsförsök visade att frukttyp C sakade frövila. Frukttyp A och B hade olika nivåer av frövila. I Mandáks försök ökade andelen grodda frön i alla tre frötyper efter en månads köldstratifiering i 3–5°C. Stratifieringen ledde till ca 81,6–100% andel grodda frön.

2.3.2 *Crambe maritima* L. – Strandkål

Crambe maritima L. kallad strandkål med svenskt trivialnamn. *Crambe maritima* är en perenn kålväxt tillhörande familjen *Brassicaceae* (Artdatabanken 2024c). Släktet *Crambe* är litet och de närmaste släktingarna till *C. maritima* är *C. hispanica* (oljekål) och *C. cordifolia* (stäppkål), men har även en bredare tillhörighet till *Brassica* släktet där många basgrödor ingår. Den har sitt ursprung kring norra och västra Europas kuster mot Atlanten (Aldén *et al.* 1998).



Figur 2. Bild på *Crambe maritima*. Bild från: David Baird, Wikimedia commons

I dagsläget går det att observera främst längs Sveriges västkust men även längs östkusten upp till mellersta Sverige, samt runt Öland och Gotland (Mossberg & Stenberg 2018). Släktnamnet *Crambe* kommer från grekiskan och pekar på dess utseende av att vara lik kål, medan artnamnet *maritima* kommer från latinets och indikerar dess växtplats vid havet (Missouri Botanical Garden 2024a).

Crambe maritima producerar familjen *Brassicaceae*s karaktäristiska blommor med fyra vita kronblad i täta kluster (Mossberg & Stenberg 2018).

Fröförökade plantor kan ta 5–8 år på sig innan första blomningen och produktionen av nya frön. Vegetativt förökade plantor från äldre växtdelar har förmåga att

blomma mycket tidigare, möjligtvis redan efter ett år (Sanyal & Decocq 2015). *Crambe maritima* växer i klungor, och bildar klotformade plantor med en bredd kring 60–75 centimeter, och en höjd på 75–90 centimeter (Missouri Botanical Garden 2024a). Den växer i sandiga dyner och stensättningar och växer sig fast med en robust pålrot som förgrenar sig i laterala rötter som kan sprida ut sig cirka 2 meter vertikalt från plantan (Sanyal & Decocq 2015). *Crambe maritima* förgrenar sig lätt och producerar långa krusiga blad som skiftar från lila till blågrönt under säsongen, och kan jämföras utseendemässigt med grönkål (Figur 2). Blommor som pollinerats av insekter, producerar en kapsel per blomma, med ett frö i varje kapsel. Frökapseln är gulgrön och innehåller ett mycket mindre och mörkbrunt frö, varje planta kan producera några tusen frön beroende på storlek.

Crambe maritima har använts som prydnadsväxt till trädgårdar, men även odlats i kulinariska syften för bladen, blommorna, stjälkarna och roten (Missouri Botanical Garden 2024a). Blomknopparna liknar broccoli floretter och kan användas på liknande sätt i matlagning, de utslagna blommorna har en söt och intensiv honungsdoft som kan utnyttjas till smaksättning av olika rätter (Irving 2009). Späda stjälkar skördade på våren kan hanteras på likvärdigt vis som sparris och dem unga bladen kan ätas färska eller tillagas på samma sätt som spenat (Missouri Botanical Garden 2024a). Historiskt har man hållt på sand på nya skott för att tvinga dem att växa sig längre medans dem fortfarande är mjälla och späda, för att skörda dem elongerade skotten och sälja dem på marknader (Irving 2009).

Enligt Baskin and Baskin (2014) har andra arter av *Crambe* en fysiologisk frövila. Sanyal and Decocq (2015) beskriver att det största hindret för groningen för *C. maritima* är den hårda frökapseln som hindrar vatteninträngning till fröet. Vidare beskriver de att optimal temperatur för inducering av groningen för *C. maritima* är runt 5–15 °C, som speglar det tempererade klimatet dem har sin spridning. Enligt tidigare gröningsförsök har man sett framgång av att blötlägga fröna i Gibberellinsyra av olika koncentrationer och tidsintervaller, samt genom att avlägsna frökapseln (Lan *et al.* 1996). Lan *et al.* (1996) gjorde även försök med olika ytsteriliseringsmedel, 20% Natriumhypoklorit och 0,2% Dithane 45M, som både hade en negativ effekt på groningen av *Crambe maritima*.

2.3.3 *Ligusticum scoticum* L. – Strandloka

Ligusticum scoticum L., ibland även stavat *scothicum*, är en perenn blommande växt i familjen *Apiaceae* som växer i kustmiljö på klippiga och steniga stränder. Den har cirkumpolär utbredning på norra halvklotet (USDA 2024). Dess södra utbredning är begränsad till områden där medeltemperaturen i juli inte överstiger 15°C (Palin 1988). Den blir ca 20–60 cm hög, med kal och strimmig stjälk som är

rosaktig nedtill (Figur 3). Bladen är mörkgröna och dubbelt 3-delade (Mossberg & Stenberg 2018). Blommorna sitter i flock och är vita eller grönvita. Frukten är 5–8 mm långa, ovalformade med vingade åsar. Blomningstiden är juli-augusti och fröna mognar oktober-november. Den bildar en pålrot på ca 20–40 cm (Palin 1988). Den har hög frosttolerans, och är även tålig mot saltstänk (Okusanya 1979b).

Hela växten är ätbar, och i Skottland har stjälken använts likt selleri, eller kanderats likt kvanne, frön har använts för att smaksätta olja till godis (Watts 2007). Medicinalt har den använts mot skörbjugg, mot halsont eller som medicin till boskap och får (Allen & Hatfield 2004; Watts 2007).

I ett tidigare försök av Palin (1979) undersöktes temperatur och ljusbehandlingar på groningen hos *L. scoticum*. Detta visade att högst andel frön grodde i temperatur på 5°C eller 20° med snabbare groningen vid 20°C. Även i växlande ”dag”/”natt” temperatur grodde högre andel frön då dagstemperaturen var kring 18–26°C och nattetemperaturen ca 10°C. I Palins försök syntes ingen statistiskt signifikant skillnad på groningen i ljus eller i mörker. Ett annat försök av (Okusanya 1979a) visade däremot att fröna grodde

bättre i mörker än i ljus. Okusanya undersökte även effekten av havsvatten i olika koncentrationer på frögroningen, groningen påverkas mycket lite i koncentrationer upp till 15% havsvatten, men minskade i högre koncentrationer, inga frön grodde i koncentration på 50%. Groningen gynnades av en köldperiod på ca tre månader (Okusanya 1979a; Palin 1988). Enligt (Baskin & Baskin 2014) har *L. scoticum* en Morfologisk frövila eller Morfofysiologisk frövila utifrån de två ovan nämnda studierna.



Figur 3. Illustration av *Ligusticum scoticum*. Bild från Carl Axel Magnus Lindman, Wikimedia commons

2.3.4 *Myrrhis odorata* L. – Spansk körvel

Myrrhis odorata L, med svenskt trivialnamn spansk körvel. Det är en örtartad perenn växt som tillhör familjen *Apiaceae* (Artdatabanken 2024b). *Myrrhis odorata* är den enda arten inom släktet *Myrrhis*, men delar familj med den annuella växten *Anthriscus cerefolium* (Dansk körvel) som har liknande utseende och doftegenskaper som *M. odorata* (Almark 2024). Den har sitt ursprung i bergsområden kring södra och centrala Europa (Aldén *et al.* 1998). Enligt Artdatabanken var *M. odorata* redan införd och spridd innan 1800-talet, och har fått en spridning från södra upp till mellersta Sverige. Namngivningen för *Myrrhis*

kommer från grekiskan och syftar på doften från myrra, *odorata* efter det latinska 'odoratus' som betyder väldoftande (Aldén *et al.* 1998).

Myrrhis odorata har flockblommiga blomställningar med 4-20 små vita blommor i knippen med ca 20 mm långa mörkbruna/svarta frön satta parvis (Mossberg & Stenberg 2018). Fröna har en distinkt anisdoft, som utnyttjas i kryddning (Missouri Botanical Garden 2024b). Den har ett upprätt växtsätt mellan 60-160 cm och växer oftast i klunga (Mossberg & Stenberg 2018). *M. odorata* är ljusgrön till färgen, stjälken är ihålig med en yttre yta som är räfflad och belagd med gles behåring (Figur 4). Bladen är mörkare än stammen, sammansatta och sitter motsatta i par, likt ormbunkars bladställning (Missouri Botanical Garden 2024b).



