

4 6 0

Julius-Kühn-Archiv

Frank Marthe, Hanna Blum, Heidi Heuberger, Ralf Pude

8. Tagung
Arznei- und Gewürzpflanzenforschung
VIIIth Conference
on Medicinal and Aromatic Plant Research

Bonn, 10. – 13. September 2018

Vielfalt im Dialog mit Mensch und Natur
Kurzfassungen der Vorträge und Poster
Abstracts of Oral Presentations and Posters



Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI)

Das Julius Kühn-Institut ist eine Bundesoberbehörde und ein Bundesforschungsinstitut. Es umfasst 17 Institute zuzüglich gemeinschaftlicher Einrichtungen an 10 Standorten (Quedlinburg, Braunschweig, Kleinmachnow, Dossenheim, Siebeldingen, Dresden-Pillnitz) und eine Versuchsstation zur Kartoffelforschung in Groß Lüsewitz. Quedlinburg ist der Hauptsitz des Bundesforschungsinstituts.

Hauptaufgabe des JKI ist die Beratung der Bundesregierung bzw. des BMEL in allen Fragen mit Bezug zur Kulturpflanze. Die vielfältigen Aufgaben sind in wichtigen rechtlichen Regelwerken, wie dem Pflanzenschutzgesetz, dem Gentechnikgesetz, dem Chemikaliengesetz und hierzu erlassenen Rechtsverordnungen, niedergelegt und leiten sich im Übrigen aus dem Forschungsplan des BMEL ab. Die Zuständigkeit umfasst behördliche Aufgaben und die Forschung in den Bereichen Pflanzengenetik, Pflanzenbau, Pflanzenernährung und Bodenkunde sowie Pflanzenschutz und Pflanzengesundheit. Damit vernetzt das JKI alle wichtigen Ressortthemen um die Kulturpflanze – ob auf dem Feld, im Gewächshaus oder im urbanen Bereich – und entwickelt ganzheitliche Konzepte für den gesamten Pflanzenbau, für die Pflanzenproduktion bis hin zur Pflanzenpflege und -verwendung. Forschung und hoheitliche Aufgaben sind dabei eng miteinander verbunden. Weiterführende Informationen über uns finden Sie auf der Homepage des Julius Kühn-Instituts unter <https://www.julius-kuehn.de>. Spezielle Anfragen wird Ihnen unsere Pressestelle (pressestelle@julius-kuehn.de) gern beantworten.

Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for cultivated plants (JKI)

The Julius Kühn-Institut is both a research institution and a higher federal authority. It is structured into 17 institutes and several research service units on the sites of Quedlinburg, Braunschweig, Kleinmachnow, Siebeldingen, Dossenheim und Dresden-Pillnitz, complemented by an experimental station for potato research at Groß Lüsewitz. The head quarters are located in Quedlinburg. The Institute's core activity is to advise the federal government and the Federal Ministry of Food and Agriculture in particular on all issues relating to cultivated plants. Its diverse tasks in this field are stipulated in important legal acts such as the Plant Protection Act, the Genetic Engineering Act and the Chemicals Act and in corresponding legal regulations, furthermore they arise from the new BMEL research plan.

The Institute's competence comprises both the functions of a federal authority and the research in the fields of plant genetics, agronomy, plant nutrition and soil science as well as plant protection and plant health. On this basis, the JKI networks all important departmental tasks relating to cultivated plants – whether grown in fields and forests, in the glasshouse or in an urban environment – and develops integrated concepts for plant cultivation as a whole, ranging from plant production to plant care and plant usage. Research and sovereign functions are closely intertwined. More information is available on the website of the Julius Kühn-Institut under <https://www.julius-kuehn.de>. For more specific enquiries, please contact our public relations office (pressestelle@julius-kuehn.de).

**Gemeinschaft der Förderer und Freunde
des Julius Kühn-Instituts, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen e.V. (GFF)**
Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg,
Tel.: 03946 47-200, E-Mail: GFF@julius-kuehn.de
Internet: <http://www.julius-kuehn.de/> Bereich "Das JKI/Wer wir sind/Fördervereine"

4 6 0

Julius-Kühn-Archiv

Frank Marthe, Hanna Blum, Heidi Heuberger, Ralf Pude

8. Tagung
Arznei- und Gewürzpflanzenforschung
VIIIth Conference
on Medicinal and Aromatic Plant Research

Bonn, 10. – 13. September 2018

Vielfalt im Dialog mit Mensch und Natur
Kurzfassungen der Vorträge und Poster
Abstracts of Oral Presentations and Posters



Herausgeber:

Frank Marthe, Hanna Blum, Heidi Heuberger, Ralf Pude

Veranstalter:

Deutscher Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen (DFA)
gemeinsam mit
INRES Nachwachsende Rohstoffe und Arzneipflanzen

Mitveranstalter:

INRES, Agrarökologie und Organischer Landbau
Botanische Gärten der Universität Bonn
Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften e.V (GPW); AG Heil- und Gewürzpflanzen
Gesellschaft für Pflanzenzüchtung (GPZ); Arbeitsgruppe Arznei- und Gewürzpflanzen
Gesellschaft für Arzneipflanzen- und Naturstoff-Forschung e.V.; (GA, Society of Medicinal Plants and Natural Product Research)
Gesellschaft für Phytotherapie (GPT)
Deutsche Botanische Gesellschaft; Sektion Angewandte Botanik
Hochschule Bonn-Rhein-Sieg; Angewandte Naturwissenschaften
Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR)
Forschungsvereinigung der Arzneimittelhersteller e.V. (FAH)
Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e.V. (DPG)

Wissenschaftliches Komitee:

Prof. Ralf Pude ; Dr. Heidi Heuberger; Hanna Blum; Dr. Andreas Plescher; Dr. Frank Marthe;
Dr. Ute Gärber; Dr. Christoph Carlen; Dr. Wolfram Junghanns; Prof. Christa Müller;
Prof. Johannes Novak; Dr. Andree Hamm; Prof. Maximilian Weigend; Prof. Bernd Honermeier

Foto Titel:

Birgit Bierschenk

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation. In der Deutschen Nationalbibliografie: detail-
lierte bibliografische. Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

ISSN 1868-9892

ISBN 978-3-95547-060-9

DOI 10.5073/jka.2018.460.000



Alle Beiträge im Julius-Kühn-Archiv sind unter einer
Creative Commons - Namensnennung - Weitergabe unter gleichen Bedingungen -
4.0 Lizenz veröffentlicht.

Vorwort

Unter dem Motto „Vielfalt im Dialog mit Mensch und Natur“ veranstaltet der Deutsche Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen (DFA) gemeinsam mit der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, die in diesem Jahr auch ihr 200jähriges Bestehen feiert, die 8. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung in Bonn. Diese Tagung wird vom DFA alle drei Jahre unter Beteiligung von verschiedenen wissenschaftlichen Organisationen veranstaltet. Sie bietet ein vielbeachtetes Forum für den interdisziplinären wissenschaftlichen Austausch mit Ausstrahlung in viele europäische Nachbarstaaten.

Mit dem Motto „Vielfalt im Dialog mit Mensch und Natur“ stellen wir gegen Ende der UN-Dekade zur Biologischen Vielfalt die biodiversitätswirksamen Leistungen in den Mittelpunkt, die durch den Anbau von Sonderkulturen in moderne Agrarsysteme ausstrahlen. Der Anbau und die nachhaltige Wildsammlung von rund 200 Arten der Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen erzeugen per se Agrobiodiversität und schützen die Bestände an Wildstandorten. Unter den angebauten Arten sind viele mehrjährige oder zur Blüte kommende Kulturen, die Nahrung und Lebensraum für Insekten und andere Tiere bieten. Das Innovations- und Qualitätsmanagement, die Züchtung, die Erforschung nachhaltiger Anbausysteme und die Erschließung neuer Anwendungsfelder für etablierte und neue Kulturen sind weitere Treiber der Biodiversität, denn ökologische Leistung ist nur in Verbindung mit ökonomischem Erfolg für die Betriebe dauerhaft zu erbringen.

Der Gastgeber, die Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn bietet das ideale Tagungsumfeld, da aus der Medizinischen, der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen und der Landwirtschaftlichen Fakultät viele Bezüge zu den Themengebieten Arznei- und Gewürzpflanzen und insbesondere zur Biodiversitätsforschung bestehen. Der Forschungsbereich Nachwachsende Rohstoffe/Arzneipflanzen am Campus Klein-Altendorf möchte als Organisator der Tagung ein lebendiges Forum anbieten und neben dem wissenschaftlichen Austausch eine Vernetzung in Wirtschaft und Praxis anregen.

Auf der 8. Tagung werden nicht nur viele Plenarvorträge und Poster präsentiert, sondern es wird erstmalig eine Vielzahl von Workshops veranstaltet, die eine intensivere Diskussion erlauben und Impulse für weitere Aktivitäten geben sollen. Ein vielseitiges Exkursionsangebot rundet das Angebot für die Vernetzung der Akteure in Wissenschaft und Wirtschaft ab.

Mein Dank gilt allen beteiligten Kollegen und speziell dem wissenschaftlichen Komitee, den mitveranstaltenden Gesellschaften und den Sponsoren. In besonderem Maße danke ich aber dem Forschungsbereich Nachwachsende Rohstoffe/Arzneipflanzen am Campus Klein-Altendorf der Universität Bonn als Gastgeber!

Dr. Heidi Heuberger,
für den Deutschen Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen

Inhaltsverzeichnis – Table of contents

Vorwort **3**

Themenkreis A: Bioökonomie und Innovationen

ASL 3 TaReCa - Kaskadennutzung gartenbaulicher Biomasse für eine ressourceneffiziente Produktion von wertvollen bioaktiven Substanzen **13**
TaReCa – Cascade utilization of horticultural biomass for a resource efficient production of valuable bioactive substances
Alexandra Wormit, Stefanie Bröring, Laura Carraresi, Laura Junker, Andreas Jupke, Manuel Lück, Georg Noga, Julia Jessica Reimer, Simone Schmittgen, Björn Thiele, Joana Wensing, Björn Usadel, Anika Wiese-Klinkenberg

Themenkreis A: Bioökonomie und Innovationen

ASL 4 Innovative CEA-basierte Pflanzenproduktion - Von der Gewächshaus-basierten Anwendung bis zum Vertical Farming **23**
Innovative CEA-based plant production – from greenhouse-based applications to vertical farming
Andreas Reimann, Simon Vogel, Thomas Rademacher, Jürgen Drossard, Johannes Buyel*

Themenkreis A: Bioökonomie und Innovationen

ASL 5 Innovationsökosysteme zur Etablierung komplexer Biotechnologien auf unterschiedlichen Märkten am Beispiel von Fucoïdanen **25**
Innovation Ecosystems to Promote the Establishment of Complex Bio-Technologies in Distant Markets – The Case of Fucoïdan
Daniel Laufs, Carsten Schultz, Ferran Giones²

Themenkreis B: Biodiversität

BSL 7 Taxon identification of plant tissue-containing herbal mixtures using single molecule real time sequencing **34**
Susann Wicke, Bruno Hüttel, Kai Müller, Claudia Schütte, Frank Blattner, Dietmar Quandt

- BSL 8 Analyse der Bestäubernetzwerke im Kümmel (*Carum carvi*) mittels DNA-Barcoding** 35
Analysis of pollination networks in caraway (*Carum carvi*) via DNA-Barcoding
Isabel C. Kilian Salas, Andréé Hamm, Ximo Mengual, Ralph Peters, J. Wolfgang Wägele*

Themenkreis B: Biodiversität

- BSL 9 Gibt es die Unterart *Arnica montana* subsp. *atlantica* wirklich?** 39
Corinna Schmiderer, Paula Torres-Londono, Andrea Lutz-Röder, Virginia K. Duwe, Johannes Novak

Themenkreis C: Tierwohl

- CPL 10 Einsatz von Heil- und Gewürzpflanzen als Futterzusatzstoffe: Verbesserung der Tiergesundheit und des Tierwohls** 40
Use of medicinal plants and herbs as feed additives: Improvement of animal health and welfare
Johanna Fink-Gremmels

Themenkreis C: Tierwohl

- CSL 11 Neue Wege in der integrierten tierärztlichen Bestandsbetreuung (ITB) - Landwirtschaftliche Phytopharmacognosia Die klassisch-historische Traditionelle Indische Medizin (TIM) in der westlichen Nutztiermedizin - Entwicklungs-Dokumentation über eine Nutzhanf-Moxibustion für die Anwendung am großen Pflanzenfresser** 41
Finding new approaches to integrated veterinary herd health care (oder auch: stock supervision) – “Agricultural Phytopharmacognosia”: Classical-historical Traditional Indian Medicin (TIM) in western (occidental) medicine for livestock.
Victoria Göckmann

Themenkreis C: Tierwohl

- CSL 12 Kräuter und ätherische Öle in der Ernährung von Nutztieren** 42
Herbs and essential oils in animal nutrition
Saskia Kehraus, Karl-Heinz Südekum

Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

- DPL 13 Cistus-Arten – Analytik ihrer Polyphenole und ihre antikariogene Wirkung** 43
*I. Kölling-Speer**, *G. Wittpahl**, *C. Hannig***, *K. Speer**

Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

- DSL 14 Charakterisierung zweier neuer antioxidativer Tetrahydroxyxanthone in *Hypericum*-Samen und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Testa** 45
Characterization of Two Novel Antioxidant Tetrahydroxyxanthenes from *Hypericum* Seeds and Scanning Electronmicroscopic Investigations of their Testa
*Peter Lorenz^a**, *Annerose Heller^b*, *Marek Bunse^a*, *Miriam Heinrich^a*, *Melanie Berger^a*, *Jürgen Conrad^c*, *Florian C. Stintzing^a*, *Dietmar R. Kammerer^a*

Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

- DSL 15 Untersuchung von ätherischem Öl aus Sommerbohlenkraut zentraleuropäischem und armenischem Ursprungs** 50
Investigation of the essential oil quantity and quality of summer savoury and germander of Italian and Armenian origin
*Jacqueline Ungar**, *Roman Hovsepyan***, *Nelly Gasparyan****, *Christian Stollberg**

Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

- DSL 16 Horizontaler Naturstoff-Transfer: Neue Erkenntnisse über potentielle Kontaminationspfade in Kräuter und Gewürze** 56
Dirk Selmar

Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

- EPL 17 Intraspezifische Variabilität und Drogenqualität des Wermuts (*Artemisia absinthium* L.)** 57
Intraspecific chemical variability and drug quality of wormwood (*Artemisia absinthium* L.)
T. Huong-Nguyen^a, *J. A. Llorens-Molina^b*, *É. Zámoriné-Németh^{a*}*
- ESL 18 Gewerbliche Wildsammlung von Arzneipflanzen in Deutschland** 62
Commercial wild collection of medicinal plants in Germany
Anja zur Loye, *Joanna Sucholas*, *Rainer Luick*

Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

ESL 19 Next generation breeding tools for chamomile: Evaluating genetic diversity, ploidy variation, and identifying marker-trait associations 67

Züchtungsmethoden der nächsten Generation für Kamille: Bewertung der genetischen Diversität, der Ploidievariation und Identifizierung von Marker-Merkmal Assoziationen

Lars-Gernot Otto, Jonathan Brassac, Prodyut Mondal, Marlis Sonnenschein, Bartolome Plocharski, Wolfram Junghanns, Susanne Preiss, Jörg Degenhardt, Mariateresa Lazzaro, Marika Bocchini, Emidio Albertini, Andreas Plescher, Beate Fraust, Sang He, Jochen Reif, Timothy Sharbel*

Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

ESL 20 Bedeutung einer effizienten Charakterisierung pflanzlicher Extrakte für die Züchtung und den Übergang von der Wildsammlung zum kontrollierten Anbau 72

The role of an efficient characterization of plant extracts for breeding and the transition from wild collection to controlled cultivation

Roland Geyer^a, Fred Eickmeyer^b, Michael Rettig^a, Steffen Heelemann^a, Renate Kirchhöfer^a

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

FSL 21 Blatterträge sowie Gehalt und Zusammensetzung des ätherischen Öls von *Mentha x piperita* L., *Mentha x spicata* L. und *Mentha suaveolens* EHRH. 76

Leaf yield, content and composition of the essential oil of *Mentha x piperita* L., *Mentha x spicata* L. and *Mentha suaveolens* EHRH.