Enligt Lhotská (1977) har *Myrrhis odorata* ett relativt stort frö som främst består av endosperm och sedan får ett proportionellt litet embryo (Martin 1946). Eftersom *M. odorata* har ett underutvecklat embryo betyder den att den har en Morfofysiologisk frövila (Baskin & Baskin 2014). För att bryta frövilan måste embryot växa inuti fröet tills det når en kritisk storlek, samt så måste den fysiologiska inhiberande mekanismen som förhindrar frögroning, brytas. Från tidigare tester utförda av Lhotská (1977) har *M. odorata* börjat gro efter 59-65 dagar av stratifiering i -1 till +5 °C, samt efter 63-82 dagars stratifiering i 3-5 °C . En majoritet av fröna grodde dock efter 70-90 dagar i behandlingen med lägre temperatur. I behandlingen med högre temperatur grodde en majoritet efter 80-110 dagars stratifiering.

Figur 4. Illustration av *Myrrhis odorata*. Bild från: Wikimedia commons

Myrrhis odorata har sedan länge tillbaka använts till matlagning som smaksättare på grund av sina aromatiska egenskaper, där både rot, blad och frön går att ta vara på. Bladen äts till fördel färska i sallader eller som garnering, medan roten kan hanteras på liknande sätt som rotfrukter tillhörande *Apiaceae*, som palsternacka (*Pastinaca sativa*) eller morot (*Daucus carota*) (Irving 2009). Fröna går att äta både när de är gröna och har en starkare anisdoft, eller när de mognat och blivit mörkare. Men utöver sin användning till kulinariska ändamål, har den sedan länge tillbaka utnyttjats i medicinska syften (Ullenius 2021). Enligt Sundgren (2017) hade rötterna en uppiggande effekt på kroppen, men användes även till många olika sjukdomar och åkommor. Roten kunde även tillredas som en salva för hudåkommor som bölder (Ullenius 2021).

3. Material och metod

Det praktiska arbetet kring groningsförsöken utfördes i NordGens frölaboratorium i Alnarp.

3.1 Avgränsningar

För att hålla en avgränsning för groningstestet användes bara behandlingar i form av olika lösningar, och inte mekaniska behandlingar som att slipa eller rispa fröna, då arbetet utfördes under begränsad tid samt för att få mer enhetliga behandlingar som potentiellt kunde fungera på alla arterna. Denna tidsbegränsning gjorde även att det inte var möjligt att utföra behandlingar i form av stratifieringsperiodens längd. Även det tetrazoliumtest som nämns nedan i stycke 3.3 behövde utföras på ett stickprov av frön från samma accession, och kunde inte genomföras efter behandlingarna i groningstestet på grund av tidsbrist.

3.2 Accessioner

För varje art används en accession, det är fröer av samma art, insamlade från samma plats under samma tidpunkt. Frön av en accession får ett unikt nummer för lagring i genbanken (accessionsnummer), som kan kopplas till information om den specifika accessionen. De fyra accessionerna groningsförsöket utfördes på, är insamlade från vilt ursprung. Efter insamling av fröerna har tiden innan ankomst till genbank varierat. Vid ankomst till genbanken torkas fröna i ca 3 månader till en maximal vattenhalt på 7%, då en lägre vattenhalt gör fröna mer hållbara för långtidslagring. Efter torkningen packas de i förslutna förpackningar för långtidförvaring i frysar, med en temperatur på -18 °C. Tiderna för lagring hos de fyra accessionerna varierar utifrån insamlingstidpunkt (Tabell 3).

Tabell 3. Information om accessionerna och deras insamling. Information för accessionerna hämtad via GRIN-Global (USDA 2024).

Art	Accession	Inventory nr.	Insamlings datum	Insamlings Land	Fyndplats	Antal individer
<i>Atriplex hortensis</i>	NGB18672	22SD	2008-01-07	Sverige	Vena, Kalmar	Data saknas
<i>Crambe maritima</i>	NGB8426	26SD	1990-01-29	Sverige	Fågelviken, Mölle	Data saknas
<i>Ligusticum scoticum</i>	NGB132084	22SD	2014-08-06	Danmark	Hanstholm	50
<i>Myrrhis odorata</i>	NGB23635	12SD	2011-09-01	Sverige	Skrylle, Lund	20

3.3 Tetrazolium test

För att testa fröerna från accessionernas metaboliska aktivitet i väsentliga vävnader, genomfördes tetrazoliumtest. Reaktionen i tetrazoliumtestet färgar vävnader med metabolisk aktivitet, en mörk nyans av rosa, via närvaron av enzymet dehydrogenas från respirationen (Elias *et al.* 2012). Dehydrogenas oxiderar substratet (trifenyltetrazoliumklorid). Sedan katalyserar dehydrogenaser den ofärgade trifenyltetrazoliumklorid-lösningen till formazan, som färgar dem metaboliska vävnaderna lila/rosa. Genomförandet av tetrazoliumtestet innan groningsförsöken kan ge en indikation på om resultaten av behandlingarna för groning överensstämmer med den förväntade grobarheten från tetrazoliumtestet.

Tabell 4. Utvalda Tetrazolium protokoll för respektive art, utifrån släktskap (ISTA 2011)

Accessions arter i testet	Tetrazolium protokoll av släkting
<i>Atriplex hortensis</i> (Amaranthaceae)	<i>Chenopodium</i> (målla)
<i>Crambe maritima</i> (Brassicaceae)	<i>Brassica</i> (kål)
<i>Ligusticum scoticum</i> (Apiaceae)	<i>Foeniculum</i> (fänkål)
<i>Myrrhis odorata</i> (Apiaceae)	<i>Foeniculum</i> (fänkål)

Tetrazoliumtestet utfördes utifrån instruktioner från ISTA working sheets on Tetrazolium testing (2011). Till testet användes en tetrazoliumlösning (trifenyltetrazoliumklorid) blandad utifrån ett standardrecept hos NordGen (bilaga 1). Eftersom ISTA inte har protokoll över tetrazoliumtest för de specifika arterna det här groningsförsöket använder sig av, följs protokoll för tester av släktingar med

liknande morfologi till arterna (Tabell 4). Från varje accession testades 50 frön. Stickproverna genomgick en förbehandling av blötläggning, sedan fysisk förbehandling där ett litet snitt eller stick gjordes genom skalet och endospermen. Därefter infärgades de med tetrazoliumvätskan i en ugn med en värmeinställning på 30 grader för att bibehålla en jämn temperatur. Efter infärgning genomfördes avläsning utifrån protokollen för arterna. Läs bilaga 2 för detaljerad information från protokollen.

3.4 Stratifiering

Alla frön från de fyra accessionerna stratifierades i kylrum, som har en jämn temperatur på 4°C. Accessionernas stratifiering pågick i ca 50 dagar (Tabell 5), innan de genomgick behandlingar för att mäta groningen. *Crambe maritima* och *Myrrhis odorata* stratifierades i 12 plastpåsar per art innehållande fuktig sand, med 100 frön i varje påse. *Atriplex hortensis* och *Ligusticum scoticum* var placerade i petriskålar som i sin tur var uppdelade i fyra plastpåsar per art. I varje plastpåse placerades 6 petriskålar med ca 50 frön i varje petriskål. Genom att dela upp petriskålar och lösa frön i olika påsar minskas möjligheten för ett delat miljöförhållande, som kan bli en faktor för hur bra fröna gror samt sjukdomsspridning.

Tabell 5. Datum och tidsspann för stratifiering

Art	Datum	Dagar i kyl
<i>Atriplex hortensis</i>	07/03 → 25/4	47
<i>Crambe maritima</i>	06/03 → 25/4	48
<i>Ligusticum scoticum</i>	01/03 → 25/4	54
<i>Myrrhis odorata</i>	06/03 → 26/4	49

Innan stratifiering behandlades *C. maritima* genom att avlägsna frökapseln, med hjälp av en mortel för att knäcka skalet för att komma åt fröet. Efter det tröskades fröna med en maskin (Hoffman HMC 67 Seed Blower) för att separera skalbitar från fröna. För alla accessioner räknades mängden frön i en fröräknare med hjälp av datorprogrammet Marvin 7.0 Seed Analyzer, där 12 omgångar av 100 frön per art räknades, samt 50 frön extra för tetrazolium.

3.5 Behandlingar

Varje accessions fröer delades upp till fyra behållare med lika antal frön från varje stratifieringspåse. Därefter rullades en tärning för att välja vilken behållare som fick vilken behandling. För att avlägsna sand inför uppdelning mellan behållarna sköljdes *M. odorata* och *C. maritima* av med kranvatten. Efter uppdelningen av fröerna blev det cirka 300 frön i varje behållare (1200 frön totalt) av varje accession. Ett fåtal frön togs bort då de redan hade grott under stratifieringsperioden (ca 5 st totalt), även frön som gått sönder togs bort (ca 45 st i *Crambe maritima*).