Kathrin A. Göbel, Lena Hartert, Stephanie Tiefenböck, Tim Hellerberg, Alexandra Kotschevski, Bernd Honermeier

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

FSL 22 Erfassung pflanzenbaulicher Parameter im ökologischen Anbau der morphinarmen Wintermohnsorte „Zeno Morphex“ 78

Determination of agronomic parameters in the biological cultivation of the low morphine poppy variety 'Zeno Morphex'

Katharina Luhmer, Hanna Blum, Martin Berg, Ralf Pude, Louisa Wember

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

- FSL 23 Anfälligkeit von Johanniskraut (*Hypericum perforatum*) gegenüber dem Welkeerreger *Colletotrichum gloeosporioides* - Gesamtauswertung mehrerer Resistenzprüfungen-** **83**
Susanne Wahl, Anja van Hamme, Andreas Plescher, Michaela Feldevert- Höveler

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

- FSL 24 Kamilleanbau in Deutschland – Gefährdung durch unbekanntem Pilz** **86**
Cultivation of Chamomile in Germany - Threat by unknown fungus
Katja Sommerfeld, Monika Götz, Ute Gärber

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

- FSL 25 Pyrrolizidinalkaloide in *Senecio vulgaris* L. in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium unter Betrachtung verschiedener Jahreszeiten** **89**
Pyrrolizidine alkaloids in *Senecio vulgaris* L. depending on the stage of development, considering different seasons
Jens Flade, Andreas Plescher^a, Wim Wätjen^b, Heidrun Beschow^b*

Workshops

- WS 1 Der Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen und Biodiversität** **91**
André Hamm
- WS 2 Botanicals – Rechtliche Rahmenbedingungen und Herausforderungen für Qualitäts- und Authentizitätsbestimmung und Wirkstoffanalytik** **91**
Andreas Schieber
- WS 3 Developing chances for medicinal plant farmers - Supporting rural entrepreneurship through the production and exploitation of medicinal and aromatic plants** **91**
Oliver Kayser
- WS 4 Natürliche Aromen aus pflanzlichen Rohstoffen** **92**
Johannes Kiefl
- WS 5 Anbau, Anwendung, Wirksamkeit chinesischer Arzneien - Chinesische Kräutertherapie von der Tradition bis zur Moderne** **92**
Gerd Wiesemann, Sun Yutian
- WS 6 Pflanzliche Rohstoffe für zertifizierte Natur- und Biokosmetik** **93**
Roland Grandel, Franziska Breisinger

WS 7 Zukünftige Perspektiven zur Züchtung und zum Anbau von Kamille	93
<i>Lars-Gernot Otto, Sebastian Albrecht</i>	
WS 8 Anbau von Arzneipflanzen in Polen und aktuelle Forschungsarbeiten im Arznei- und Gewürzpflanzenbereich	94
<i>Jerzy Jambor</i>	
WS 9 Wildsammlung und Artenschutz im Kontext von Arznei- und Gewürzpflanzen	94
<i>Peter Riedl, Uwe Schippmann, Joanna Sucholas, Anja zur Loye</i>	
WS 10 Analyse von Wertschöpfungsketten – Wie können wir alle aus dem Vollen schöpfen?	95
<i>Heidi Heuberger</i>	

Posterbeitrag Themenkreis B: Biodiversität

P 1 Biodiversitätsfördernde Eigenschaften des Anbaus von Lein (<i>Linum usitatissimum</i> L.) in Agrarökosystemen	96
Biodiversity supporting properties of flaxseed cultivation (<i>Linum usitatissimum</i> L.) in agricultural landscapes	
<i>Saskia Gall-Röhrig^{1*}, Hanna Blum¹, Rita Földesi², Andréé Hamm², Thomas Döring², Ralf Pude</i>	

Posterbeitrag Themenkreis B: Biodiversität

P 2 Genetische Abgrenzung von Rooibos-Zuchtlinien zu Anbau- und Wildherkünften	102
Genetic differentiation between breeding lines, commercial samples and wild populations of Rooibos (<i>Aspalathus linearis</i> (Burm f.) R. Dahlgren)	
<i>Joana Ruzicka, Brigitte Lukas, Marcus Schefzig, Hans-Jürgen Hannig, Johannes Novak[*]</i>	

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 3 Bestimmung des ätherischen Ölgehalts von Kümmelfrüchten (<i>Carum carvi</i> L.) mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS). - Genauigkeit der Methode in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern der Probenqualität und Probenbehandlung. -	110
<i>D. Becker^a, C. Beleites^b, A. Krährmer^b, B. Zeiger^a, M. Marthe^a</i>	

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 4 Bedeutung einer effizienten Charakterisierung pflanzlicher Extrakte für die Züchtung und den Übergang von der Wildsammlung zum kontrollierten Anbau

111

The role of an efficient characterization of plant extracts for breeding and the transition from wild collection to controlled cultivation

Roland Geyera, Fred Eickmeyerb, Michael Rettiga, Steffen Heelemanna Renate Kirchhöfera

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 5 Identifizierung und Charakterisierung bioaktiver Inhaltsstoffe in Thymian

112

Identification and characterisation of bioactive compounds in thyme

Thomas Havel, Michaela Schmitz

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 6 Nährstoffgehalte und N-Bedarfswerte für die bedarfs- und umweltgerechte Düngung (neue Düngeverordnung) – Beurteilung der Datengrundlage

115

Nutrient contents and N demand data to fertilize meeting the crop's and environment's demand (new fertilization regulation) – Evaluation of the data base

Heidi Heuberger

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 7 Cluster analysis of component composition of essential oil taken from plants of *Filipendula* genus

118

Die Clusteranalyse der Zusammensetzung des Öle, die aus die Pflanzen der Gattung von *Filipendula* bekommen

Dmitriy Kruglov ; Mariya Kruglova; Daniil Olennikov

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

- P 9 Polyphenol-Variabilität von zypriotischem *Cistus creticus* L.** 121
Polyphenol-Variability of Cypriot *Cistus creticus* L.
Brigitte Lukas, Laura Bragagna, Katharina Starzyk, Klaudia Labedz, Klaus Stolze, Johannes Novak

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

- P 10 Scientific evaluation of medicinal plants used for the treatment of cervicitis (Qorohe- Rahem) in Iranian Traditional Medicine** 126
Razieh Nabimeybodi, Rahele Zareshahi Mojgan Tansaz, Marzieh Vahid Dastjerdi, Homa Hajimehdipoor, Zahra Ghalamkari*

Posterbeitrag Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

- P 12 Innerartliche Variabilität bei der Gaterslebener Genbankkollektion von Rosmarin (*Rosmarinus officinalis* L.)** 132
Intraspecific variability of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in the Gatersleben genebank collection
Ulrike Lohwasser, Andreas Börner, Remigius Chizzola, Johannes Novak

Posterbeitrag Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

- P 13 Sortenabhängige Variabilität von sekundären Pflanzenstoffgehalt im Quendel (*Thymus Serpyllum* L.)** 135
Intervarietal differences in the accumulation of secondary metabolites in thyme creeping (*Thymus serpyllum* L.)
Elena Malankina, Elena Tkatschova, Lamara Kozlovskaja

Posterbeitrag Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

- P 14 Wildsammlung von Arzneipflanzen – Situation in Polen** 139
Commercial wild collection of medicinal plants – the situation in Poland
Joanna Sucholas, Anja zur Loye, Rainer Luick

Posterbeitrag Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

- P 15 *Clinopodium nepeta* und *Clinopodium menthifolium*: agronomisches und phytochemisches Potenzial von zwei Arten von Kalaminth** **144**
Clinopodium nepeta and Clinopodium menthifolium: agronomical and phytochemical potential of two species of calamint
José Frédéric Vouillamoz, Claude-Alain Carron, Evelyn Wolfram

Posterbeitrag Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

- P 17 Neues Konzept zum nachhaltigen Süßholzanbau** **147**
New concept for sustainable licorice production
Rudolf Rinder, Heidi Heuberger

Posterbeitrag Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

- P 18 *Microplontus rugulosus* (Coleoptera, Curculionidae) im Kamille-Anbau - erste Lösungsansätze** **152**
Microplontus rugulosus (Coleoptera, Curculionidae) in chamomile cultivation – first approach to solving a problem
Quentin Schorpp, Katja Sommerfeld, Ute Gärber, Martin Hommes
- Autorenverzeichnis** **156**
Index of Authors

Themenkreis A: Bioökonomie und Innovationen

ASL 3 TaReCa - Kaskadennutzung gartenbaulicher Biomasse für eine ressourceneffiziente Produktion von wertvollen bioaktiven Substanzen



TaReCa – Cascade utilization of horticultural biomass for a resource efficient production of valuable bioactive substances

Alexandra Wormit¹, Stefanie Bröring², Laura Carraresi², Laura Junker⁵, Andreas Jupke³, Manuel Lück³, Georg Noga⁴, Julia Jessica Reimer¹, Simone Schmittgen⁴, Björn Thiele⁵, Joana Wensing², Björn Usadel^{1,5}, Anika Wiese-Klinkenberg⁵

¹ RWTH Aachen, Institut für Biologie 1, Lehrstuhl für Botanik und Molekulargenetik, Worringerweg 3, 52074 Aachen, awormit@bio1.rwth-aachen.de

² Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Institut für Lebensmittel- und Ressourcenökonomik, Nussallee 21, 53115 Bonn

³ RWTH Aachen, Aachener Verfahrenstechnik, Lehrstuhl für Fluidverfahrenstechnik, Forckenbeckstrasse 51, 52074 Aachen

⁴ Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Auf dem Hügel 6, 53121 Bonn

⁵ Forschungszentrum Jülich, Institut für Bio- und Geowissenschaften: Pflanzenwissenschaften (IBG-2), Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich

DOI 10.5073/jka.2018.460.003

Zusammenfassung

Viele pflanzliche Sekundärmetabolite haben antioxidative oder andere bioaktive Eigenschaften, weshalb sie einerseits wichtige Bestandteile der menschlichen Ernährung sind, andererseits aber auch als pharmazeutische Verbindungen oder als Substrat für die chemische Synthese von bioaktiven Substanzen verwendet werden. Pflanzen induzieren die Produktion solcher nutzbaren Sekundärmetabolite wie z.B. Flavonoiden als Reaktion auf abiotischen Stress.

Die Produktion von Gemüse und Früchten in Gewächshäusern hinterlässt große Mengen an ungenutzter pflanzlicher Biomasse, welche eine potentielle Ressource für die Gewinnung wertvoller Metabolite darstellt. Durch eine kaskadenartige Verwendung von Gartenbaukulturen zur Produktion von Früchten und Gemüse mit einer anschließenden Gewinnung hochwertiger Substanzen aus der verbleibenden Restbiomasse würde ein erheblicher Mehrwert generiert.

Das Projekt TaReCa bearbeitet die Entwicklung einer maßgeschneiderten Kaskadenverwertung von Paprikapflanzen-Restbiomasse aus dem Gartenbau. Dabei soll der pflanzliche Sekundärmetabolismus durch spezifische abiotische Stressbedingungen nach der Fruchternte gezielt induziert werden, um die Konzentrationen der Zielmetaboliten zu steigern. Durch umweltfreundliche und wirtschaftliche Extraktionsprozesse und eine anschließende Verwertung des verbleibenden Pflanzenmaterials in einer Bioraffinerie wird die Wertschöpfungskette erweitert. Eine Analyse der Anwendungsgebiete sowie Untersuchungen zur Akzeptanz der induzierten Inhaltsstoffe, Prozesse und Technologien werden helfen, das Marktpotenzial der Restbiomasse für die Nutzung in Kaskaden zu evaluieren. Die maßgeschneiderte Nutzung von Gartenbaubiomasse durch Lebensmittelproduktion, Extraktion bioaktiver Sekundärmetabolite und Bioraffinerien kann wirtschaftlich relevante, biobasierte Produkte für industrielle Anwendungen erzeugen und somit zur Entwicklung einer nachhaltigen, effizienten und integrierten Bioökonomie beitragen, ohne mit der Lebensmittelproduktion zu konkurrieren.

Stichwörter: Kaskadennutzung, Restbiomasse, Paprika, Sekundärmetabolite, abiotischer Stress

Abstract

Many plant secondary metabolites have antioxidant or pharmaceutically relevant properties, which makes them important components of the human diet, but also as pharmaceutical compounds or for the chemical

synthesis of bioactive substances. Plants induce the production of secondary metabolites, e.g. flavonoids in response to environmental stress stimuli.

The production of vegetables and fruits in greenhouses leaves huge amounts of so far under-utilized biomass after fruit harvest, which is a potential source for production of valuable metabolites. A cascade utilization of horticultural crops to produce fruits and vegetables with subsequent extraction of high quality compounds would generate significant added value.

The project TaReCa is working on the development of a tailored cascade utilization of bell pepper plant residues from horticulture. The secondary metabolism will be induced by specific abiotic stress treatments after the last fruit harvest, in order to increase the concentrations of the target metabolites. Eco-friendly and economical extraction processes and subsequent utilization of the remaining plant material in a biorefinery will expand the value chain. An analysis of the application areas as well as studies on the acceptance of the induced ingredients, processes and technologies will help to evaluate the market potential of the residual biomass for the proposed cascaded use. The tailored utilization of horticultural biomass in food production, extraction of bioactive secondary metabolites and biorefineries can produce economically relevant bio-based products for industrial applications and thus contribute to the development of a sustainable, efficient and integrated bioeconomy without competing with food production.

Keywords: cascade utilization, residual biomass, bell pepper, secondary metabolites, abiotic stress

Einleitung

Pflanzen produzieren eine große Vielfalt an niedermolekularen, bioaktiven Verbindungen, sogenannte Sekundärmetabolite (SM), die für Anpassungen an die Umwelt und Verteidigung gegen Krankheitserreger eine wichtige Rolle spielen. Die Menschheit verwendet seit Jahrhunderten eine Vielzahl von Arzneipflanzen wegen der antioxidativen, antimikrobiellen und/oder entzündungshemmenden Eigenschaften dieser Sekundärmetabolite (SM). Da SM wichtige Bestandteile der menschlichen Ernährung sind und eine wichtige Quelle für pharmazeutische Verbindungen (EXPÓSITO et al. 2009, KRISHNA et al 2008) darstellen oder als Substrate für die chemische Synthese von bioaktiven Substanzen (ROHLOFF et al. 1998, LIPSHUTZ et al. 2002) genutzt werden können, werden die Klassen der SM auch kontinuierlich nach Substanzen mit neuartigen oder bioaktiven Eigenschaften durchsucht. Die Gruppe der Flavonoide ist besonders interessant, da sie antioxidative Aktivität besitzen und in Extrakten zum Beispiel in der Nahrungs- und Kosmetikbranche als natürliche Antioxidantien eingesetzt werden (PESCHEL et al 2006, MASSINI et al. 2016).