Accessionerna av de olika arterna genomgick därefter samma behandlingar; KNO_3 , GA_3 , H_2O_2 samt en kontrollbehandling som enbart består av kranvatten. Fröna täcktes av behandlingsvätskan i behållarna och fick stå i inkubator, med en konstant temperatur på 20°C , i ett dygn. Tiden och temperaturen är likvärdig för alla behandlingar och accessioner, dock skildes volymen på grund av storleksskillnaden i fröna hos de olika arterna (Tabell 6). Eftersom gibberellinsyra är ljuskänsligt täcktes dessa behållare med folie för att blockera ljuset. Fröna som behandlats med H_2O_2 sköljs av med vatten i ca 20 sekunder innan dem flyttades till behållare för inkubation.

Tabell 6. Behandlingar och hantering för groningsförsök (*60 ml för *Myrrhis odorata*).

Ämne	Koncentration	Volym	Tid
Kaliumnitrat (KNO_3)	0,2 % konc	20 mL (60 mL) *	24 h
Gibberellinsyra (GA_3)	0,05 % konc	20 mL (60 mL) *	24 h
Väteperoxid (H_2O_2)	3% konc	20 mL (60 mL) *	24 h
Kontroll (H_2O)	–	20 mL (60 mL) *	24 h

3.6 Inkubation

Efter behandlingarna placerades fröna ut i petriskålar (10 cm i diameter) med två ark fuktat filterpapper (Figur 5). För varje behandling genomfördes 3 replikat med ca 100 frön i varje replikat. På grund av begränsat utrymme i petriskålarna delades *Atriplex hortensis* och *Ligusticum scoticum* in i två subreplikater med 50 frön i varje petriskål. Även *Myrrhis odorata* delades in i 5 subreplikater med 20 frön i varje petriskål. Dessa staplades ovanpå varandra. Varje replikat



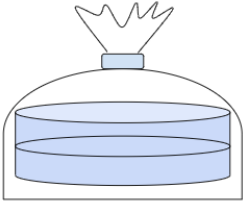
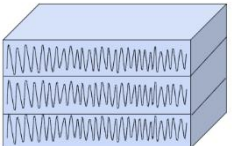
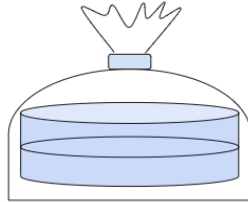
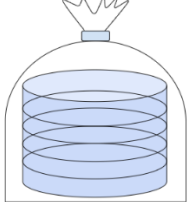
Figur 5. Placering av *Myrrhis odorata* frön i petriskål

placerades i en egen plastpåse. *Crambe maritima* placerades i stället ut med 2 frön per veck i veckat filterpapper med totalt 100 frön per låda i stapelbara plastlådor (Figur 6). Se tabell 7 för överblick. Alla accessionerna gick igenom inkubationsperioden i samma inkubator, med en temperatur på 20 °C dagtid i 12 timmar och 10 °C natttid i 12 timmar. *Ligusticum scoticum* täcktes även med aluminiumfolie, för att ge en mörkare miljö för groningen. Replikaten för behandlingarna analyseras efter 7 dagar respektive 14 dagar av inkubationstiden.



Figur 6. Placering av *Crambe maritima* inför inkubation i veckat filterpapper

Tabell 7. Översikt av frönas uppdelning inför inkubation.

<i>Atriplex hortensis</i>	<i>Crambe maritima</i>	<i>Ligusticum scoticum</i>	<i>Myrrhis odorata</i>
50 frön per petriskål	100 frön per låda	50 frön per petriskål	20 frön per petriskål
2 petriskålar (subreplikat) per replikat	1 låda per replikat (inga subreplikat)	2 petriskålar (subreplikat) per replikat	5 petriskålar (subreplikat) per replikat
			

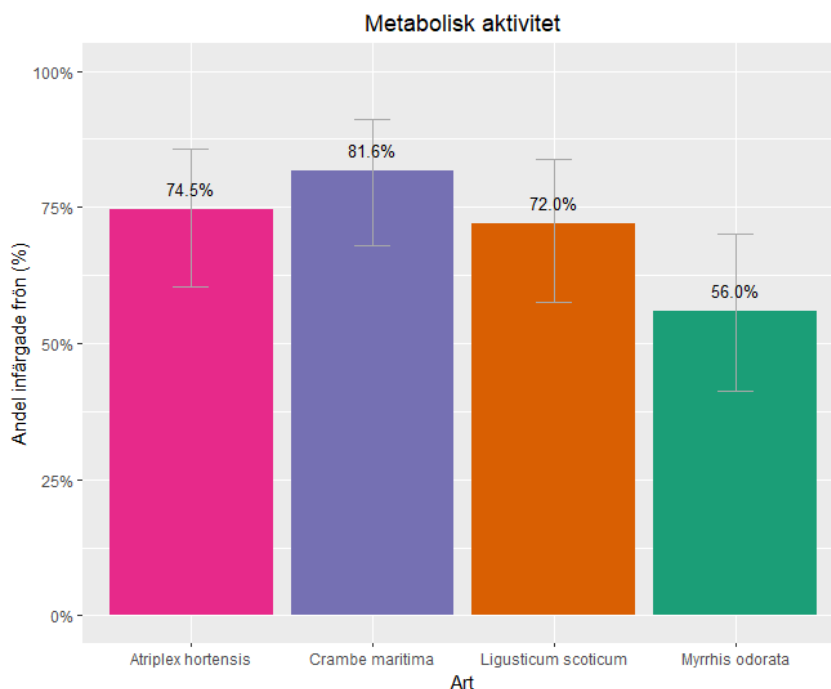
3.7 Statistisk analys

För den statistiska analysen användes programmet R studio. För tetrazoilumtestets resultat gjordes ett exakt binomialtest med funktionen *binom.test*, med 95% konfidensintervall. För groningenstesterna gjordes uträkningarna genom funktionen *glm* med binomialfördelning. Följt av funktionen *emmeans* för att skilja behandlingarna i ett ANOVA test. Signifikansnivån som användes var 0,05 och konfidensnivån 0,95. För mer detaljer se bilaga 3.

4. Resultat

4.1 Tetrazoliumtest

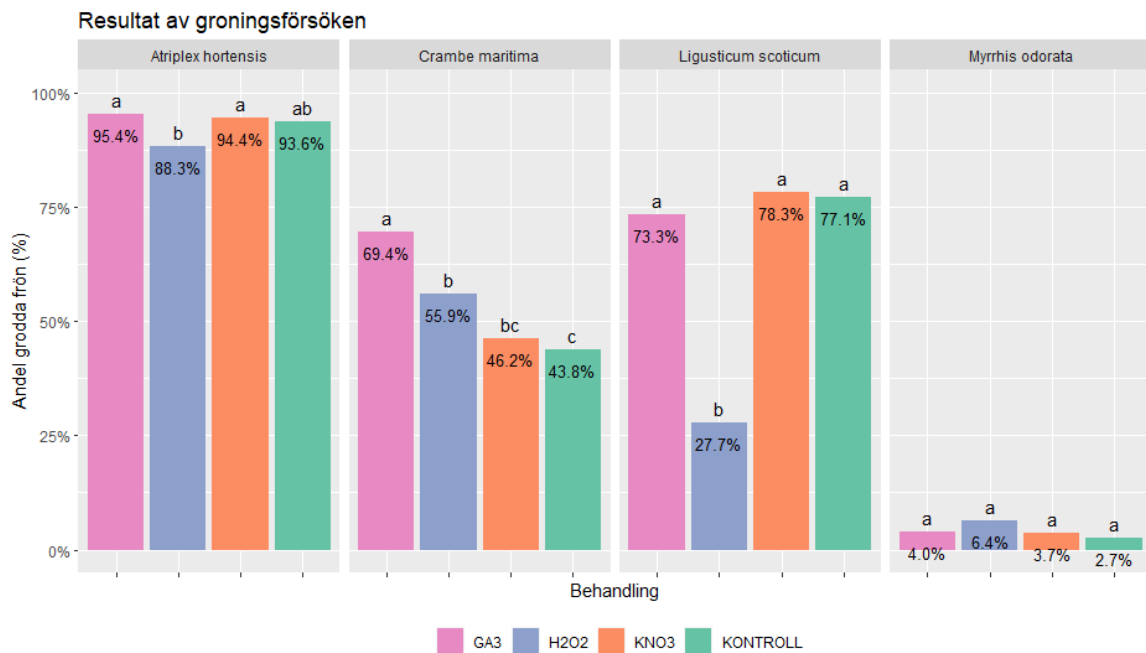
Resultaten av tetrazoliumtestet påvisade att en majoritet av fröna i accessionerna hade metabolisk aktivitet och klassas därför som levande frön (Figur 7). Accessionerna hade ett varierande resultat i ett spann från 56 till 81%. *Crambe maritima* gav bäst resultat med vitalitet i 81,63% hos fröerna, efterföljd av *Atriplex hortensis* med ett resultat på 74,5% och *Ligusticum scoticum* med ett snarlikt resultat på 72% vitalitet. *Myrrhis odorata* var accessionen med lägst resultat på 56%. Utifrån detta test kan vi teoretiskt förvänta oss att kunna uppnå samma nivå av grobarhet i groningstestet om frövilan bryts.