SM weisen eine enorme chemische Diversität und Komplexität auf, wodurch oftmals die reine chemische Synthese wirtschaftlich nicht praktikabel ist. Die langen, oft noch unbekannteren Biosynthesewege von SM (SONG et al 2014) erschweren den biotechnologischen Einsatz von Mikroorganismen für die Biosynthese (Ro et al. 2006). Die Extraktion aus Wildpflanzen, Gewebekulturen oder Pflanzen, die im Ackerbau oder in vitro speziell für die Extraktion von SM angebaut werden, bleibt in vielen Fällen trotz eventuell niedriger Erträge die beste Versorgungsquelle.

Abgesehen von Arzneipflanzen produzieren auch angebaute Kulturpflanzen relevante SM (TAYLOR und FRASER 2011; MUKHERJEE et al. 2013; TANG et al.2010; FRIEDMAN, et al. 2009; FRIEDMAN 2013) und Pflanzenextrakte oder –Metaboliten mit antioxidierender Wirkung aus landwirtschaftlichen Nebenprodukten werden als wichtige Alternative zu synthetischen Antioxidantien für eine sichere Lebensmittel- und Kosmetikkonservierung anerkannt (BALASUNDRAM et al. 2006). Paprika (*Capsicum annuum*) ist das am fünft häufigsten konsumierte Gemüse in Deutschland (Das STATISTIK-PORTAL, 2010). Seit einigen Jahren steigt der Anteil von Gewächshausfläche für Paprika in Deutschland (93 ha im Jahr 2017, Das STATISTIK-PORTAL, 2015), wodurch zunehmend auch größere Mengen an Biomasseresten nach der Ernte entstehen.

Paprika gehört zur Solanaceae-Familie, die dafür bekannt ist, in ihren Früchten eine Vielzahl von SM zu produzieren, z.B. Flavonoide, Zimtsäuren, Capsaicinoide, Capsionoide, und andere

Phenylpropanoide, (WAHYUNI et al.2013). Auch die grünen Paprikastängel enthalten hohe Mengen dieser Verbindungen, und weisen antioxidative Aktivität und einen hohen Gehalt an Gesamtphenolen, Gesamtflavonoiden und Capsaicin auf (CHEN und KANG, 2013). Die Zusammensetzung von SM in Blättern und Stängeln von Paprika ist jedoch noch sehr wenig erforscht.

Die Produktion von pflanzlichen SM kann in Reaktion auf biotische oder abiotische Stressbedingungen signifikant erhöht werden (LØVDAL et al. 2010; DOMÍNGUEZ-PERLES et al. 2010; SELMAR und KLEINWÄCHTER, 2013; RAMAKRISHNA und RAVISHANKAR, 2011). Eine Steigerung der Menge an Polyphenolen und des antioxidativen Potenzials unter Stressbedingungen wurde mehrfach beobachtet(LØVDAL et al. 2010; LARBAT et al. 2014; BÉNARD et al. 2011; BÉNARD et al. 2009), auch eine Anreicherung spezifischer Inhaltsstoffe von besonderem Interesse kann durch Stressapplikation erreicht werden (CAMPBELL et al.2016). Zum Beispiel wurde in verschiedenen Pflanzenarten gezeigt, dass die Flavonoid-Biosynthese durch Nährstoffmangel, starke Lichtintensität und Kälte stimuliert wird (LILLO et al.2008; LØVDAL et al. 2010), während Trockenstress die Bildung von phenolischen Verbindungen, Di- und Triterpenoide, Alkaloide und andere SM bis zu 10-fach induziert (SELMAR und KLEINWÄCHTER, 2013). Die Möglichkeit den Sekundärmetabolismus von Gemüse und in Früchten gezielt zur Produktion von SM zu beeinflussen, wurde bereits evaluiert, um SM in Brokkoli und in Karotten nach Ernte (JACOBO-VELÁZQUEZ und CISNEROS-ZEVALLOS, 2012; VILLARREAL-GARCÍA et al. 2016) oder in Früchten (z.B. Tomate und Erdbeere) durch Stresse während der Anzucht (DE PASCALE et al. 2001; KEUTGEN und PAWELZIK, 2007a; KEUTGEN und PAWELZIK, 2007b) anzureichern, was aber eine Veränderung der Lebensmittelqualität bedeutet.

Das Flavonoid Cynarosid wurde in Paprikablättern nachgewiesen und weist antioxidative, antimikrobielle und Krebs-hemmende Eigenschaften auf (ŽEMLIČKA et al. 2014; PHUONG THUY et al. 2016; SA et al. 2015). In einer gemeinsamen Literatur- und Patentrecherche der beteiligten Projektpartner wurde Cynarosid als bioaktive Verbindung mit vielversprechenden Marktpotenzialen in der Kosmetik und pharmazeutischen Zubereitungen identifiziert. Cynarosid ist ein wichtiges Flavon in kommerziellen Extrakten (GEBHARDT, 1998), welches aus medizinischer Artischocke gewonnen wird, die in Deutschland nur für die Blatternte angebaut wird (ALI, 2011), oder auch aus japanischem Geißblatt (*Lonicera japonica*; Hu et al. 2015). Cynarosid verursacht eine Apoptose in verschiedenen Krebszelllinien (BASKAR et al. 2010, PHUONG THUY et al. 2016) und hat darüber hinaus antimikrobielle Eigenschaften vor allem gegen gramnegative Bakterien (SCHINOR et al. 2007; ŽEMLIČKA et al. 2014) sowie antioxidative Aktivität (ŽEMLIČKA et al. 2014; ODONTUYA et al. 2005; KUETE und EFFERTH, 2014). Es könnte aufgereinigt werden oder in angereicherten Extrakten Anwendung finden (aktueller Preis: ca. 160€ / 10 mg bei >98% Reinheit). Eine leichte, aber signifikante Zunahme von Patentanmeldungen zu Cynarosid impliziert, dass die Anzahl der unterschiedlichen Anwendungsmöglichkeiten voraussichtlich weiter wachsen wird (Abb. 1).

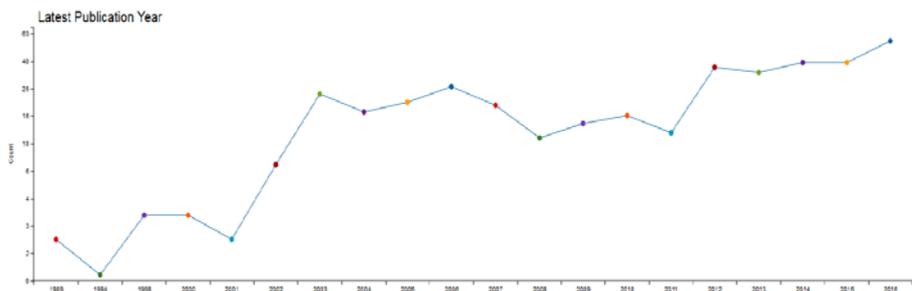


Abbildung 1: Patent Publikationen von 1989 bis 2016 (Suchbegriffe = Cynaroside oder Luteoloside oder C21H20O11 oder 5280637 oder Luteolin ADJ 7-glucoside oder Cinaroside oder luteolin-7-o-glucoside).

Für das Flavonoid Graveobiosid A, das in Paprikablättern mit einer Konzentration von >1% im Frischgewicht vorkommt, wurde eine reduzierende Wirkung auf die Eiablage der Floridaminierfliege (*Liriomyza trifolii*) nachgewiesen (KASHIWAGI, et al. 2005). Minierfliegen befallen Nutz- und Zierpflanzen und verursachen Ertragsminderungen (PARRELA, 1987), daher könnte reines Graveobiosid A oder Extrakte mit angereichertem Gehalt als natürliches Biozid eingesetzt werden. Graveobiosid A wurde außerdem in einem Patentantrag als Substanz mit Wirkung gegen Gicht beschrieben (CN105560262A, 2016) und wird derzeit aus Selleriesamen und Petersilie gewonnen.

Mit der Anreicherung und Extraktion solcher wirksamen SM aus gartenbaulicher Restbiomasse könnte ein Mehrwert für die Gartenbauproduktion geschaffen werden und den Anbau von Heilpflanzen (z. B. Artischocken), die im Wettbewerb mit Nahrungsmittelpflanzen angebaut werden, teilweise ersetzen. Allerdings ist über Gehalt und Induzierbarkeit der genannten SM in Blatt- und Stängelmateriale von Paprika wenig bekannt.

Um von pflanzlichen SM zu profitieren, muss ein wirtschaftlich tragfähiger und industriell relevanter Extraktionsprozess entwickelt werden (BART und PILZ, 2011). Dabei ist ein methodischer Ansatz zur Optimierung etablierter industrieller Prozesse und zur Verringerung der Zeit bis zur Marktreife für neue Produkte, insbesondere für hochwertige Chemikalien, zielführend (BART, et al. 2012). Es wurden einige Ansätze entwickelt, um die Methodik des konzeptionellen Prozessdesigns zu optimieren und die notwendige Dauer und die experimentellen Anstrengungen zur Entwicklung eines Prozesses zu reduzieren (BOTH et al. 2014). Jedoch wurde bisher ein konzeptionelles Design für einen ganzen Prozess, unter Berücksichtigung von landwirtschaftlichen Aspekten, Zersetzungsstrategien, nachgelagerten Verarbeitungs- und Aufreinigungsmethoden, nicht im Detail untersucht. Darüber hinaus war die Nutzung von Biomasse bislang meist auf eine Hauptkomponente oder Fraktion wie zum Beispiel Zellulose aus der Biomasse fokussiert. Eine kaskadierte Mehrfachnutzung hingegen, wie zum Beispiel Extraktion von wertvollen SM gefolgt von einer Verwertung in einer Bioraffinerie, könnte durch synergetische Effekte zusätzlichen Mehrwert generieren.

Aus Gemüsepflanzen gewonnenen SM können aufgrund ihrer bioaktiven Eigenschaften (z.B. antioxidativ, entzündungshemmend, etc.) als wertvolle Inhaltsstoffe in anderen Industriezweigen genutzt werden (MIRABELLA et al. 2014), z.B. in funktionellen Lebensmitteln, als Lebensmittelzutaten oder als Zusatzstoffe (GALANAKIS, 2012; MCCHESENEY et al. 2007). Jedoch werden neue Wertschöpfungskonzepte, wie Innovationen in Bezug auf die Wiederverwendung von Agrarabfällen, häufig als ein hohes Risiko anstatt eines möglichen Vorteils wahrgenommen (EKMAN et al. 2013; VERBEKE, 2007). In der Tat haben die notwendigen Akteure von innovativen, biobasierten Wertschöpfungsketten aufgrund fehlender Informationen und Marktbarrieren (wie hohe Kosten, fehlende Kompetenzen, fehlenden Industriestandards oder regulatorischen Fragen; MIRABELLA et al. 2014), oft Schwierigkeiten Neuheiten aufzugreifen und zu implementieren. Zu diesem Zweck muss die Akzeptanz neuer Prozesse, Technologien und Produkte entlang der Wertschöpfungskette evaluiert werden (PAULA und BIRRER, 2006), um einen bestmöglichen Einstieg in die Umsetzung der SM-Anreicherung in der Restbiomasse in Produktionsgewächshäusern und ihre Gewinnung zu ermöglichen.

Ziele und Struktur des Projekts

Projektziele:

Das Projekt TaReCa zielt auf die Entwicklung einer maßgeschneiderten Kaskadennutzung von Paprika aus der Gewächshausproduktion ab, bei der die Pflanzen einerseits zur Lebensmittelproduktion und andererseits zur Herstellung von wertvollen SM verwendet werden. Der Fokus liegt dabei auf den in Paprikablättern enthaltenen Flavonoiden Cynarosid (Luteolin-7-glucosid) und Graveobiosid A (Luteolin-7-apiosylglucosid), welche durch gezielte

Stressbehandlungen in Blättern und eventuell auch in Stängeln angereichert werden sollen. Weiterhin wird die nach der Extraktion der SM verbleibende Restbiomasse auf eine mögliche Verwertung in einer Bioraffinerie untersucht. Hierzu müssen einerseits geeignete abiotische Stressbehandlungen zur maximalen Induktion der Zielmetabolite in kommerziell genutzten Paprikaliniien identifiziert werden. Dazu werden nicht-invasive Phänotypisierungstechnologien zur Überwachung der Stressbehandlung und zur Abschätzung der SM-Gehalte entwickelt, welche auch in kommerziellen Gewächshäusern angewendet werden können. Wirksame Stressbehandlungen müssen weiterhin für kommerzielle Gewächshäuser etabliert werden. Die Phänotypisierung der Pflanzenreaktion sowie die Überwachung des Frucht- und Biomasse-Ertrags wird eine Abschätzung der Endproduktmenge erlauben. Außerdem muss ein effizientes und umweltfreundliches Extraktions- und Aufreinigungsverfahren für Cynarosid und Graveobiosid A aus Paprikablättern und evtl. -stängeln entwickelt werden. Die Nutzung der verbleibenden Biomasse (nach Extraktion) als Rohstoff für Bioraffinerieprozesse wird in einer Bioraffinerie-Forschungsanlage evaluiert, gefolgt von einer ökonomischen Analyse des Mehrwerts des Kaskadenprozesses von der Fruchtproduktion bis hin zu Metaboliten und verbleibender Biomasse. Um ein Konzept für die Umsetzung der Kaskadennutzung von Gartenbaurestbiomasse mit einem nachhaltigen Wertschöpfungskettenmanagement zu entwickeln, wird die Bereitschaft von Akteuren der gesamten Wertschöpfungskette neue Prozesse und Technologien zu implementieren untersucht, um mögliche Hindernisse zur Implementierung zu identifizieren.

Projektstruktur:

Im Folgenden wird die Struktur des Projekts dargestellt (Abb. 1):

- Um in der Paprika-Restbiomasse die Biosynthese der bioaktiven Flavonoide Cynarosid und Graveobiosid A zu steigern, werden im Arbeitspaket 1 (AP1) verschiedene abiotische Stressbehandlungen an zwei kultivierten Paprikasorten (Stayer und Mazurka) und einer Wildsorte (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) getestet. Dazu werden zuerst abiotischen Stressbedingungen, wie Stickstoffmangel, Salinität, niedrige/hohe Temperaturen, hohe Lichtintensität und Trockenheit, an jungen Pflanzen (2 Monate alt) in Pflanzenkammern etabliert und die Phenol- und Flavonoidgehalte, sowie die Gehalte der Zielmetabolite Cynarosid und Graveobiosid A in Paprikablättern und Stängeln quantifiziert. Die kommerzielle Linie mit den höchsten Gehalten und der höchsten Induktion der Zielmetabolite wird für ein detaillierteres Stress-Screening in einer zweiten Versuchsphase verwendet, in der die Induktionsbedingungen weiter optimiert (Dauer, Intensität) und Stresskombinationen auf ihr Induktionspotenzial der Zielmetabolite getestet werden. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Entwicklung von Phänotypisierungstechnologien zur nicht-invasiven Quantifizierung der Stressreaktion, die es Gartenbauern ermöglichen, das Erreichen der erforderlichen Stressbehandlung zu ermitteln und ideale Erntezeitpunkte zu identifizieren. Hierzu werden bildbasierte Techniken zur Bestimmung von Farbveränderungen der Blätter sowie ein hyperspektraler Sensor (VIS) eingesetzt und erlangte Werte hinsichtlich einer Korrelation mit SM-Gehalten untersucht. Durch die Kombination mit einem GPS-Gerät kann die Stressantwort der Pflanzen auch in großen Produktionsgewächshäusern analysiert und semiautomatisch ausgewertet werden.
- Die Flavonoide in Paprika-Restbiomasse sind bisher kaum untersucht, sodass das Potenzial von Paprika als Lieferant von pflanzlichen SM noch nicht ausgeschöpft ist. Durch Stressbehandlungen können auch weitere Flavonoide oder andere SM-Klassen induziert werden. Daher werden im Arbeitspaket 2 (AP2) Flavonoidprofile für alle drei Paprikaliniien mittels LC-MS/MS erstellt, um die Identifikation weiterer interessanter Inhaltsstoffe zu ermöglichen. Die Wildsorte wird in die Analysen einbezogen, um das genetische Potenzial von Paprika für zukünftige züchterische Ansätze zu evaluieren. In der zweiten Versuchsphase wird ein detailliertes, ungerichtetes Metabolit-Profilung durchgeführt, um weitere

Stoffwechselprodukte zu identifizieren, deren Gehalt als Folge der optimierten Induktionsbedingungen deutlich ansteigt. Parallele Transkriptomanalysen des behandelten Pflanzenmaterials werden mit den Metabolitgehalten korreliert, um i) die regulatorischen Schritte der Biosynthese der Zielmetabolite zu analysieren, sowie ii) Biosynthesenetze von zusätzlich induzierten SM zu identifizieren. Kenntnis über die SM-Biosynthesenetze und deren Regulation in kultivierten und wilden Paprikasorten liefert die Grundlage für die zukünftige Implementierung der Kaskade z.B. für Untersuchungen von weiteren kultivierten Paprikasorten oder zur Entwicklung von gezielten Züchtungsansätzen zur Kaskadenoptimierung unter Verwendung von Wildsorten. Mit diesem Ansatz werden wertvolle Informationen über SM-Gehalt, Regulation und Stress-Induzierbarkeit in einem bisher wenig untersuchten und ungenutzten Rohstoff generiert. Für die identifizierten SM wird gemeinsam mit einem Industriebeirat eine ökonomische Bewertung von Marktpotenzialen durchgeführt, um wertvolle bioaktive Verbindungen für zukünftige industrielle Anwendungen zu identifizieren.

- In Arbeitspaket 3 wird im Gewächshaus unter Produktionsbedingungen die Realisierbarkeit der als effektiv erfassten Stressbehandlungen (aus AP 1) untersucht und gegebenenfalls angepasst. Kombiniert mit Phänotypisierungsmethoden aus AP1, werden spektrale und multi-fluoreszenz basierte Messmethoden für den Einsatz in der Kultivierung von Paprika angepasst und mit SM-Gehalten korreliert. Auf Basis dieser Versuche wird ein Protokoll entwickelt, das eine schnelle und einfache Erkennung von Stressparametern in Produktionsgewächshäusern ermöglicht. Außerdem werden mittels hyperspektraler Detektion Gehalte an Lignin, Zellulose und Wasser in der Biomasse ausgewählter Paprikaliniestämme bestimmt, um eine Abschätzung der Qualität der Biomassereste (Blätter und Stängel) für die nachgelagerte SM-Extraktion und Bioraffinerie vornehmen zu können. Die Quantifizierung des Fruchtertrags und des Ertrags an grüner Restbiomasse unter Produktionsbedingungen dienen der späteren ökonomischen Analyse des Mehrwerts. Außerdem wird die im Laufe der Paprikakulturführung gewonnene Biomasse für das Up-scaling des Extraktionsprozesses in Arbeitspaket 4 (AP4) bereitgestellt.
- Für die Gewinnung von Cynarosid und Graveobiosid A wird in AP4 ein effizientes und umweltfreundliches Extraktions- und Aufreinigungsverfahren entwickelt. Dabei werden auch vorhandene Randbedingungen wie landwirtschaftliche oder logistische Aspekte, Biomasse-Verfügbarkeit und Stabilität der Zielmetabolite in der Biomasse in Betracht gezogen. Für die Pflanzenbiomasse werden geeignete Vorbehandlungsmaßnahmen (Trocknung, Zellaufschluß) untersucht, um eine ausreichende Zugänglichkeit mit hoher Extraktionsausbeute zu gewährleisten. Im Folgenden wird eine systematische Prozessentwicklung durchgeführt, beginnend mit einem *in silico* Lösungsmittel-Screening, experimenteller Bestimmung von Prozessparametern wie Partikelgröße, Trocknungsgrad und Extraktionsdauer. Abhängig von den Zielmarktanforderungen werden geeignete Aufreinigungsprozesse für Cynarosid- und Graveobiosid A untersucht und hinsichtlich Gesamtausbeute, Reinheit der Metabolite und Kosten verglichen. Der Gesamtprozess kann anschließend durch ein Scale-up Verfahren im größeren Maßstab durchgeführt werden, um eine Empfehlung für den industriell relevanten Maßstab abgeben zu können. Das konzeptionelle Prozessdesign wird einen modularen Charakter haben, um es für zukünftige Anwendungen schneller anpassen zu können. Im Sinne der kaskadierten Biomassenutzung soll nach Abtrennung der hochwertigen Zielmetabolite eine weitere Verwertung der Biomasse in einem Bioraffinerieprozess stattfinden. Dabei spielt die Biomassezusammensetzung (Anteile von jeweils Lignin, Zellulose und Hemizellulose), die von abiotischen Stressen beeinflusst werden kann (MOURA et al. 2010; WANG et al. 2016), eine wesentliche Rolle. Durch die Vorbehandlung der Biomasseströme (durch die vorgeschaltete Zerkleinerung und Abtrennung der hochwertigen SM) können sich synergetische Effekte zeigen, da ein Biomasseaufschluss innerhalb der Prozessierung der Bioraffinerie ebenfalls

notwendig ist. Die ökonomischen Einflussfaktoren werden fortlaufend bei der Prozessentwicklung berücksichtigt und dienen als wichtige Entscheidungskriterien. Prozessströme, Einsatzstoffe und Kosten werden erfasst und ausgewertet, um abschließend ein Gesamtkonzept zu entwickeln, das beim Paprikaanbau beginnt und die Prozessschritte Biomassetransport, Lagerung, Extraktion, Aufreinigung und Bioraffinerie-Verwertung beinhaltet.

- In Arbeitspaket 5 (AP5) wird auf die sozio-ökonomische Aspekte der Kaskadennutzung eingegangen. Zunächst werden anhand wissenschaftlicher Publikationen und, Patentdokumentationen potentielle Anwendungsgebiete der Zielmetabolite, sowie weiterer, induzierter SM (aus AP2) identifiziert und in Zusammenarbeit mit Mitgliedern des Industriebeirats bewertet. Weiterhin werden regulatorische Aspekte untersucht, die einen Einfluss auf die Verwendung der SM in den Zielmärkten darstellen. Zum Beispiel kann für bestimmte Märkte eine Aufreinigung der SM notwendig sein, während in anderen Fällen angereicherte Extrakte verwendet werden dürfen. Durch eine detaillierte Analyse der Wertschöpfungskette wird die Realisierbarkeit des Kaskadenprozesses vom Anbau der Paprikapflanze bis zum Endprodukt überprüft. Mittels Experteninterviews werden notwendige Ressourcen und Kompetenzen, sowie Veränderungen in der Logistik, dem Management und den Beziehungen innerhalb der Wertschöpfungskette identifiziert und die Akzeptanz der unterschiedlichen Akteure in Bezug auf die neuartigen Prozesse (z.B. abiotische Stressbehandlungen), Technologien (z.B. Phänotypisierungs-technologien, Extraktionsverfahren) und resultierenden Inhaltsstoffe (SM) bewertet.

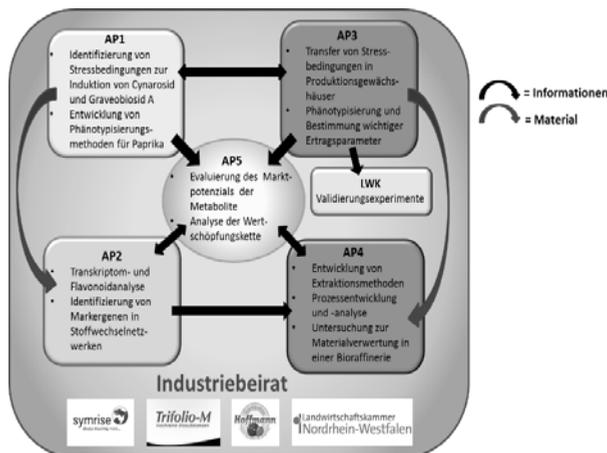


Abbildung2: Struktur des Projekts TaReCa. Das Projekt ist in 5 Arbeitspakete der 5 Partner aufgegliedert. Die Ergebnisse und Untersuchungsproben der einzelnen Pakete werden untereinander ausgetauscht und dienen zum Teil als Grundlage für weitergehende Arbeiten. Durch den interdisziplinären Aufbau wird die Kaskadennutzung aus möglichst vielen Blickwinkeln betrachtet und untersucht. Abgerundet werden die Arbeiten durch die beratenden Tätigkeiten eines industriellen Beirats.

Zusammenfassung

Das TaReCa-Projekt untersucht einen neuartigen, innovativen Ansatz der nachhaltigen Nutzung von pflanzlichen Rohstoffen aus dem Gartenbau, um in einer Kaskade nicht nur die Produktion von Gemüse, sondern auch von bio-basierten, bioaktiven Zwischenprodukten und chemischen Verbindungen zu ermöglichen. Hierzu werden die Kompetenzen von Pflanzenbiologen, Gartenbauwissenschaftlern, Prozessingenieuren und Ökonomen gebündelt und mit einem Industriebeirat an industrielle Bedürfnisse geknüpft. Das Einbeziehen von Vertretern aus der

Lebensmittelzusatz- und Aromachemie (Symrise AG) und der Produktion von bioziden Extrakten (Trifolio-M GmbH) wird eine marktorientierte Erforschung und Entwicklung der Kaskadennutzung ermöglichen. Vertreter aus der Gewächshausproduktion (Landwirtschaftskammer NRW, Gartenbaubetrieb Hoffmann) beraten hinsichtlich der Umsetzung von Induktionsbehandlungen in Produktionsgewächshäusern, was eine Grundlage für die Umsetzung der vorgeschlagenen Kaskade im technischen Maßstab bilden wird. Auf der Tagung werden die ersten Ergebnisse des Projekts vorgestellt.

Literatur

- ALI S., 2011 Leaf Yield and Polyphenols of Artichoke (*Cynara cardunculus* L.) Influenced by Harvest Frequency and Herbicide Stress, Dissertation der Justus Liebig University Giessen.
- BALASUNDRAM N., SUNDARAM K., SAMMAN S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chem.* 99, 191–203. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.042.
- BASKAR A.A., IGNACIMUTHU S., MICHAEL G.P., AL NUMAIR K.S., 2010, Cancer Chemopreventive Potential of Luteolin-7-O-Glucoside Isolated From *Ophiorrhiza mungos* Linn, *Nutr. Cancer*, 63(1):130-8.
- BART H.-J., PILZ S., 2011, *Industrial Scale Natural Products Extraction*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. doi:10.1002/9783527635122.
- BART H.-J., HÄGELS H., KASSING M., JENELTEN U., JOHANNISBAUER W., JORDAN V., PFEIFFER D., PFENNIG A., TEGTMEIER M., SCHÄFFLER M., STRUBE J., 2012, Positionspapier der ProcessNet Fachgruppe; Phytoextrakte – Produkte und Prozesse " Vorschlag für einen neuen, fachübergreifenden Forschungsschwerpunkt.
- BÉNARD C., BOURGAUD F., GAUTIER H., 2011, Impact of temporary nitrogen deprivation on tomato leaf phenolics, *Int. J. Mol. Sci.* 12, 7971–7981. doi:10.3390/ijms12117971.
- BÉNARD C., GAUTIER H., BOURGAUD F., GRASSELY D., NAVEZ B., CARIS-VEYRAT C., WEISS M., GÉNARD M., 2009, Effects of Low Nitrogen Supply on Tomato (*Solanum lycopersicum*) Fruit Yield and Quality with Special Emphasis on Sugars, Acids, Ascorbate, Carotenoids, and Phenolic Compounds, *J. Agric. Food Chem.* 57, 4112–4123. doi:10.1021/jf8036374.
- BOTH S., KOUDOUS I., JENELTEN U., STRUBE J., 2014, Model-based equipment-design for plant-based extraction processes – considering botanic and thermodynamic aspects, *Comptes Rendus Chim.* 17, 187–196. doi:10.1016/j.crci.2013.11.004.
- CAMPBELL R., FREITAG S., BRYAN G.J., STEWART D., TAYLOR M.A., 2016, Environmental and Genetic Factors Associated with Solanescol Accumulation in Potato Leaves, *Front. Plant Sci.* 7, 1263. doi:10.3389/fpls.2016.01263.
- CHEN L., KANG Y.-H., 2013, Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts, *J. Funct. Foods.* 5, 1724–1731. doi:10.1016/j.jff.2013.07.018.
- CN105560262A, 2016, Application of Graveobioside A in preparation of drugs or healthcare food for preventing hyperuricemia and gout, <https://www.google.com/patents/CN105560262A?cl=en>.
- DAS STATISTIK-PORTAL, 2010, Meistgekaufte Gemüsesorten in Deutschland 2010. <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/206329/umfrage/meistgekaufte-gemuesesorten-in-deutschland/>.
- DAS STATISTIK-PORTAL, 2016, Anbaufläche von Gemüse unter Glas in Deutschland bis 2015. <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/169193/umfrage/anbauflaechen-von-gemuese-unter-glas/>.
- DE PASCALE S., MAGGIO A., FOGLIANO V., AMBROSINO P., RITIENI A., 2001, Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato, *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 76, 447–453. doi:10.1080/14620316.2001.11511392.
- DOMÍNGUEZ-PERLES R., MARTÍNEZ-BALLESTA M.C., CARVAJAL M., GARCÍA-VIGUERA C., MORENO D.A., 2010, Broccoli-derived by-products - a promising source of bioactive ingredients, *J. Food Sci.* 75, 383–393. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01606.x.
- JACOBO-VELÁZQUEZ D.A., CISNEROS-ZEVALLS L., 2012, An Alternative Use of Horticultural Crops: Stressed Plants as Biofactories of Bioactive Phenolic Compounds, *Agriculture*. 2, 259–271. doi:10.3390/agriculture2030259.
- EKMAN A., CAMPOS M., LINDAHL S., CO M., BÖRJESSON P., KARLSSON E.N., TURNER C., 2013, Bioresource utilisation by sustainable technologies in new value-added biorefinery concepts – two case studies from food and forest industry, *J. Clean. Prod.* 57, 46–58. doi:10.1016/j.jclepro.2013.06.003.
- EXPÓSITO O., BONFILL M., MOYANO E., ONRUBIA M., MIRJALILI M.H., CUSIDÓ R.M., PALAZÓN J., 2009, Biotechnological production of taxol and related taxoids: current state and prospects., *Anticancer. Agents Med. Chem.* 9, 109–21.
- FRIEDMAN M., LEVIN C.E., LEE S.U., KIM H.J., LEE I.S., BYUN J.O., KOZUKUE N., 2009, Tomatine-containing green tomato extracts inhibit growth of human breast, colon, liver, and stomach cancer cells, *J. Agric. Food Chem.* 57, 5727–5733. doi:10.1021/jf900364j.
- FRIEDMAN M., 2013, Anticarcinogenic, cardioprotective, and other health benefits of tomato compounds lycopene, α -tomatine, and tomatidine in pure form and in fresh and processed tomatoes, *J. Agric. Food Chem.* 61, 9534–9550. doi:10.1021/jf402654e.
- GEBHARDT R., 1998, Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286, 1122–8.
- GALANAKIS C.M., 2012, Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications, *Trends Food Sci. Technol.* 26, 68–87. doi:10.1016/j.tifs.2012.03.003.