Figur 7. Stapeldiagram som visar resultatet från tetrazoliumtestet. Felstaplar markerar det 95 procentiga konfidensintervallet.

4.2 Groningsförsök

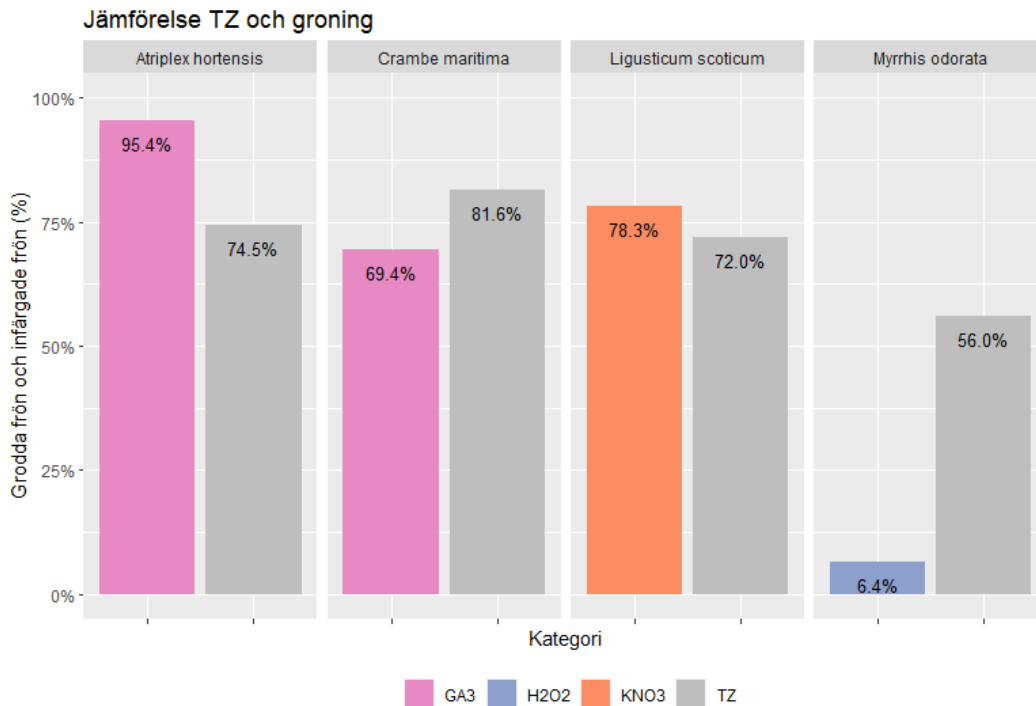
En första avläsning av resultatet av behandlingarna gjordes efter 7 dagar, och en andra slutavläsning efter 14 dagar (Tabell 8). Statistisk analys genomfördes endast på slutavläsningens resultat för alla accessioner. Ett frö räknades som grott om rotanlaget var tydligt urskiljbart med blotta ögat. Resultatet för alla slutavläsningar kan ses i Figur 8. Jämförelse mellan det högsta procentuella resultatet och resultatet från tetrazoliumtestet kan ses i Figur 9. Fröna undersöktes inte systematiskt efter angrepp av sjukdomar eller mögel, men vissa tecken på detta noterades under avläsningen, dessa noteringar redovisas nedan i styckena för respektive art. Omfattningen av dessa och andelen påverkade frön beräknades dock inte.



Figur 8. Resultat av slutavläsningar i groningsförsöken. Staplar markerade med samma bokstav indikerar att det ej fanns statistiskt signifikant skillnad inom respektive art.

Tabell 8. Jämförelse i andel grodda frön vid första och andra avläsning

	Behandling	Efter 7 dagar	Efter 14 dagar
<i>Crambe maritima</i>	Kontroll	26,0%	43,8%
	GA ₃	43,4%	69,4%
	H ₂ O ₂	29,7%	55,9%
	KNO ₃	17,9%	46,2%
<i>Ligusticum scoticum</i>	Kontroll	1,7%	77,1%
	GA ₃	0,0%	73,3%
	H ₂ O ₂	0,0%	27,7%
	KNO ₃	5,0%	78,3%
<i>Myrrhis odorata</i>	Kontroll	1,7%	2,7%
	GA ₃	1,7%	4,0%
	H ₂ O ₂	2,3%	6,4%
	KNO ₃	0,7%	3,7%



Figur 9. Jämförelse mellan den bästa behandlingen för varje art och resultatet från tetrazoliumtestet

4.2.1 *Atriplex hortensis*

För *Atriplex hortensis* avslutades försöket efter den första avläsningen efter 7 dagar då de redan uppnått en mycket hög andel grodda frön i alla behandlingar. Behandlingen med GA₃ hade högst andel grodda frön, 95,4% men det var ingen statistisk signifikant skillnad mellan den och behandlingen med KNO₃, 94,4% eller Kontrollbehandlingen, 93,6%. Behandling med H₂O₂ hade lägst andel grodda frön, 88,3%, denna behandling var inte statistiskt signifikant skild från kontrollbehandlingen (Figur 8). Vissa skador på groddarna kunde även observeras i de frön som behandlades med H₂O₂, där en del hjärtblad lossnat från resten av grodden som att de ”klämts fast” i fröet (Figur 10).

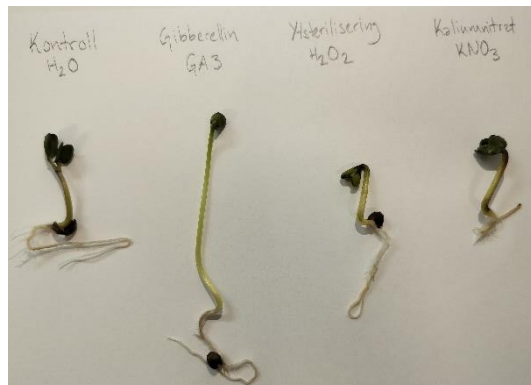


Figur 10. Skadade *Atriplex hortensis* groddar efter behandling med H₂O₂

4.2.2 *Crambe maritima*

Mer variation i responsen på behandlingarna syntes för *Crambe maritima*, där två av behandlingarna var signifikant skilda från kontrollbehandlingen; GA₃ och H₂O₂. Högst andel grodda frön gav behandling med GA₃ på 69,4%. Behandling med H₂O₂ gav 55,9% grodda frön. Behandling med KNO₃, 46,2%, var inte signifikant skild

från H₂O₂ eller kontrollbehandlingen med enbart vatten. Kontrollbehandlingen gav 43,8% grodda frön (Figur 8). Fröna började gro redan den första veckan, mellan 18–43% i de olika behandlingarna, med högst antal grodda frön i behandlingen med GA₃. Ingen av behandlingarna nådde målsättningen på 85% grobarhet efter 14 dagar i inkubatorn. En del av de frön som ej grott visade tecken på att ej vara dugliga, då de var mjuka och slemmiga eller hade svampangrepp, antalet av dessa undersöktes dock inte närmre. Vissa frön i alla behandlingar i *C. maritima* var även anormala men räknades ändå som att de grott, dessa groddar var antingen möjliga, eller så hade grodden utvecklats utan rot (Tabell 9). En exempelbild över groddarnas utseende efter 14 dagar finns i Figur 11.



Figur 11. Exempelbild över en grodd från varje behandling i *C.maritima*

Tabell 9. Andel anormala groddar i *Crambe maritima*.

Behandling	Andel anormala groddar
Kontroll	2,1%
GA ₃	7,6%
H ₂ O ₂	4,1%
KNO ₃	7,9%



Figur 12. Exempelbild över *Ligusticum scoticum* efter slutavläsning från varje behandling

4.2.3 *Ligusticum scoticum*

Ingen signifikant skillnad kunde urskiljas i tre av behandlingarna på *Ligusticum scoticum*, GA₃ (73,3%), KNO₃ (78,3%) och Kontrollbehandlingen (77,1%), men grobarheten var i allmänhet hög. De frön som ej ännu hade grott såg normala ut och kunde potentiellt gro efter mer tid. Behandlingen med H₂O₂ verkade ha en negativ påverkan på grobarheten, då endast 27,7% frön grott (Figur 8). Groddarna var i allmänhet mindre än i de andra behandlingarna. Överlag såg fröna friska ut i alla

behandlinger med låg mängd synliga svamp eller mögelangrepp, något mer i H₂O₂ (Figur 12).

4.2.4 *Myrrhis odorata*

Myrrhis odorata hade mycket låg grobarhet i alla behandlingar efter 14 dagar i inkubatorn, och det fanns ingen signifikant skillnad mellan dem (Figur 8). Högst andel grodda frön hade behandlingen H₂O₂ på 6,4%. Något lägre andel grodda frön hade GA₃ med 4,0% groddar. KNO₃ hade 3,7% grodda frön, och Kontrollbehandlingen 2,7%. Många av fröna hade mögel på skalén i alla behandlingar (Figur 13).



Figur 13. Exempelbild av varje behandling för *Myrrhis odorata* efter slutavläsning

5. Diskussion

5.1 Tetrazolium

Tetrazoliumtestet visade att det förekom metabolisk aktivitet i alla accessioner som testades till varierande grad. De utvalda protokollen från morfologiskt lika släktingar fungerade till viss grad. *Atriplex hortensis* (Figur 14), *Crambe maritima* (Figur 15) och *Ligusticum scoticum* (Figur 16) liknar arterna i sina respektive protokoll, och instruktionerna för avläsning kunde därmed enkelt överföras till våra testade arter. Däremot var *M. odorata* mycket större och långsmalare än fröerna i det utvalda protokollet *Foeniculum*. Detta skulle vara en möjlig förklaring för det relativt låga resultatet för denna accession. För att få ett mer rättvisande resultat skulle bättre anpassade protokoll kunna tas fram för de specifika arterna.



Figur 14. Tetrazoliuminfärgade *A. hortensis* frön



Figur 15. Tetrazoliuminfärgade *C. maritima* frön

Efter förbehandlingen av *C. maritima* när fröhinnan togs bort gick några frön sönder eller delade på sig. Detta ledde till att avläsningen försvårades av de lösa fröhalvorna som var svåra att para ihop igen.

Ligusticum scoticum var väldigt lik modellväxtens testprotokoll förutom ett hölje som var större än det faktiska fröet. Ett steg i förbehandlingen var att göra ett snitt genom halva frövitans men eftersom man inte såg änden av fröet är det möjligt att en del frön inte blev snittade tillräckligt för att tetrazoliumvätskan kunde tränga igenom hela vägen till embryot (Figur 16).



Figur 16. Exempelbild över tetrazoliuminfärgning i *L. scoticum*. Frön t.v. ansågs ej metaboliskt aktiva i embryot. Frön t.h ansågs metaboliskt aktiva.

Myrrhis odorata är som tidigare nämnt den art som skiljer sig mest från sin motsvarande protokollart. De testade fröerna av *M. odorata* hade ett enhetligt resultat där endast den snittade halvan av fröet blivit infärgat medan halvan med embryot var nästan helt vitt eller endast svagt rosa (Figur 17). Denna skarpa gräns av infärgning anser vi indikera att tetrazoliumvätskan inte lyckats tränga hela vägen igenom fröet på grund av dess storlek. För att bättre anpassa testet till *M. odoratas* morfologi bör fröet skåras längre upp mot embryots placering, eller skalas för att möjliggöra bättre genomträngning av tetrazoliumvätskan. Alternativt bör ett annat protokoll från samma växtfamilj väljas ut som är anpassat till ett större frö.



Figur 17. Mikroskopbild av *Myrrhis odorata* efter tetrazoliuminfärgning. Frön till vänster ansågs ej vara metaboliskt aktiva i embryot. Frön till höger ansågs vara metaboliskt aktiva i embryot.

Testet utfördes endast på ett mindre stickprov på 50 frön och resultatet kan därför bara ge en indikation över vad vi kan förvänta oss från groningsförsöken. För att ge ett säkrare resultat skulle man utöver att anpassa protokollen för arterna, även behöva testa en större kvantitet än vad vi gjorde i det här försöket.

En potentiell felkälla är den mänskliga faktorn, det vill säga vår obefintliga erfarenhet av utförande av tetrazoliumtest samt att vi aldrig har analyserat infärgningen av detta tidigare. Vår brist på erfarenhet kan därför påverka det slutgiltiga resultatet utifrån hur bra vi lyckats analysera fröna.

5.2 Groningsförsök

Generellt för alla testade arter påverkas resultatet av lagringsförhållandena innan försöket började. En lång lagringsperiod i frys kan ha sänkt grobarheten i fröna. Vildinsamlade frön har också ofta sämre eller mer varierande kvalitet än de som odlats för fröproduktion, på grund av mer utsatthet för patogener och bakterier. Även moderplantans kvalitet kan vara försämrade av de naturliga förhållanden som finns på växtplatsen, som väder, näringsförhållanden eller konkurrens från andra

arter. Då accessionerna även är insamlade från en specifik växtplats är våra testade fröer begränsade till den genetiska variation som fanns på just den platsen, och resultatet vi har fått fram speglar främst den enskilda populationen och inte hela arten.

I tre av accessionerna, *Atriplex hortensis*, *Crambe maritima* och *Ligusticum scoticum* verkar köldstratifieringen på 47–54 dagar vara tillräckligt för att bryta frövilan. Däremot verkar denna tidsperiod inte räcka för *Myrrhis odorata*. En till studie på *M. odorata* skulle därför vara nödvändig, för att testa längre stratifieringsperiod eller någon annan behandling.

Behandlingen med H₂O₂ verkade inte ha den steriliserande effekt som förväntades, utan fröna visade fortfarande tecken på mögelangrepp, i vissa fall uppfattades det som mer angrepp än i de andra behandlingarna. De frön som skadats eller potentiellt dött av behandlingen kan därför ha blivit mer mottagliga för mögelangrepp än de frön som ej behandlats med H₂O₂. Vi har dock inte gjort någon objektiv mätning på omfattningen av dessa angrepp, utan detta resonemang baseras endast på visuell bedömning under resultatavläsningen. För alla arter skulle ett till tetrazoliumtest på de frön som ej grott inom tiden för detta arbete kunna genomföras. Detta skulle kunna ge tydligare indikation på varför dessa frön inte grott. Vidare studier skulle även kunna testa andra alternativa desinficeringsmetoder.

5.2.1 *Atriplex hortensis*

Groningsresultaten för *Atriplex hortensis* var mycket goda, med mycket hög eller hög grobarhet i alla behandlingar, långt över det förväntade resultatet från tetrazoliumtestet (se Figur 9). Då de behandlingar som nådde högst andel grodda frön ej skilde sig signifikant från kontrollbehandlingen med endast vatten, och kontrollbehandlingen nådde över det utsatta målet på 85% grobarhet, (93,6%) skulle det i praktiken vara onödigt att använda sig av någon ytterligare behandling än den köldstratifiering alla frön genomgick. Detta stämde även överens med den tidigare studien av Mandák (2003) där frön efter stratifiering i 3-5°C i fyra veckor nådde hög grobarhet på ca 81-100%. Då grobarheten var lägre efter behandlingen med H₂O₂ än i de andra behandlingarna, och fröna även uppvisade andra skador var behandlingen troligtvis skadlig. Detta beror möjligtvis på att fröna var mycket små och därför borde ha behandlats mycket kortare tid. Att en stor andel frön ändå grodde beror troligtvis på att frövilan bröts av köldstratifieringen och inte på behandlingen i sig, däremot hade behandlingen negativ effekt på utvecklingen av grodden och skulle potentiellt resultera i försvagade plantor.