- HU W., GUO T., JIANG W.-J., DONG G.-L., CHEN D.-W., YANG S.-L., LI H.-R., 2015, Effects of ultrahigh pressure extraction on yield and antioxidant activity of chlorogenic acid and cynaroside extracted from flower buds of *Lonicera japonica*, Chin. J. Nat. Med. 13, 445–453. doi:10.1016/S1875-5364(15)30038-8.
- KASHIWAGI T., HORIBATA Y., MEKURIA D.B., TEBAYASHI S., KIM C.-S., 2005, Ovipositional Deterrent in the Sweet Pepper, *Capsicum annuum*, at the Mature Stage against *Liriomyza trifolii* (Burgess), Biosci. Biotechnol. Biochem. 69, 1831–1835. doi:10.1271/bbb.69.1831.
- KEUTGEN A.J., PAWELZIK E., 2007a, Modifications of strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under NaCl stress, J. Agric. Food Chem. 55, 4066–4072. doi:10.1021/jf070010k.
- KEUTGEN A., PAWELZIK E., 2007b, Modifications of taste-relevant compounds in strawberry fruit under NaCl salinity, Food Chem. 105, 1487–1494. doi:10.1016/j.foodchem.2007.05.033.
- KRISHNA S., BUSTAMANTE L., HAYNES R.K., STAINES H.M., 2008, Artemisinins: their growing importance in medicine., Trends Pharmacol. Sci. 29, 520–7. doi:10.1016/j.tips.2008.07.004.
- KUETE V., EFFERTH T., 2014, Biodiversity, natural Products and cancer treatment, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- LARBAT R., PARIS C., LE BOT J., ADAMOWICZ S., 2014, Phenolic characterization and variability in leaves, stems and roots of Micro-Tom and patio tomatoes, in response to nitrogen limitation, Plant Sci. 22, 62–73. doi:10.1016/j.plantsci.2014.04.010.
- LILLO C., LEA U.S., RUOFF P., 2008, Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway, Plant. Cell Environ. 31, 587–601. doi:10.1111/j.1365-3040.2007.01748.x.
- LIPSHUTZ B.H., MOLLARD P., PEIFFER S.S., CHRISMAN W., 2002, A Short, Highly Efficient Synthesis of Coenzyme Q 10, J. Am. Chem. Soc. 124, 14282–14283. doi:10.1021/ja021015v.
- LØVDAL T., OLSEN K.M., SLIMESTAD R., VERHEUL, LILLO C., 2010, Synergetic effects of nitrogen depletion, temperature, and light on the content of phenolic compounds and gene expression in leaves of tomato, Phytochemistry. 71, 605–613. doi:10.1016/j.phytochem.2009.12.014.
- MASSINI L., RICO D., MARTIN-DIANA A.B., BARRY-RYAN C., 2016, Apple peel flavonoids as natural antioxidants for vegetable juice applications, Eur. Food Res. Technol. 242, 1459–1469. doi:10.1007/s00217-016-2646-8.
- MCCHESENEY J.D., VENKATARAMAN S.K., HENRI J.T., 2007, Plant natural products: Back to the future or into extinction?, Phytochemistry. 68, 2015–2022. doi:10.1016/j.phytochem.2007.04.032.
- MIRABELLA N., CASTELLANI V., SALA S., 2014, Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review, J. Clean. Prod. 65, 28–41. doi:10.1016/j.jclepro.2013.10.051.
- MOURA J.C.M.S., BONINE C.A.V., DE OLIVEIRA FERNANDES VIANA J., DORNELAS M.C., MAZZAFERA P., 2010, Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants., J. Integr. Plant Biol. 52, 360–76. doi:10.1111/j.1744-7909.2010.00892.x.
- MUKHERJEE P.K., NEMA N.K., MAITY N., SARKAR B.K., 2013, Phytochemical and therapeutic potential of cucumber, Fitoterapia. 84, 227–236. doi:10.1016/j.fitote.2012.10.003.
- ODONTUYA G., HOULT J.R.S., HOUGHTON P.J., 2005, Structure-activity relationship for antiinflammatory effect of luteolin and its derived glycosides, Phyther. Res. 19, 782–786. doi:10.1002/ptr.1723.
- PARRELA M.P., 1987, Biology of *Liriomyza*. Annual Review of Entomology, 32, 201-224.
- PAULA L., BIRNER F., 2006, Including public perspectives in industrial biotechnology and the biobased economy, J Agric Environ Ethics, 19(3):253-67.
- PESCHEL W., SÁNCHEZ-RABANEDA F., DIEKMANN W., PLESCHER A., GARTZIA I., JIMÉNEZ D., LAMUELA-RAVENTÓS R., BUXADERAS S., CODINA C., 2006, An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes, Food Chem. 97, 137–150. doi:10.1016/j.foodchem.2005.03.033.
- PHUONG THUY B.T., AI NHUNG N.T., DUONG T., VAN TRUNG P., QUANG N.M., KIM DUNG H.T., VAN TAT P., ANEHEIME., 2016, Prediction of anticancer activities of cynaroside and quercetin in leaf of plants *Cynara scolymus* L and *Artocarpus incisa* L using structure–activity relationship, Cogent Chem. 2, 1212452. doi:10.1080/23312009.2016.1212452.
- RAMAKRISHNA A., RAVISHANKAR G.A., 2011, Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants, Plant Signal. Behav. 6, 1720–1731. doi:10.4161/psb.6.11.17613.
- RO D.-K., PARADISE E.M., OUELLET M., FISHER K.J., NEWMAN K.L., NDUNGU J.M., HO K.A., EACHUS R.A., HAM T.S., KIRBY J., CHANG M.C.Y., WITHERS S.T., SHIBA Y., SARPONG R., KEASLING J.D., 2006, Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast., Nature. 440, 940–943. doi:10.1038/nature04640.
- ROHLOFF J.C., KENT K.M., POSTICH M.J., BECKER M.W., CHAPMAN H.H., KELLY D.E., LEW W., LOUIE M.S., MCGEE L.R., PRISBE E.J., SCHULTZE L.M., YU R.H., ZHANG L., 1998, Practical Total Synthesis of the Anti-Influenza Drug GS-4104, J. Org. Chem. 63, 4545–4550. doi:10.1021/jo980330q.
- SA C., OLIVEIRA A.R., MACHADO C., AZEVEDO M., PEREIRA-WILSON C., 2015, Effects on Liver Lipid Metabolism of the Naturally Occurring Dietary Flavone Luteolin-7-glucoside., Evid. Based. Complement. Alternat. Med., 2015, Artikel ID 647832. doi:10.1155/2015/647832.
- SCHINOR E.C., SALVADOR M.J., ITO I.Y., DIAS D.A., 2007, Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents from *Chresta scapigera*, Brazilian J. Microbiol. 38, 145–149. doi:10.1590/S1517-83822007000100030.
- SELMAR D., KLEINWÄCHTER M., 2013, Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products., Plant Cell Physiol. 54, 817–26. doi:10.1093/pcp/pt054.
- SONG M.C., KIM E.J., KIM E., RATHWELL K., NAM S., YOON Y.J., 2014, Microbial biosynthesis of medicinally important plant secondary metabolites, Nat. Prod. Rep. 31 (11), 1497-1509. doi:10.1039/C4NP00057A.

- TANG J., MENG X., LIU H., ZHAO J., ZHOU L., QIU M., ZHANG X., YU Z., YANG F., 2010, Antimicrobial activity of sphingolipids isolated from the stems of cucumber (*Cucumis sativus* L.), *Molecules*. 15, 9288–97. doi:10.3390/molecules15129288.
- TAYLOR M.A., FRASER P.D., 2011, Solanesol: added value from Solanaceous waste, *Phytochemistry*. 72, 1323–7. doi:10.1016/j.phytochem.2011.03.015.
- VERBEKE W., 2007, Consumer attitudes toward genetic modification and sustainability: implications for the future of biorenewables, *Biofuels, Bioprod. Biorefining*. 1, 215–225. doi:10.1002/bbb.27.
- VILLARREAL-GARCÍA D., NAIR V., CISNEROS-ZEVALLOS L., JACOBO-VELÁZQUEZ D.A., 2016, Plants as Biofactories: Postharvest Stress-Induced Accumulation of Phenolic Compounds and Glucosinolates in Broccoli Subjected to Wounding Stress and Exogenous Phytohormones., *Front. Plant Sci.* 7, 45. doi:10.3389/fpls.2016.00045.
- WAHYUNI Y., BALLESTER A.-R., SUDARMONOWATI E., BINO R.J., BOVY A.G., 2013, Secondary Metabolites of Capsicum Species and Their Importance in the Human Diet, *J. Nat. Prod.* 76, 783–793. doi:10.1021/np300898z.
- WANG T., MCFARLANE H.E., PERSSON S., 2016, The impact of abiotic factors on cellulose synthesis, *J. Exp. Bot.* 67, 543–552. doi:10.1093/jxb/erv488.M.
- ŽEMLIČKA L., FODRAN P., LUKES V., VAGÁNEK A., SLOVÁKOVÁ M., STÁSKO A., DUBAJ T., LIPTAJ T., KARABIN M., BIROŠOVÁ L., RAPTA P., 2014, Physicochemical and biological properties of luteolin-7-O- β -d-glucoside (cynaroside) isolated from *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm., *Monatshefte Für Chemie - Chem. Mon.* 145, 1307–1318. doi:10.1007/s00706-014-1228-3.

Themenkreis A: Bioökonomie und Innovationen

ASL 4 Innovative CEA-basierte Pflanzenproduktion - Von der Gewächshaus-basierten Anwendung bis zum Vertical Farming



Innovative CEA-based plant production – from greenhouse-based applications to vertical farming

Andreas Reimann*, Simon Vogel, Thomas Rademacher, Jürgen Drossard, Johannes Buyel

Fraunhofer IME, Forckenbeckstr. 6, 52074 Aachen, andreas.reimann@ime.fraunhofer.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.004

Zusammenfassung

Im Gegensatz zur Freilandkultivierung schafft „controlled environment agriculture“ (CEA) durch Einstellung spezifischer abiotischer Faktoren wie Temperatur, Luftfeuchte, CO₂-Gehalt, Licht und Nährstoffkonzentration kontinuierliche und reproduzierbare Bedingungen für die Kultivierung von Pflanzen. Die häufigste Anwendung von CEA findet sich in Gewächshäusern, die jedoch aufgrund der Glasstruktur äußeren Veränderungen, wie z.B. tageszeit- und jahreszeitabhängigen Sonnenständen, unterliegen. Wird eine konstante Kultivierungsumgebung unter Ausschluss externer Störfaktoren benötigt, kommen geschlossene Pflanzenwuchskammern (sog. Phytotrone) zum Einsatz, die sich insbesondere in der Art der verfügbaren Beleuchtungsquelle (z.B. Natriumdampflampe vs. LED) und der Nettokultivierungsfläche unterscheiden. Aktuelle Entwicklungen verfolgen die vertikale Kultivierung von Pflanzen über mehrere Ebenen im geschlossenen Produktionssystem, was zu einer signifikanten Erhöhung der Produktionseffizienz bei verringertem Flächenbedarf führt und die Möglichkeit für eine lokale Pflanzenproduktion in urbanen Ballungszentren eröffnet.

Auf Basis eigener Forschungsansätze aus dem Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME in Aachen werden exemplarisch verschiedene pflanzenbasierte Anwendungen aus den Bereichen der biopharmazeutischen Produktion (MA et al., 2015) sowie der Nahrungsmittelproduktion im Gewächshausystem bis zum innovativen orbitropalen Vertical Farming System vorgestellt.

Der Kultivierungsmaßstab kann hierbei je nach Bedarf von der Einzelpflanze mit Multiparametertestung bis zur Produktion homogener „Pflanzenbatches“ im Pilotmaßstab variieren. Darüber hinaus wird ein Ausblick auf das neue Fraunhofer IME Innovationsraumkonzept „VertiPROD“ gegeben, das den Fokus auf einen holistischen Ansatz zur Erforschung einer biobasierten vertikalen Produktion unter Berücksichtigung eines zirkulären Stoffmanagements im urbanen Umfeld legt.

Stichwörter: Pflanzenproduktion, biopharmazeutische Produktion, CEA, Gewächshaus, Vertical Farming

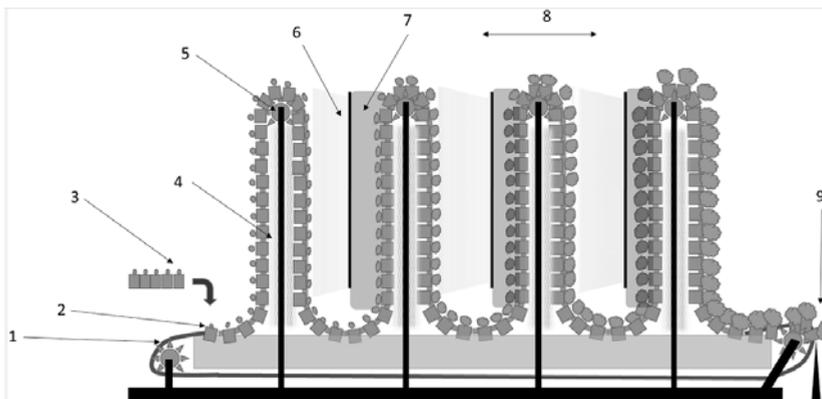


Abb. 1 Verschiedene Formen der CEA-basierten Pflanzenproduktion. A: Transgene Tabakpflanzen im Gewächshaus. B: *Nicotiana benthamiana* in small-scale Vertical Farm unter LED-Licht. C: Schematische Darstellung eines modular aufgebauten, orbitropalen Vertical Farming Systems.

Fig. 1 Different forms of CEA-based plant production. A: Transgenic tobacco plants in the greenhouse. B: *Nicotiana benthamiana* in small-scale vertical farm under LED lighting. C: Scheme of modular orbitropal vertical farming system.

Abstract

Based on research at the Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology IME in Aachen examples of different plant-based applications in the fields of biopharmaceutical production and crop production from greenhouse systems to innovative vertical farming systems will be presented. Depending on the requirements, the cultivation scale can vary from single plant multi-parameter testing to the production of homogeneous plant batches in pilot scale. Furthermore, an outlook on the new Fraunhofer IME "innovation room" concept with a focus on a holistic approach for a bio-based vertical production in an urban setting will be given.

Keywords: plant production, biopharmaceutical production, CEA, greenhouse, vertical farming

Literatur

MA, J.K., DROSSARD, J., LEWIS, D., ALTMANN, F., BOYLE, J., CHRISTOU P., COLE, T., DALE, P, VAN DOLLEWEERD, C.J., ISITT, V., KATINGER, D., LOBEDAN, M., MERTENS, H., PAUL, M.J., RADEMACHER, T., SACK, M., HUNDLEBY, P.A., STIEGLER, G., STOGER, E., TWYMAN, R.M., VCELAR, B., FISCHER, R., 2015: Regulatory approval and a first-in-human phase I clinical trial of a monoclonal antibody produced in transgenic tobacco plants. *Plant Biotechnol J.* 2015 Oct;13(8):1106-1120.

Themenkreis A: Bioökonomie und Innovationen

ASL 5 Innovationsökosysteme zur Etablierung komplexer Biotechnologien auf unterschiedlichen Märkten am Beispiel von Fucoïdanen



Innovation Ecosystems to Promote the Establishment of Complex Bio-Technologies in Distant Markets – The Case of Fucoïdan

Daniel Laufs¹, Carsten Schultz¹, Ferran Giones²

¹Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU), Technology Management, Westring 425 24118 Kiel, Deutschland, laufs@bwl.uni-kiel.de

²University of Southern Denmark (SDU), Mads Clausen Institute, Alsion 2, 6400 Sønderborg, Dänemark, fgiones@mci.sdu.dk

DOI 10.5073/jka.2018.460.005

Zusammenfassung

Fucoïdane bilden eine Stoffgruppe sulfatisierter Polysaccharide, die auch in Braunalgen in Nord- und Ostsee vorkommen. Trotz eines breiten Spektrums gesundheitsfördernder und bioaktiver Eigenschaften, die diverse Forschungsteams verschiedener Fachrichtungen über die letzten Jahrzehnte identifiziert haben, werden Marktpotenziale der vielfältigen Anwendungsgebiete heute meist noch nicht ausgenutzt. Die Nutzung von Fucoïdanen für Anwendungen wie die Kosmetik und die Medizin bedarf der Integration vielfältiger Technologien entlang der Wertschöpfungskette von der Kultivierung, der nachhaltigen Ernte, Extraktion, Separierung und ggf. Synthese, Kombination mit anderen z.B. Medizintechnologien und Technologien zur Applikation der Wirkstoffe. Hinzu kommen regulative, ökologische und gesellschaftliche Aspekte die im Innovationsprozess beachtet werden müssen. Daher erfordert die Entstehung und Anwendung solch komplexer Technologiefelder das Mitwirken einer Vielzahl von Experten unterschiedlicher wissenschaftlicher Fachrichtungen. Deren kontinuierliches Mitwirken an der Exploration neuer technologischer Komponenten und Systemlösungen und der Exploitation der Technologien in Form von Produktinnovationen ist entscheidend für den Erfolg. Daher ist es notwendig, wichtige Stakeholder einer Technologie und angrenzender Anwendungsfelder zu identifizieren und ein multidisziplinäres Innovationsökosystem aufzubauen und zu koordinieren, welches die Technologieentwicklung durch interdisziplinäre Zusammenarbeit auch jenseits etablierter Technologie- und Marktgrenzen vorantreibt.

Die Entwicklung und Anwendung eines derartig komplexen und entlang der Wertschöpfungskette integrierten technologischen Systems werden aus der Perspektive der Innovationsökosysteme am Beispiel des Braunalgenextrakts „Fucoïdan“ untersucht. Als Grundlage dienen Patent- & Publikationsdaten sowie qualitative Interviews mit Akteuren des Innovationsökosystems.

Stichwörter: *Innovationsökosystem Integration der Wertschöpfungskette, Marine Biotechnologie, Fucoïdan*

Abstract

Fucoïdane are a group of sulfated polysaccharides mainly found in various brown algae species that also exist in the North and the Baltic Sea. Despite a broad range of beneficial and bioactive characteristics that have been identified by numerous research teams of diverse professional backgrounds over the last decades the market opportunities in distant application fields of fucoïdane have not been exploited yet.

The use of fucoïdane in application fields of the dietary, cosmetic or medical branch requires the integration of multiple technologies along the supply chain – cultivation, harvesting, extraction, separation, characterization, synthesis and possible combinations with adjacent technologies such as medical technologies for the application of the active ingredient. Additionally, regulatory, ecological and social aspects of the innovation process need to be considered. Consequently, the evolution of such complex technology domains including the applications requires the knowledge of a diverse group of professions. Their continuous collaboration exploring new technological components and system solutions and exploiting technologies in the shape of product innovations is a crucial factor of success. Therefore, it is necessary to identify key stakeholders of a technology and adjacent application fields to create and coordinate a multidisciplinary innovation ecosystem.

Such an ecosystem supports the ability to collectively promote the technological evolution by interdisciplinary collaboration beyond established technological and market boundaries.

On the example of the brown algae extract fucoidan the development and application of such a complex and supply chain integrated technological system will be analyzed from the perspective of innovation ecosystems. The results are based on patent and publication data as well as qualitative interviews with actors of the ecosystem.

Keywords: *Innovation ecosystem, value chain integration, marine bio technology, fucoidan*

Einleitung

Je komplexer die Entstehung einer Technologie und die darauffolgende Erschließung potenzieller Märkte ist, umso wichtiger ist eine koordinierte Herangehensweise zur Implementierung einer innovativen Wertschöpfungskette. Dazu ist es zunächst notwendig, wichtige Stakeholder einer Technologie und darauf aufbauende Anwendungsfelder zu identifizieren und ein multidisziplinäres Innovationsökosystem zu etablieren, welches langfristig in der Lage ist, selbstständig Technologieentwicklungen durch interdisziplinäre Zusammenarbeit jenseits etablierter Technologie- und Marktgrenzen voranzutreiben.

Der Aufbau eines solchen Innovationsökosystems kann aus dem eines biologischen Ökosystems abgeleitet werden: Ein biologisches Ökosystem ist ein dynamischer Komplex aller lebenden Organismen sowie deren physikalische Umgebung, die als funktionale Einheit in Wechselwirkung miteinander stehen (CHAPIN et al., 2002). Dabei tragen die vorherrschenden Bedingungen und Charakteristiken zur Aufrechterhaltung des bestehenden Gleichgewichtes bei und sichern damit sowohl dessen Fortbestehen als auch dessen Weiterentwicklung. Abgeleitet davon ist ein Innovationsökosystem ein dynamischer Komplex aller direkten Akteure und beeinflussenden Stakeholder, die entlang der Wertschöpfungskette in Kontakt zueinanderstehen (OH et al., 2016). Die von der der Umwelt beeinflusste, multidisziplinäre Zusammenarbeit trägt zur Aufrechterhaltung und Weiterentwicklung von technologischen Neuerungen bei. Direkte Akteure des Innovationsökosystems sind jene Instanzen, die aktiv zur Weiterentwicklung der Technologie beitragen. Hierzu zählen primär Institutionen wie Forschungseinrichtungen und kapitalorientierte Unternehmungen. Externe Stakeholder sind in diesem Fall jene Gruppen, die ein berechtigtes Interesse am Prozess oder Ergebnis der Technologieentwicklung haben und Einfluss auf den Innovationsprozess nehmen können. Dies sind beispielsweise Kapitalgeber, Gesetzgebende Instanzen, Umwelt- und Sozialverbände, Medien oder auch Endkunden. Das intakte Innovationsökosystem ist im Stande, explorative und exploitative Aufgaben zu integrieren. Dies bedeutet, dass alle Tätigkeiten von der Grundlagenforschung bis hin zur Kommerzialisierung fertiger Endprodukte eingeschlossen werden.

Marine Biotechnologien zeichnen sich durch ein starkes Wachstumspotenzial aus (ALLEN und JASPARS, 2009). Bedingt durch die Komplexität der Erschließung derartiger Technologien, die oftmals die Kenntnis vieler verschiedener Disziplinen erfordert, kann ein etabliertes Innovationsökosystem deren Entwicklung beschleunigen und zusätzlich eine effizientere Umwandlung in neuen Anwendungsfeldern fördern (JACKSON, 2011). So verfügen Braunalgen über ein breites Anwendungspotential, da ihre bioaktiven Komponenten wie Polyphenole, Peptidketten oder Polysaccharide förderliche funktionale Eigenschaften aufweisen können. Fucoidane, eine Stoffgruppe sulfatisierter, fukosereicher Polysaccharide, sind ebenfalls ein natürlicher Bestandteil einiger Algenarten, Seegräsern und Stachelhäutern (FITTON et al., 2015). So ist beispielsweise der in Nord- und Ostsee beheimatete Blasentang (*fucus vesiculosus*) eine Braunalgenart mit einem relativ hohen Fucodiananteil. In der Natur treten Polysaccharide wie Fucoidane in der Regel als komplexe Zusammensetzungen verschiedener Moleküle auf, die sich mitunter stark bezüglich ihrer Struktur sowie physikalischer, chemischer und biologischer Eigenschaften voneinander unterscheiden (ALBAN et al., 2002; LAHRSEN et al., 2018). Der Sammelbegriff Fucoidan umfasst dabei die Gesamtheit aller derartigen Fraktionen, die je nach

Sulfatisierungsgrad, Kettenlänge und Verkettung verschiedener Saccharide ebenfalls unterschiedliche Eigenschaften aufweisen können (ALBAN et al., 2002; LAHRSSEN et al., 2018).

Aus der zunehmenden Anzahl von Erwähnungen von Fucoïdanen in der Literatur ist ein steigendes Interesse an den Polysacchariden abzuleiten. Vor allem kann eine stetig steigende Forschungsaktivität innerhalb der letzten drei Dekaden bezüglich gesundheitsfördernden Eigenschaften von Fucoïdan beobachtet werden. Zu diesen Eigenschaften zählen unter anderem, eine entzündungshemmende Wirkung, z. B. (KANG et al., 2011; LI et al., 2011), ein anti-koagulativer (blutgerinnungshemmender) Effekte, z. B. (KUZNETSOVA et al., 2003; YOON et al., 2007; ZOYSA et al., 2008; WIJESINGHE et al., 2011), diverse antikanzerogene Eigenschaften, z. B. (CUMASHI et al., 2007; SYNITSYA et al., 2010; AZUMA et al., 2012) oder auch die Beeinflussung des Immunsystems z. B. (YOO et al., 2007; YANG et al., 2008; DO et al., 2010). Auch antivirale Eigenschaften, z. B. (HEMMINGSON et al., 2006), infarkttrisikosenkende oder herzschtzende Eigenschaften, z. B. (THOMES et al., 2010) werden dem Algenextrakt zugeschrieben.

Aufgrund dieser gesundheitsfördernden Charakteristiken wird dem Fucoïdan in der Nahrungsmittel- und Kosmetikindustrie, aber auch für therapeutische Anwendungen in der Pharmazie und Medizintechnik ein großes Marktpotential zugesprochen. Trotzdem finden fucoïdanhaltige Produkte heute fast ausschließlich Anwendung als Nahrungsergänzungsmittel- oder Tierfutterzusatz. Auch erste Kosmetikprodukte werben bereits mit dem Algenextrakt. In der Medizin ist dagegen noch kein zugelassenes Fucoïdanpräparat oder ein Präparat mit Fucoïdanbestandteil erhältlich. Konkrete Forschungsfelder therapeutischer Anwendungen sind beispielsweise in den Bereichen der Ophthalmologie (KLETTNER, 2016) oder der Gewebezüchtung (VENKATESAN et al., 2014) zu finden, die die anti-oxidativen und zellwachstumsbeeinflussenden Wirkung einiger Fucoïdane ausnutzen. Eine derartige Vielzahl von Funktionalitäten führt dazu, dass das Interesse an dem Naturstoff auch in weiteren Disziplinen kontinuierlich ansteigt und neue Fachrichtungen auf dem Forschungsgebiet aktiv werden.

Beschreibung des Innovationsökosystems

Im Rahmen des durchgeführten Projekts wird die Etablierung eines Innovationsökosystems für die Entwicklung fucoïdanhaltiger Produkte systematisch analysiert. Dazu werden, wie von (ADNER, 2006) vorgeschlagen, zunächst die einzelnen Prozessstufen des Wertschöpfungsprozesses aufgezeigt und beschrieben, um darauf aufbauend später direkte und indirekte Akteure zu benennen und mögliche Herausforderungen anzusprechen. Danach werden weitere Stakeholdergruppen benannt, die nicht nur den Wertschöpfungsprozess als solchen, sondern die gesamte Technologieentwicklung auf verschiedene Weisen beeinflussen können. Dazu wurden Interviews mit verschiedenen Forschern und Anwendern von Fucoïdanen geführt. Abbildung 1 zeigt diesen Wertschöpfungsprozess vereinfacht auf, bevor er detailliert erläutert wird.

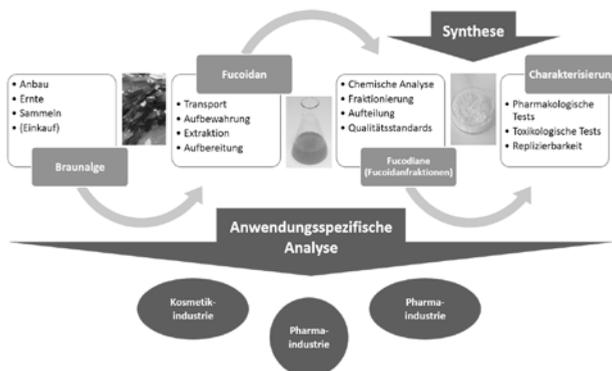


Abb. 1 Wertschöpfungsprozess der Fucoïdanttechnologie.

Die Braunalge – Grundlegend gibt es zwei Möglichkeiten, an Braunalgen zu gelangen. Die gängigste Möglichkeit ist die Ernte in öffentlichen Gewässern, wozu auch das Einsammeln von Pflanzenteilen am Ufer zählt. Die Kultivierung von Algen in natürlichen Gewässern oder Zuchtbecken ist die zweite Möglichkeit. Beim Algenanbau und der Ernte bedarf es der Expertise von Biologen und Meeresbiologen, die den Wachstumsprozess und das ökologische Umfeld der Pflanzen kennen und die nachhaltige Ernte mit Hilfe einer Spezialausrüstung garantieren können. Eine Zusammenarbeit mit Analytikern und Pharmakologen wird wichtig, um die Eigenschaften des jeweiligen Fucoidans, welches aus der entsprechenden Algenernte gewonnen wird, (z. B. Fucoidananteil, Kettenlänge, Sulfatisierungsgrad, Verzweigung) den entsprechenden Umweltbedingungen (z. B. Jahreszeit, Wetterbedingungen, Wassertemperatur) zuzuordnen. Externe Stakeholder sind Umwelt- und Naturschutzvereine sowie gesetzgebende Instanzen, die die Braunalgenernte vor allem in deutschen Meerestgewässern stark reglementieren. Der Einkauf von Braunalgen oder Syntheseprodukten wird nicht als dritte Möglichkeit in Betracht gezogen, da auch Zulieferer als direkte Akteure des Ökosystems interpretiert werden.

Die Aufbereitung des Fucoidans – Die logistische Hürde des Transports ist vernachlässigbar, da Braunalgen äußerst robust sind. Die Aufbewahrung und Konservierung der tiefgekühlten Algenrohmasse ist jedoch erwähnenswert, da die Menge aufgrund des unterschiedlichen Fucoidananteils und des hohen Wassergehalts vergleichsweise groß zum hellgelblichen, pulverförmigen Fucoidan ist. Die Errichtung eines solchen Rohstoffvorrats ist notwendig, um exakte Fucoidanquellen für spätere Versuchsreihen aufzubewahren. Für die Extraktion der Fucoidane gibt es diverse Verfahren, die in zahlreichen Patenten beschreiben werden, die der Öffentlichkeit durch frei zugängliche Patentdatenbank wie Espacenet des Europäischen Patentamts ersichtlich werden. Im Wesentlichen unterscheiden sich die Extraktionsverfahren bezüglich der Extraktionsdauer, Temperatur, Druck, pH-Wert und dem Lösemittel. Das Extraktionsverfahren nimmt Einfluss auf die Eigenschaften des Fucoidans, weshalb dieses für die jeweilige Anwendung ausgewählt werden muss. Für die Extraktion und anschließende Aufbereitung sind entsprechende Labore sowie die Expertise von Chemikern und Laboranten notwendig.