5.2.2 *Crambe maritima*

Crambe maritima hade ett varierat resultat av de olika behandlingarna, där fröna behandlade med GA₃ hade närmast procentuell groningen att matcha resultatet från tetrazoliumtestet. *C. maritima* nådde inte grobarhetsmålet på 85%, men resultatet från tetrazoliumtestet indikerade att detta kanske inte är möjligt för denna accession på grund av för låg frökvalitet. GA₃ verkar utifrån det här testet som en metod bra anpassad för *C. maritimas* behov för frögroning. Detta stämmer överens med tidigare försök utfört av Lan, F, et al. (1996) på *C. maritima* där likvärdig gibberellinsyrabehandling gav ett resultat som matchar resultatet av vårt tetrazoliumtest, dock efter närmare 20 dagar i inkubation. Ett förlängt försök med mer möjlighet till ytterligare avläsningar hade varit intressant, och kunde potentiellt uppnå grobarhetsmålet på 85% i fler behandlingar. GA₃ gav även etiolerade groddar jämfört med kontrollen, vilket inte är en oväntad effekt av hormonet, men öppnar upp för en intressant uppföljning över hur plantorna skulle utvecklas, och vilken påverkan GA₃ har i ett senare skede.

5.2.3 *Ligusticum scoticum*

Även *Ligusticum scoticum* hade hög andel grodda frön i alla behandlingar förutom H₂O₂ (27,7%). Detta beror troligtvis likt i *A. hortensis* på att fröna var små och därför tog skada av den långa behandlingstiden i H₂O₂. De andra behandlingarna var dock lyckade och överträffade något den förväntade grobarheten som tetrazoliumtestet visade (se Figur 9). Även för *L. scoticum* likt *A. hortensis* verkade köldstratifieringen räcka för att bryta frövilan då kontrollbehandlingen hade hög grobarhet, och ytterligare behandlingar bör i praktiken inte vara nödvändiga. De frön som ännu inte hade grott såg i allmänhet normala ut och potentiellt skulle fler kunna gro med något längre tid i inkubatorn än vad som undersöktes i detta försök. Det dröjde lite längre tid innan fröna grodde än för *Crambe maritima* och *Atriplex hortensis*, i första avläsningen efter en vecka var nära 0% frön grodda. Detta skulle kunna bero på att de behöver längre tid för embryot att utvecklas vilket stämmer överens med den morfofysiologiska frövilan med underutvecklat embryo som beskrevs av Baskin & Baskin (2014) utefter försöket av Okusanya (1979a). *Ligusticum scoticum* hölls även så långt det gick i mörker under inkubationen då tidigare försök visat att detta förbättrat groningen (Okusanya 1979a). Dock var vi tvungna att öppna upp folien under några tillfällen för att vattna och under avläsningarna.

5.2.4 *Myrrhis odorata*

Myrrhis odorata hade enhetligt låga resultat, utan någon statistisk signifikant skillnad mellan de olika behandlingarna efter 14 dagar. En viss skillnad på 3,7 procentenheter mellan kontrollen med lägst resultat (2,7%) och H₂O₂ med högst resultat (6,4%) skulle kunna indikera en gynnsam effekt av H₂O₂ (Figur 8). Möjligtvis agerade behandlingen lite frätande och skalet tunnades ut, detta kan ha underlättat vattengenomträngning till fröets endosperm och embryo. Det skulle därför vara intressant med en uppföljning av ett liknande försök med H₂O₂ i starkare koncentration och annan behandlingstid.

Eftersom det här gröningsförsöket var tvunget att begränsas tidsmässigt, finns det möjlighet att fler frön skulle gro om de fick längre tid i stratifiering och inkubation. I ett liknande försök utfört av Lhotská (1977) krävdes stratifiering i minst 63 dagar, stratifikationen på 49 dagar i det här försöket var därför troligtvis inte tillräcklig. Även en längre tid i inkubator skulle behövas för att ge det underutvecklade embryot beskrivet i 2.3.4. tid att växa. Det låga gröningsresultatet borde, med rätt behandling, vara möjligt att höjas till åtminstone 56% som tetrazoliumtestet visade (Figur 9).

Den låga andelen grodda frön i *M. odorata* kan även ha gjort att mindre vatten gick åt under inkubationsperioden. Dessa frön vattnades lika mycket som de andra arterna och kan därför ha fått en för fuktig miljö vilket gynnat mögeltillväxt.

5.3 Slutsats

Bättre anpassade tetrazoliumtest för vilda arter krävs, även om metoden att välja protokoll utifrån morfologiskt lika släktingar fungerar för att ge en generell indikation på vitaliteten i fröprovet. För *Atriplex hortensis* och *Ligusticum scoticum* räcker en köldperiod på ca 50 dagar för att bryta frövilan, och inga ytterligare behandlingar krävs. *Crambe maritima* gynnades av behandling med GA₃, men längre inkubationstid skulle krävas för att uppnå önskad grobarhet på 85%. *Myrrhis odorata* kräver ytterligare undersökning för att hitta metoder att bryta frövilan, troligtvis genom längre stratifiering och inkubation. Även ny undersökning av H₂O₂ i olika koncentration och tid på *M. odorata* bör genomföras för bättre förståelse av dess effekt.

Referenser

- Aldén, B., Engstrand, L., Iwarsson, M., Jonsson, L., Nilsson, Ö. & Ryman, S. (1998). *Kulturväxtlexikon*. Författarna och Natur och Kultur /LTs förlag.
- Allen, D.E. & Hatfield, G. (2004). *Medicinal plants in folk tradition: an ethnobotany of Britain & Ireland*. Timber Press.
https://archive.org/details/hw_20220119/David%20E.%20Allen%20-%20Medicinal%20Plants%20in%20Folk%20Tradition%20-%20An%20Ethnobotany%20of%20Britain%20%26%20Ireland/page/n3/mode/2up
- Almark, L. (2024). *Spansk körvel – lättodlad perenn kryddört med smak av anis*.
<https://gronarader.se/tradgard/spansk-korvel/> [2024-05-11]
- Artdatabanken (2024a). *Trädgårdsmälla Atriplex hortensis - Artfakta*.
<https://artfakta.se/taxa/220656/information> [2024-04-08]
- Artdatabanken (2024b). *Myrrhis odorata - Artfakta*.
<https://namnochslaktskap.artfakta.se/taxa/223349/details> [2024-11-05]
- Artdatabanken (2024c). *Strandkål Crambe maritima - Artfakta*.
<https://artfakta.se/taxa/220482/information> [2024-12-05]
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. (2014). *Seeds : Ecology, Biogeography, and, Evolution of Dormancy and Germination*. 2 uppl., Elsevier Science & Technology.
<http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=1640956>
- Baskin, J.M. & Baskin, C.C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1), 1-16. <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M. & Nonogaki, H. (2013). *Seeds*. 3 uppl., Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- Britannica (2024). *Amaranthaceae*. <https://www.britannica.com/plant/Amaranthaceae> [2024-05-21]
- Carlson-Nilsson, U. & Aloisi, K. (2022). *Cultivation Manual: Medicinal and Aromatic Plants in the Nordic and Baltic Region*. 2022:01. NordGen.
<http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:norden:org:diva-12490> [2024-04-02]
- Cornell Garden Based Learning (2024). *Vegetable Varieties for Gardeners - Search Results*.
https://vegvariety.cce.cornell.edu/main/showVarieties.php?searchCriteria=orach&searchIn=1&crop_id=0&sortBy=overallrating&order=DESC
- Cornell University (2024). *Growing Guide - Orach*.
<http://www.gardening.cornell.edu/homegardening/scene80ea.html#profile> [2024-05-08]