Die „Aufteilung“ der Fucoidane ist abhängig vom Molekulargewicht. Fucoidane mit dem gleichen Gewicht können dabei Unterschiede in der Zusammensetzung der Peptide und der Verzweigung untereinander aufweisen. Nur wenige Fucoidane, wie beispielsweise die der Stachelhäuter, liegen linear, also ohne Verzweigungen, vor (PEREIRA et al., 1999). Das pulverförmige Fucoidan muss unter anderem deshalb im Anschluss chemisch charakterisiert werden, um die Qualität des Produkts zu gewährleisten, damit spezifischere Tests durchgeführt werden können.

Pharmakologische & Toxikologische Tests – Aufgrund der Vielfalt von Fucoidanen und der damit einhergehenden geringen Menge der jeweiligen Substanz ist es notwendig, vorab genau festzuhalten, welche Fucoidane für welche Anwendungen nutzbar sind und welche Voraussetzungen damit an das entsprechende Fucoidan gestellt werden. Dabei ist die Reihenfolge pharmakologischer und toxikologischer Tests festzulegen und eine Dokumentation und Kommunikation der Ergebnisse zu gewährleisten. Vor allem positive Eigenschaften sind herauszustellen, um eine Replizierbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen, um weiterführende, anwendungsspezifische, klinische Studien zu ermöglichen.

Endprodukte – Entsprechend ihres Anwendungsfeldes müssen die Fucoidane eine unterschiedliche Homogenität aufweisen. Dabei sind die jeweiligen Anforderungen von den Abnehmern an die Homogenität der Fucoidane zu formulieren und auf der entsprechenden Wertschöpfungsstufe an anwendungsorientierte Verbraucher zu übergeben. Anwender lassen sich grob in folgende Industrien aufteilen: Die Kosmetik-, die Nahrungsmittel- und die Pharmaindustrie. Wogegen die Anforderungen an die in der Kosmetikindustrie meist geringer sind, ist die Stoffreinheit bei medizinischen Applikationen von höchster Relevanz. Durch die

Identifikation dieser potenziellen Industrien können auch konkrete Anwender gesucht und angesprochen werden. In der Kosmetikindustrie sind hier beispielsweise kleine mittelständische Unternehmen, die sich in der Nische der Naturkosmetik bewegen, zu nennen. Die in Patentdatenbanken beobachtete Patentaktivität globaler Unternehmen lässt aber auch die Forschungsaktivität im größeren Maßstab vermuten. In der Lebensmittelindustrie sind in erster Linie Nahrungsergänzungsmittel mit Fucoidananteil zu nennen. Als „Health Food“ könnten Fucoidane innerhalb der Individual- und der Systemgastronomie (Restaurantketten) neue Anwendungsgebiete finden. Das größte, aber auch komplexeste Potential liegt in therapeutischen und medizinischen Anwendungen als Präparat, da hier gänzlich neue Funktionalitäten entstehen können. Hierfür müssen Fucoidanfraktionen abhängig von den Eigenschaften und dem Anwendungsfeld im Körper standardisiert, analysiert und kategorisiert werden. Dazu gilt es, die jeweiligen Wirkmechanismen bestmöglich aufzudecken, um den rechtlichen Anforderungen zur Vermarktung eines Fucoidanpräparats gerecht zu werden. Durch den hohen Veredelungsgrad und die Abwesenheit direkter Substitute kann ein wirtschaftlich lukratives Produkt entstehen.

Neben der Vernetzung direkter wertschöpfender Akteure können auch weitere externe Stakeholder Einfluss auf die Entwicklung der marinen Biotechnologie nehmen. Hiervon sollen im Folgenden die fünf in Abbildung 2 vorgestellten Stakeholder vorgestellt werden.

Zunächst werden gesetzgebende Instanzen beschrieben, die an gegebener Stelle im erläuterten Prozess bereits genannt wurden. Vor allem öffentliche Bundes- & Landesbehörden in Deutschland aber auch internationale Vorgaben beeinflussen Prozessschritte der Algengernte und die Zulassung des finalen fucoidanhaltigen Präparates. Auch in der aktuellen Roten Liste der Weltnaturschutzunion „International Union for Conservation of Nature and Natural Resources“ weltweit vom Aussterben gefährdeter Tier- und Pflanzenarten werden einige Algenarten gelistet, wobei Braunalgen jedoch selten erwähnt werden. Im zweiten Band der aktuellen Roten Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands werden dagegen einige Stachelhäuter sowie rund 350 marine Makroalgen genannt (*Rote Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands*, 2014). In Deutschland werden diese Listen direkt vom Bundesamt für Naturschutz in Bonn herausgegeben und haben lediglich den rechtlichen Status von wissenschaftlichen Sachverständigengutachten, wodurch sie dem Gesetzgeber und den Behörden als Informationsquelle und Beurteilungsgrundlage dienen. Nichtsdestotrotz werden sie von den Landesämtern wie dem Landesamt für Landwirtschaft Umwelt und ländliche Räume Schleswig-Holstein laut Interviews als vorrangige Bemessungsgrundlage genutzt. Da fucoidanhaltige Produkte zur Aufnahme im menschlichen Körper bestimmt sind, werden hohe gesetzliche Anforderungen an sie gestellt. Neben den Bestimmungen für Kosmetikprodukte und Lebensmittel sind die strengsten Regelungen im Zusammenhang mit der Zulassung von Arzneimitteln zu finden. So beinhaltet das deutsche Arzneimittelgesetz unter anderem die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln und die Sicherung der Kontrolle und Qualität. Gerade die Anforderungen der gleichbleibenden Qualität ist bei Naturstoffen wie inhomogenen Polysacchariden anzuführen, da hier Verfahren zur Nachbehandlung der Produkte entwickelt werden müssen, um eine solche (ARZNEIMITTELGESETZ 2017) zu gewährleisten.

Umweltverbände umfassen Organisationen wie den NABU oder den BUND, die sich mit dem Schutz und der Erhaltung von Lebewesen und Landschaften befassen. Da die Ernte von wildem Fucus aber auch der Aufbau von Algenfarmen in öffentlichen Gewässern natürlichen Lebensräume beeinflusst, müssen Natur- und Umweltschutzorganisationen ebenfalls in die Diskussion und Entwicklung nachhaltiger Maßnahmen einbezogen werden.

Zu den Kapitalgebern zählen neben Großinvestoren, die oftmals erst in späteren Phasen des Technologieentwicklungsprozesses eintreten, vor allem staatliche Einrichtungen, die durch strukturpolitische Initiativen die Forschungsaktivitäten und Etablierung wirtschaftlicher Aktivitäten fördern. Konkrete Programme sind beispielsweise INTERREG Projekte, die aus Geldern des Europäischen Fonds für regionale Entwicklung die Zusammenarbeit von

länderübergreifenden Programmregionen fördern. Da im Zuge der Etablierung eines Innovationsökosystems auch die kapitalintensive Technologieentwicklung aktiv gefördert wird, ist die Einbringung und das Management dieser öffentlichen Gelder eine wichtige Aufgabe, vor allem, bevor industrielle Akteure aktiv werden.

Die Medien stehen als Kommunikationskanal in direkten Kontakt mit den Kunden, da sie aufgrund ihrer Reichweite das Image der Fucoidanprodukte beeinflussen. Eine dementsprechende breite Medienwirksamkeit von Druck- und elektronischen Medien sollte daher gefördert und erhalten werden.

Von der Nachfrageseite werden die Kunden als wichtigste Stakeholdergruppe abgebildet. Zunächst ist die Einstellung und das Verhalten der Kunden zu betrachten. Das Umweltbewusstsein und die damit einhergehende Nachfrage nachhaltiger Bioprodukte und alternativer Medizin ist während der letzten Jahre global angestiegen. Dennoch existieren geografische Unterschiede beim Konsum. So ist die Verwendung von Algen und deren Inhaltsstoffen im ostasiatischen Raum schon seit langer Zeit zu beobachten (GODLEWSKA et al., 2017). Beim Aufbau lokaler Innovationsökosysteme kann dazu zusätzlich auf den Erfahrungen von Leitmärkten ähnlicher Produkte aufgebaut werden (BEISE, 2004). Auch spezielle Anwendungen, für die es bisher kein anderes Präparat mit gleichen Eigenschaften gibt, wie der Einsatz von Fucoidanen in der Augenheilkunde, gewinnen an Relevanz, da die Anzahl der Menschen mit Augenerkrankungen aufgrund des demographischen Wandels ebenfalls stark zunimmt.

Diskussion von Innovationsbarrieren und Maßnahmen zur Stärkung des Innovationsökosystems

Beim Aufzeigen der Prozessschritte, der jeweilig beteiligten Akteure und der externen Stakeholder haben sich verschiedene Schwierigkeiten herausgestellt, auf die beim Aufbau des Innovationsökosystems explizit eingegangen werden muss. Dies ist auch im Zuge der durchgeführten Interviews mit verschiedenen Experten des Ökosystems bestätigt worden. Im Folgenden werden daher erst Barrieren systematisch zusammengefasst und diskutiert, die dann als Grundlage für Verbesserungsmaßnahmen von Prozessen innerhalb des Ökosystems genutzt werden, um die Abläufe zwischen Technologieentwicklung und Kommerzialisierungsmaßnahmen zu koordinieren und beschleunigen. Dazu werden diese Barrieren zunächst in Abbildung 3 zusammengefasst.



Abb. 2 Externe Stakeholder.



Abb. 3 Barrieren im Innovationsökosystem.

Zunächst sind ferne Leitmärkte bei der Betrachtung einer **geographischen Distanz** zu berücksichtigen. Da sich die Technologie noch in einer frühen Entwicklungsphase befindet, kann die konventionelle Algennutzung als „Vorreitertechnologie“ aufgefasst werden. Der größte Konsum von Algen für klassische Anwendungen, wie der Zubereitung von Algennahrungsmitteln, ist im ostasiatischen Raum zu beobachten (GODLEWSKA et al., 2017). Dies unterstützt auch die Patent- und Publikationsintensität dieser Region. Sowohl von Angebots- als auch von Nachfrageseite weisen Leitmärkte Vorteile und Strukturen auf, von denen neue Märkte profitieren können, da sie mit der Technologie, in diesem Fall der Braunalge und deren Charakteristiken, schon sehr vertraut sind (BEISE, 2004). Anbieter und Anwender weisen dabei möglich kognitive Vorteile auf, da sie den Naturstoff und seine Eigenschaften ebenfalls besser kennen als ihre Konkurrenten und Kunden adaptieren Produkte auf Algenbasis möglicherweise schneller, da sie diese schon aus anderen Bereichen des Alltags kennen. Ebenfalls ist eine geografische Distanz durch die Vielzahl kleiner mittelständischer Unternehmen zu begründen. Diese sind oft in Nischenmärkten aktiv und ihre geografische Reichweite ist trotz der Globalisierung ressourcenbeding begrenzt. Als fester Bestandteil im Ökosystem wird ihnen eine feste Aufgabe zukommen und sie haben den Vorteil durch ihre Netzwerkposition zu profitieren.

Eine **kognitive Distanz** ist an mehreren Stellen im Prozess zu beobachten. Zunächst sind die verwendeten Fachterminologien unterschiedlicher Forschungsdisziplinen zu nennen. Diese unterscheiden sich gleich mehrfach, da beispielsweise Meeresbiologen, Chemiker, Mediziner und Anwender je nach Anwendungsgebiet unterschiedliche Bezeichnungen verwenden und eine unterschiedliche Breite und Tiefe der jeweiligen Informationen benötigen. Je nach Anforderung des Endprodukts an die Beschaffenheit des Fucoidans ist zudem ein unterschiedliches Fachwissen notwendig. Ferner wird die Zusammenarbeit zwischen Forschungsteams gleicher fachlichen Herkunft laut Interviewpartnern immer noch bevorzugt. Die Definition von Begriffen, gemeinsame Workshops, eine direkte moderierte Kommunikation und Kategorisierungssysteme können zur besseren Kommunikation im Netzwerk beitragen. Außerdem kann ein externes Projekt- und Planungsmanagement verschiedene Akteure aktiv zusammenbringen und einzelne Akteure in jeweilige Untergruppen einteilen.

Die beobachtete **kulturelle Distanz** ist den unterschiedlichen institutionsspezifischen Zielsetzungen der Akteure geschuldet. So verfolgen die meisten, vor allem naturwissenschaftlich geprägten Forschungsteams primär eine Veröffentlichung ihrer Ergebnisse in Fachzeitschriften. Dadurch wird die langfristige Entwicklung anwendungsorientierter Ergebnisse sowie die Generierung von Patenten und die Entwicklung langfristiger Geschäftsmodelle oft vernachlässigt. Anwendungsorientierten Unternehmen fehlt dagegen oft die Expertise aus der Wissenschaft, um naturwissenschaftliche Erkenntnisse zu gewinnen und fachspezifisch zu erläutern. Auch hierbei hilft die aktive Koordination multidisziplinärer Einheiten innerhalb des Ökosystems.

Ressourcenlimitationen entstehen durch eine vernachlässigte Berücksichtigung des langfristigen wirtschaftlichen Nutzens und der Akquise von Fördergeldern. Das öffentliche Interesse muss daher geweckt werden und die Vorteile der Technologie aktiv nach außen hin kommuniziert werden, da es die kostenintensive Etablierung rechtfertigt. Langfristig wird zwar die Industrie die Technologieweiterentwicklung fördern, solange muss die Beschaffung von finanziellen Mitteln allerdings noch aktiver Bestandteil der Aufgaben des Koordinationsteams sein.

Die größte Herausforderung der Technologieentwicklung bietet die **Aufskalierung** der Fucoidane. Zunächst müssen die Umweltbedingungen (Spezies, Herkunftsort, Wettereigenschaften, Wassereigenschaften, Größe, Tiefe, etc.) des Ernteprodukts festgehalten werden, da Korrelationen zwischen diesen und den Eigenschaften der Fucoidane, wie Kettenlänge, Sulfatgehalt, Molekulargewicht, Proteingehalt und der Monosaccharidzusammensetzung, festgestellt worden sind (FITTON et al., 2015; LAHRSEN et al., 2018). Außerdem müssen die chemischen Eigenschaften der jeweiligen Fucoidane getestet

werden und Parallelen zwischen diesen und den Ursprungspezies gezogen werden. Gleiches gilt für biologische und medizinische In-vitro-Studien. Fucoideane zeigen nämlich zusätzlich eine unterschiedliche Wirkung in verschiedenen Zelltypen im menschlichen Körper auf und sind damit auch anwendungsspezifisch genauer zu unterscheiden (FITTON et al., 2015). Ein Beispiel ist durch zwei Studien zur antikanzerogenen Wirkung gegeben: Fucoideane des Blasentang (*fucus vesiculosus*) sind gegenüber anderen getesteten Spezies im Stande, die Adhäsion von Brustkrebszellen an Thrombozyten zu hemmen (CUMASHI et al., 2007). Fucoideane des Mozuku (*Cladosiphon okamuranus*) können dagegen das Wachstum von Darmkrebszellen abschwächen (AZUMA et al., 2012). Damit ist die Spezies zwar eingegrenzt, aber die jeweiligen bioaktiven Fucoideane müssen noch genauer charakterisiert werden, um den Wirkmechanismus beschreiben zu können. Es sind daher verschiedene Kategorisierungen notwendig, die beispielsweise in einer angelegten Datenbank festgehalten werden können. Diese Datenbank muss normiert und zugänglich für die Akteure des Innovationsökosystems sein. Durch die gemeinsame Entwicklung können damit Ressourcen eingespart werden und die Entwicklung nachhaltiger gestaltet werden. Eine alternative Methode ist die Synthese beziehungsweise enzymatische Modifizierung von Fucoideanen, deren Entwicklung unter anderem an der Technischen Universität Dänemark in Kopenhagen vorangetrieben wird (ALE und MEYER, 2013). Durch eine derartige Modifikation könnten homogene Fucoideane synthetisiert und Qualitätsstandards eingehalten werden.