- Dempewolf, H., Baute, G., Anderson, J., Kilian, B., Smith, C. & Guarino, L. (2017). Past and Future Use of Wild Relatives in Crop Breeding. *Crop Science*, 57(3), 1070-1082. <https://doi.org/https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0885>
- Elias, S.G., Copeland, L.O. & McDonald, M.B. (2012). *Seed Testing*. Michigan State University Press.
- Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. (2013). *Raven Biology of Plants*. 8th uppl., W.H. Freeman.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations *International treaty on plant genetic resources for food and agriculture*.
- Gilbert, G.S., Diaz, A. & Bregoff, H.A. (2023). Seed Disinfestation Practices to Control Seed-Borne Fungi and Bacteria in Home Production of Sprouts. *Foods*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/foods12040747>
- Hjelmqvist, H. (1991). Nagra tradgardsvaxter fran Lunds medeltid. *Svensk botanisk tidskrift*, 85(4), 225-248.
- Irving, M. (2009). *The forager handbook - a guide to the edible plants of britain*. Ebury Press.
- ISTA (1993). *International Rules for Seed Testing*. ISTA Secretariat.
- ISTA (2011). *ISTA Working Sheets on Tetrazoium testing*. 1st edition 2003 including supplements 2011 uppl., The International Seed Testing Association (ISTA).
- Karg, S. (2014). *Evidence of garden plants in Southern Scandinavia*. (Källor till trädgårdsodlingens historia 2014:25). <https://doi.org/978-91-87117-86-2>
- Kubiak-Martens, L. (1999). The plant food component of the diet at the late Mesolithic (Ertebolle) settlement at Tybrind Vig, Denmark. *Vegetation History and Archaeobotany*, 8, 117-127. <https://doi.org/10.1007/BF02042850>
- Kucera, B., Cohn, M.A. & Leubner-Metzger, G. (2005). Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*, 15(4), 281-307. <https://doi.org/10.1079/ssr2005218>
- Källman, S. (1997). *Vilda växter som mat och medicin*. 2 uppl., ICA bokförlag.
- Lan, F.S., Peron, J.Y. & Blanchard, N. (1996). Effect of different pre-treatments to overcome the dormancy of seakale (*Crambe maritima* L.) seeds. *3rd International Symposium on Diversification of Vegetable Crops*, Sep 24-27, Beijing, Peoples Republic of China. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1998.467.26>
- Landqvist, S. (2018). *Nordiskt samarbete om genetiska resurser : varför behövs det?* <https://doi.org/http://norden.diva-portal.org/smash/get/diva2:1313789/PREVIEW01.png>
- Leadem, C.L. (1997). Dormancy-Unlocking Seed secrets. I: *National Proceedings, Forest and Conservation Nursery Associations*.
- Lhotská, M. (1977). Notes on the Ecology of Germination in *Myrrhis odorata*. *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica*, 12(2), 209-213. <http://www.jstor.org/stable/4179978> [2024/04/02/]
- Mandák, B. (2003). Germination requirements of invasive and non-invasive *Atriplex* species: a comparative study. *Flora*, 198(1), 45-54. <https://doi.org/10.1078/0367-2530-00075>

- Martin, A.C. (1946). The Comparative Internal Morphology of Seeds. *The American Midland Naturalist*, 36(3), 513-660. <https://doi.org/10.2307/2421457>
- Missouri Botanical Garden (2024a). *Crambe maritima* - Plant Finder. <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=278036> [2024-05-12]
- Missouri Botanical Garden (2024b). *Myrrhis odorata* - Plant Finder. <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=276029&isprofile=0%3E> [2024-05-11]
- Mossberg, B. & Stenberg, L. (2018). *Nordens flora*. Bonnier Fakta.
- Naturvårdsverket (2024). *Hot mot den biologiska mångfalden*. <https://www.naturvardsverket.se/amnesomraden/biologisk-mangfald/hot-mot-den-biologiska-mangfalden/> [2024-05-20]
- Nautiyal, P.C., Sivasubramaniam, K. & Dadlani, M. (2023). Seed Dormancy and Regulation of Germination. I: Dadlani, M. & Yadava, D.K. red.) *Seed Science and Technology: Biology, Production, Quality*. Springer Nature Singapore. 39-66. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5888-5_3
- NordGen (2024a). *NordGen Växter* - NordGen. <https://www.nordgen.org/vart-arbete/om-nordgen-vaxter/>
- NordGen (2024b). *The Seed Lab* - NordGen. <https://www.nordgen.org/en/our-work/nordgen-plants/the-genebank/the-seed-lab/>
- Okusanya, O.T. (1979a). An Experimental Investigation into the Ecology of Some Maritime Cliff Species: II. Germination Studies. *Journal of Ecology*, 67(1), 293-304. <https://doi.org/10.2307/2259352>
- Okusanya, O.T. (1979b). An Experimental Investigation into the Ecology of Some Maritime Cliff Species: IV. Cold Sensitivity and Competition Studies. *Journal of Ecology*, 67(2), 591-600. <https://doi.org/10.2307/2259114>
- Palin, M.A. (1979). *Temperature and its effects on some maritime plants in Britain*. PhD Doctor of Philosophy. The University of St Andrews. <https://doi.org/https://hdl.handle.net/10023/14351>
- Palin, M.A. (1988). BIOLOGICAL FLORA OF THE BRITISH-ISLES - LIGUSTICUM-SCOTICUM L (HALOSCIAS-SCOTICUM (L)) *Journal of Ecology*, 76(3), 889-902. <https://doi.org/10.2307/2260580>
- Palmé, A., Fitzgerald, H., Weibull, J., Bjureke, K., Eisto, K., Endresen, D., Hagenblad, J., Hyvärinen, M., Kiviharju, E., Lund, B., Rasmussen, M. & Porbjörnsson, H. (2019). *Nordic Crop Wild Relative conservation : A report from two collaborative projects 2015–2019*. Nordiska Ministerrådet. <https://doi.org/10.6027/TN2019-533>
<http://norden.diva-portal.org/smash/get/diva2:1335894/PREVIEW01.jpg>
- Rosner, L.S., Harrington, J.T., Dreesen, D.R. & Murray, L. (2003). Hydrogen peroxide seed scarification of New Mexico collections of *ribes cereum*. *Seed Science and Technology*, 31(1), 71-81. <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.1.08>
- Sanyal, A. & Decocq, G. (2015). Biological Flora of the British Isles: *Crambe maritima*. *Journal of Ecology*, 103(3), 769-788. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1365-2745.12389>

- Sundgren, L. (2017). *Vildvuxet - mat och huskurer från naturen*. Bonnier Fakta.
- Ullenius, A. (2021). *Örtagården - Odlad hemma*. Tukan förlag.
- USDA, Agricultural Research Service, National Plant Germplasm System. 2024. Germplasm Resources Information Network (GRIN Taxonomy). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland.
URL: <http://www.nordic-baltic-genebanks.org/gringlobal/taxon/taxonomydetail?id=6017>.
[24-05-22]
- Watts, D. (2007). *Dictionary of plant lore*. Elsevier.
<https://archive.org/details/dictionaryofplan0000watt/page/n271/mode/2up?q=ligusticum>
- Wojtyła, E., Lechowska, K., Kubala, S. & Garnczarska, M. (2016). Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination. *Front Plant Sci*, 7, 66.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00066>
- Wright, K.H., Pike, O.A., Fairbanks, D.J. & Huber, C.S. (2002). Composition of *Atriplex hortensis*, sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds. *Journal of Food Science*, 67(4), 1383-1385. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10294.x>

Bild referenser

- Johann Georg Strum (Illustratör: Jacob Sturm). (1796). *Atriplex hortensis*. [illustration]. Databas.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Atriplex_hortensis_cleaned_Sturm.png
[2024-05-22]
- Baird, D. (2008). *Sea-kale Crambe maritima – A plant of shingle beaches*. [Fotografi]. Databas. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sea-Kale_-_geograph.org.uk_-_814303.jpg [2024-05-22]
- Lindman, C.A.M. (1917-1926). *Strandsticka – Ligusticum scoticum L.* [Illustration]. Databas.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:253_Ligusticum_scoticum.jpg [2024-05-22]
- Wikimedia commons. (2004). *Illustration Myrrhis odorata*. [Illustration]. Databas.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Illustration_Myrrhis_odorata0.jpg
[2024-05-22]

Tack

Vi vill tacka Anna Palmé och Jonatan Leo från NordGen för deras konstruktiva kritik och engagemang som stärkt vårt arbete. Stort tack till Johan Axelsson i frölabbet för all vägledning genom det praktiska arbetet kring groningsförsöken, och för hans upplyftande humor. Vi vill även tacka Avinash Valluri för hans hjälp med förarbetet kring våra accessioner. Tack till personalen i frölaboratoriet och övriga anställda på NordGen för gott fikasällskap.

Vi vill även rikta ett tack till Jan-Eric Englund för hans stöd med statistiken, din hjälp har statistiskt signifikant förbättrat vårt arbete!
Tack till Kimmo Rumpunen som ställer upp på att läsa och betygsätta vårt arbete.

Ett slutligen ett mycket stort tack till vår handledare Salla Marttila för sin kunskap och guidning att föra oss framåt med arbetet.

Bilaga 1

Recept för Tetrazoliumvätska

Tetrazoliumlösning

Registrerad kopia

Allmänt

Buffrad tetrazoliumlösning används för analysering av vitalitet i stråsådesarter.

Syfte

Instruktionen syftar till att beskriva arbetsgången för att blanda de olika lösningarna för tetrazoliumanalys.

Utrustning

- Glaskolv
- Mätglas
- Våg
- Sked
- Nitrilhandskar

Säkerhetsföreskrifter

Vid blandning av tetrazoliumlösning använd nitrilhandskar och skyddsrock

Arbetsgång

Lösning 1:

1. 9,078 gr Kaliumdivätefosfat (KH_2PO_4) löses i 1 l avjoniserat vatten.

Lösning 2:

1. 11,876 gr Dinatriumvätefosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) löses i 1 l avjoniserat vatten.

Buffrad lösning:

1. 200 ml av lösning 1 och 300 ml av lösning 2 blandas
2. Tillsätt 5 gr tetrazoliumsalt (2.3.5 Trifenyltetrazoliumklorid). Detta resulterar i en 1% tetrazoliumlösning
3. pH-värdet skall vara mellan 6,5 – 7,5

Funktionskontroll:

1. Innan den gamla tetrazolium lösningen tar slut eller blir för gammal skall test av ny lösning göras.
2. För ett av proven som skall analyseras skärs ytterligare 100 frön som täcks med den nya lösningen och ställs i värmeskåp enligt 3L.GR.02.5
3. Infärgningen av dessa hundra frön jämförs med det ordinarie provet (behandlat med äldre "gällande" lösning). Om infärgningen är densamma kan den nya lösningen användas annars får ny lösning blandas och ny jämförelse göras. Anteckning av test av ny lösning görs i listan för blandning av tetrazoliumlösning.

Bilaga 2

Testprotokoll

Tetrazolium

ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing, Vol. I 1st Edition, 2003


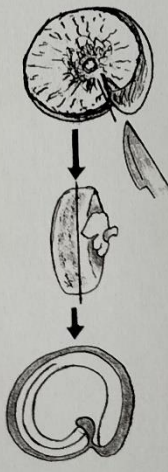
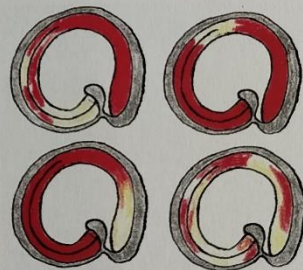
1. Species / Genus	<i>Chenopodium</i> , Chenopodiaceae; Goosefoot, Gänsefuß
	Seed tissue (transversal section)
2. Instruments	Beakers (4 x 50 ml), razorblades, dissecting needle, dissecting needle (lancet tip), scalpel, filter paper, forceps, support for evaluation, binocular
3. Pretreatment	Soak 18 hours in water at 20°C
4. Preparation before staining	Pierce the seed near of micropyle
5. Staining	20 hours, 30°C, 1,0 % TZ-solution
6. Preparation for evaluation	Cut seed longitudinally through the middle of the whole seed to expose embryo
7. Evaluation (maximum area of unstained, flaccid and/or necrotic tissue permitted)	1/3 radicle, measured from the radicle tip, 1/3 from the distal end of the cotyledons
8. Remarks	None

Fig. 1: Preparation step (s) Fig. 2: Evaluation, examples of non-viable seeds





Chenopodium

1. Species / Genus

Brassica, Brassicaceae; Cabbage, Kohl, Raps



Seed tissue (lateral view)

2. Instruments

Beakers (4 x 50 ml), razorblades, dissecting needle, dissecting needle (lancet tip), scalpel, filter paper, forceps, support for evaluation, binocular

3. Pretreatment

Soak 18 hours in water at 20°C (or soak 5 hours in water at 30°C)

4. Preparation before staining

Incise seed coat crosswise at one side of the outer cotyledon, avoiding to touch the hypocotyl and the radicle. Remove seed coat by gently pressing. Keep the seed moist during the preparation

5. Staining

18 hours, 30°C, 1,0 % TZ-solution

6. Preparation for evaluation

None

7. Evaluation (maximum area of unstained, flaccid and/or necrotic tissue permitted)

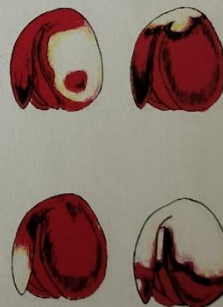
¼ radicle, measured from the radicle tip, ½ superficial necrosis on the cotyledons, not in connection with the hypocotyl

8. Remarks

None

Fig. 1: Preparation step (s)

Fig. 2: Evaluation, examples of non-viable seeds



1. Species / Genus

Foeniculum, *Apiaceae*; Fennel; Fenchel



Seed tissue

2. Instruments

Beakers (4 × 50 mL), dissecting needle, dissecting needle (lancet tip), scalpel, filter paper, forceps, support for evaluation

3. Pretreatment

Soak 18 hours in water at 20 °C

4. Preparation before staining

Cut longitudinally through 1/2 of the endosperm at the distal end

5. Staining

18 hours, 30 °C, 1% tetrazolium solution

6. Preparation for evaluation

Spread into two halves and observe embryo and endosperm

7. Permitted non-viable tissue

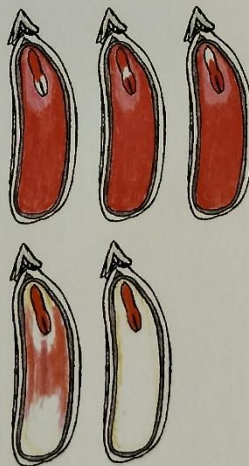
None

8. Remarks

None

Fig. 1: Preparation steps

Fig. 2: Examples of non-viable seeds



Foeniculum

Bilaga 3

Statistiska uträkningar i R studio

```
> cld(emmeans(modglm_A, ~behandling), Letters = letters, reversed = TRUE, type="response") #Atriplex
```

behandling	prob	SE	df	asympt.LCL	asympt.UCL	.group
GA3	0.954	0.0121	Inf	0.924	0.972	a
KNO3	0.944	0.0133	Inf	0.911	0.965	a
kontroll	0.936	0.0141	Inf	0.903	0.959	ab
H2O2	0.883	0.0185	Inf	0.842	0.915	b

Confidence level used: 0.95

Intervals are back-transformed from the logit scale

P value adjustment: tukey method for comparing a family of 4 estimates

Tests are performed on the log odds ratio scale

significance level used: alpha = 0.05

NOTE: If two or more means share the same grouping symbol, then we cannot show them to be different. But we also did not show them to be the same.

```
> cld(emmeans(modglm_C, ~behandling), Letters = letters, reversed = TRUE, type="response") #Crambe
```

behandling	prob	SE	df	asympt.LCL	asympt.UCL	.group
GA3	0.694	0.0271	Inf	0.639	0.745	a
H2O2	0.559	0.0292	Inf	0.501	0.615	b
KNO3	0.462	0.0293	Inf	0.405	0.520	bc
kontroll	0.438	0.0292	Inf	0.381	0.495	c

Confidence level used: 0.95

Intervals are back-transformed from the logit scale

P value adjustment: tukey method for comparing a family of 4 estimates

Tests are performed on the log odds ratio scale

significance level used: alpha = 0.05

NOTE: If two or more means share the same grouping symbol, then we cannot show them to be different. But we also did not show them to be the same.

```
> cld(emmeans(modglm_L, ~behandling), Letters = letters, reversed = TRUE, type="response") #Ligusticum
```

behandling	prob	SE	df	asympt.LCL	asympt.UCL	.group
KNO3	0.783	0.0238	Inf	0.733	0.826	a
kontroll	0.771	0.0244	Inf	0.720	0.815	a
GA3	0.733	0.0254	Inf	0.680	0.779	a
H2O2	0.277	0.0258	Inf	0.229	0.330	b

Confidence level used: 0.95
 Intervals are back-transformed from the logit scale
 P value adjustment: tukey method for comparing a family of 4 estimates
 Tests are performed on the log odds ratio scale
 significance level used: alpha = 0.05
 NOTE: If two or more means share the same grouping symbol,
 then we cannot show them to be different.
 But we also did not show them to be the same.

```
> cld(emmeans(modglm_M, ~handling), Letters = letters, reversed = TRUE, type="response") #Myrrhis
```

handling	prob	SE	df	asympt.LCL	asympt.UCL	.group
H2O2	0.0635	0.0141	Inf	0.0409	0.0975	a
GA3	0.0400	0.0113	Inf	0.0229	0.0691	a
KNO3	0.0367	0.0109	Inf	0.0204	0.0650	a
kontroll	0.0267	0.0093	Inf	0.0134	0.0524	a

Confidence level used: 0.95
 Intervals are back-transformed from the logit scale
 P value adjustment: tukey method for comparing a family of 4 estimates
 Tests are performed on the log odds ratio scale
 significance level used: alpha = 0.05
 NOTE: If two or more means share the same grouping symbol,
 then we cannot show them to be different.
 But we also did not show them to be the same.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Du hittar en länk till SLU:s publiceringsavtal på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Signature page

This document has been electronically signed
using eduSign.

eduSign