Zusammenfassung

Nach der Identifizierung relevanter Netzwerkpartner entlang der Wertschöpfungskette innerhalb des potenziellen Innovationsökosystems gilt es, diese nachhaltig zu vernetzen und deren Interaktion langfristig zu koordinieren, bis dieses selbstständig in der Lage ist, sich auch jenseits etablierter Technologie- und Marktgrenzen selbstständig zu entwickeln. Hierfür müssen Intermediäre eingesetzt werden, die die Bedürfnisse der Akteure verstehen und diese miteinander vernetzen. In diesem Zuge müssen sie den Produktfluss überwachen und koordinieren, die Kommunikation des multidisziplinären Teams bei der Zusammenarbeit unterstützen und neue Akteure und Interessensgruppen einschließen. Dabei müssen Sie potenzielle Barrieren im Blick halten und das Ökosystem dementsprechend konditionieren. Die Überwachung und Motivation zur Pflege der Datenbank der Netzwerkpartner ist eine zentrale Aufgabe der Intermediäre. Dazu zählt auch die Aufmerksamkeit bezüglich der Technologie an verschiedenen Stellen zu fördern. In diesem Zusammenhang müssen Behörden innovative Konzepte vorgestellt werden, wie die Aufforstung und ressourcenschonende Nutzung der Braunalgen. Öffentliche Kapitalgeber müssen von dem enormen gesellschaftlichen Interesse der Technologieentwicklung, beispielsweise durch potenzielle Erhöhung bestimmter Heilungschancen überzeugt werden. Kunden müssen an auf den Mehrwert der Bioressource herangeführt werden. Industrieinvestoren, vor allem im Pharmabereich, müssen neben öffentlichen Investoren das Potenzial der Technologie erkennen, um den Wettbewerb und damit Marktaktivitäten anzutreiben. Langfristig kann der Aufbau eines Innovationsökosystems damit die systematische Etablierung einer Technologie wie den Fucoideanen vorantreiben.

Danksagung

Die Finanzierung des Vorhabens erfolgte durch das Interreg Projekt Fucosan der Deutsch-Dänischen Grenzregion. Zudem sei dem gesamten Fucosan Projektteam unter Leitung von Alexa Klettner des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel an dieser Stelle gedankt.

Literatur

- ADNER, R., 2006: Match your innovation strategy to your innovation ecosystem. Harvard business review 84 (4), 98.
- ALBAN, S., A. SCHAUERTE UND G. FRANZ, 2002: Anticoagulant sulfated polysaccharides: Part I. Synthesis and structure-activity relationships of new pullulan sulfates. Carbohydrate Polymers 47 (3), 267-276.
- ALE, M.T. UND A.S. MEYER, 2013: Fucoideans from brown seaweeds: An update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. RSC Adv 3 (22), 8131-8141.

- ALLEN, M.J. UND M. JASPARS, 2009: Realizing the potential of marine biotechnology: CHALLENGES & OPPORTUNITIES. *Industrial Biotechnology* 5 (2), 77–83.
- ARZNEIMITTELGESETZ 2017: verfügbar unter https://www.gesetze-im-internet.de/amg_1976/ [abgerufen am 15.07.2018].
- AZUMA, K., T. ISHIHARA, H. NAKAMOTO, T. AMAHA, T. OSAKI, T. TSUKA, T. IMAGAWA, S. MINAMI, O. TAKASHIMA, S. IFUKU, M. MORIMOTO, H. SAIMOTO, H. KAWAMOTO UND Y. OKAMOTO, 2012: Effects of oral administration of fucoidan extracted from *Cladosiphon okamuranus* on tumor growth and survival time in a tumor-bearing mouse model. *Marine drugs* 10 (10).
- BEISE, M., 2004: Lead markets: Country-specific drivers of the global diffusion of innovations. *Research Policy* 33 (6-7), 997–1018.
- CHAPIN, F.S., P.A. MATSON UND H.A. MOONEY (Hrsg.), 2002: Principles of terrestrial ecosystem ecology, New York, Springer.
- CUMASHI, A., N.A. USHAKOVA, M.E. PREOBRAZHENSAYA, A. D'INCECCO, A. PICCOLI, L. TOTANI, N. TINARI, G.E. MOROZEVICH, A.E. BERMAN, M.I. BILAN, A.I. USOV, N.E. USTYUZHANINA, A.A. GRACHEV, C.J. SANDERSON, M. KELLY, G.A. RABINOVICH, S. IACOBELLI UND N.E. NIFANTIEV, 2007: A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology* 17 (5), 541–552.
- DO, H., N.-S. KANG, S. PYO, T.R. BILLIAR UND E.-H. SOHN, 2010: Differential regulation by fucoidan of IFN- γ -induced NO production in glial cells and macrophages. *Journal of cellular biochemistry* 111 (5), 1337–1345.
- FITTON, J.H., D.N. STRINGER UND S.S. KARPINIEC, 2015: Therapies from Fucoidan: An Update. *Marine drugs* 13 (9), 5920–5946.
- GODLEWSKA, K., A. DMYTRYK, Ł. TUHY UND K. CHOJNACKA, 2017: Algae as Source of Food and Nutraceuticals. In: *Prospects and Challenges in Algal Biotechnology*, Springer, S. 277–294.
- HENNINGSON, J.A., R. FALSHAW, R.H. FURNEAUX UND K. THOMPSON, 2006: Structure and Antiviral Activity of the Galactofucan Sulfates Extracted from *Undaria Pinnatifida* (Phaeophyta). *Journal of Applied Phycology* 18 (2), 185.
- JACKSON, D.J., 2011: What is an innovation ecosystem. National Science Foundation 1.
- KANG, S.-M., K.-N. KIM, S.-H. LEE, G. AHN, S.-H. CHA, A.-D. KIM, X.-D. YANG, M.-C. KANG UND Y.-J. JEON, 2011: Anti-inflammatory activity of polysaccharide purified from AMG-assistant extract of *Ecklonia cava* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Carbohydrate Polymers* 85 (1), 80–85.
- KLETTNER, A., 2016: Fucoidan as a Potential Therapeutic for Major Blinding Diseases—A Hypothesis. *Marine drugs* 14 (2).
- KUZNETSOVA, T.A., N.N. BESEDNOVA, A.N. MAMAIEV, A.P. MOMOT, N.M. SHEVCHENKO UND T.N. ZVYAGINTSEVA, 2003: Anticoagulant Activity of Fucoidan from Brown Algae *Fucus evanescens* of the Okhotsk Sea. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 136 (5), 471–473.
- LAHRSEN, E., A.-K. SCHOENFELD UND S. ALBAN, 2018: Size-dependent pharmacological activities of differently degraded fucoidan fractions from *Fucus vesiculosus*. *Carbohydrate Polymers* 189, 162–168.
- LI, C., Y. GAO, Y. XING, H. ZHU, J. SHEN UND J. TIAN, 2011: Fucoidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats via regulating the inflammation response. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 49 (9), 2090–2095, DOI:10.1016/j.fct.2011.05.022.
- OH, D.-S., F. PHILLIPS, S. PARK UND E. LEE, 2016: Innovation ecosystems: A critical examination. *Technovation* 54, 1–6.
- PEREIRA, M.S., B. MULLOY UND P.A. MOURÃO, 1999: Structure and anticoagulant activity of sulfated fucans. Comparison between the regular, repetitive, and linear fucans from echinoderms with the more heterogeneous and branched polymers from brown algae. *The Journal of biological chemistry* 274 (12), 7656–7667.
- Rote Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands, 2014. Bonn-Bad Godesberg, Bundesamt für Naturschutz.
- SYNYTSYA, A., W.-J. KIM, S.-M. KIM, R. POHL, A. SYNYTSYA, F. KVASNIČKA, J. ČOPIKOVÁ UND Y. IL PARK, 2010: Structure and antitumor activity of fucoidan isolated from sporophyll of Korean brown seaweed *Undaria pinnatifida*. *Carbohydrate Polymers* 81 (1), 41–48.
- THOMES, P., M. RAJENDRAN, B. PASANBAN UND R. RENGASAMY, 2010: Cardioprotective activity of *Cladosiphon okamuranus* fucoidan against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 18 (1), 52–57.
- VENKATESAN, J., I. BHATNAGAR UND S.-K. KIM, 2014: Chitosan-alginate biocomposite containing fucoidan for bone tissue engineering. *Marine drugs* 12 (1), 300–316.
- WUESINGHE, W.A.J.P., Y. ATHUKORALA UND Y.-J. JEON, 2011: Effect of anticoagulative sulfated polysaccharide purified from enzyme-assistant extract of a brown seaweed *Ecklonia cava* on Wistar rats. *Carbohydrate Polymers* 86 (2), 917–921.
- YANG, M., C. MA, J. SUN, Q. SHAO, W. GAO, Y. ZHANG, Z. LI, Q. XIE, Z. DONG UND X. QU, 2008: Fucoidan stimulation induces a functional maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *International immunopharmacology* 8 (13-14), 1754–1760.
- YOO, Y.-C., W.-J. KIM, S.-Y. KIM, S.-M. KIM, M.-K. CHUNG, J.-W. PARK, H.-H. SUH, K.-B. LEE UND Y.-I. PARK, 2007: Immunomodulating Activity of a Fucoidan Isolated from Korean *Undaria pinnatifida* Sporophyll. *ALGAE* 22 (4), 333–338.
- YOON, S.-J., Y.-R. PYUN, J.-K. HWANG UND P.A.S. MOURÃO, 2007: A sulfated fucan from the brown alga *Laminaria cichorioides* has mainly heparin cofactor II-dependent anticoagulant activity. *Carbohydrate research* 342 (15), 2326–2330.
- ZOYSA, M. de, C. NIKAPITTYA, Y.-J. JEON, Y. JEE UND J. LEE, 2008: Anticoagulant activity of sulfated polysaccharide isolated from fermented brown seaweed *Sargassum fulvellum*. *Journal of Applied Phycology* 20 (1), 67–74.

Themenkreis B: Biodiversität

BSL 7 Taxon identification of plant tissue-containing herbal mixtures using single molecule real time sequencing



Susann Wicke¹, Bruno Hüttel², Kai Müller¹, Claudia Schütte³, Frank Blattner⁴, Dietmar Quandt^{3,4}

¹Institute for Evolution and Biodiversity, University of Münster, Hüfferstr.1, 48149 Münster, Germany

²Max Planck-Genome-Centre Cologne (MP-GC), Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Carl-von-Linne-Weg 10, 50829 Köln, Germany

³Nees Institute for Biodiversity of Plants, University of Bonn, Meckenheimer Allee 170, 53115 Bonn, Germany

⁴Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Corrensstraße 3, 06466 Gatersleben, Germany

DOI 10.5073/jka.2018.460.007

Species identification often is a challenging and time-consuming enterprise that requires on the one hand taxonomic expertise, especially in case of young species rich radiations, and on the other hand most often well-developed fertile specimens. Considering this, an exact identification of plant fragments, pollen, seeds, or roots on the species level using traditional (e.g. microscopic, phytochemistry etc.) methods is nearly impossible. Genetic barcoding, however, can aid this. In recent years, DNA-barcoding revolutionized taxon identification using specific regions of the genome that are able to discriminate species. The main advantage is not only the underlying option of a cost effective and fast high-throughput process, but also the fact that any kind of tissue can be analyzed. Various national DNA-barcoding projects around the world, such as the German Barcode of Life (GBOL) initiative (www.bolgermany.de), compile a worldwide searchable database containing the DNA-barcodes of all species on Earth. However, the problem arises with herbal drug mixtures, e. g. herbal teas, dietary supplements, or herb and spice mixtures, as the standardized DNA barcoding routine cannot be applied anymore. Instead, additional methodological steps (i.e., cloning) need to be introduced, which are laborious and costly, due to the high number of clones required to statistically represent the taxonomic breadth of the sample. In contrast, well-established next generation sequencing (NGS) platforms, such as HiSeq or MiSeq, can provide coverage but they fail to deliver sufficient read length. Because of those read length problem, only a fraction of the targeted DNA barcode can be obtained, limiting the resolution power. Here, we present a strategy that will allow a precise species level identification of herbal mixtures using the established full-length DNA barcoding regions via single molecule real time sequencing (SMRT), which provides full length sequences of the DNA-barcode regions – irrespective of its length – and coverage for statistical analyses.

Themenkreis B: Biodiversität

BSL 8 Analyse der Bestäubernetzwerke im Kümmel (*Carum carvi*) mittels DNA-Barcoding



Analysis of pollination networks in caraway (Carum carvi) via DNA-Barcoding

Isabel C. Kilian Salas^{1,2,3}, Andrée Hamm¹, Ximo Mengual², Ralph Peters², J. Wolfgang Wägele²

¹Professur Agrarökologie und Organischer Landbau, Universität Bonn, Auf dem Hülgel 6, 53121 Bonn

²Forschungsmuseum Alexander König, Adenauerallee 140, 53113 Bonn

³i.kilian@gmx.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.008

Zusammenfassung

Die Insektenbestäubung gehört zu den essenziellen Ökosystemdienstleistungen für uns Menschen. Über 75% der Anbaupflanzen und 87,5% der Wildpflanzen sind direkt von dieser Form der Bestäubung abhängig. Die meisten Bestäuber in der Landwirtschaft in Deutschland stammen aus den Ordnungen der Brachycera („echte Fliegen“) und Hymenoptera (Hautflügler). Da allerdings seit Jahren ein drastischer Rückgang auch der bestäubenden Insekten zu beobachten ist, wird seit längerem intensiv daran gearbeitet Strategien zu entwickeln, um diese Entwicklung entgegen zu wirken. So werden z. B. im vorliegenden Projekt mit Hilfe der Methode des DNA-Barcoding die potenziellen Bestäuber des Kümmels (*Carum Carvi*) identifiziert, um dann mittels Metabarcoding festzustellen, welche weiteren Pflanzenarten im Bestäubernetzwerk des Kümmels eine Rolle spielen. Dafür wurde während der Vegetationsperioden 2016 und 2017 auf zwei Flächen (je eine mit bzw. ohne Blühstreifen) Hymenoptera und Brachycera gesammelt. Insgesamt wurden an 14 Sammeltagen im Jahr 2016 konnten 1055 Individuen erfasst. Erste Ergebnisse der morphologischen und genetischen Bestimmung zeigen, dass insgesamt 54 Fliegen- und 43 Hymenopterenarten auf den Kümmelflächen vorkommen. Basierend auf diesen und auf den Ergebnissen des Metabarcoding der Pollenproben werden nun die Bestäubernetzwerke analysiert, auch um Empfehlungen für einen nachhaltigen Schutz und eine nachhaltige Nutzung der Bestäuber formulieren zu können.

Stichwörter: Bestäuber, Kümmel, Ökosystemdienstleistung, DNA-Barcoding, GBOL

Abstract

Insect pollination is one of the most important ecosystem services provided to humans. Over 75% of crops and 87,5% of wild plants are directly dependend from this type of pollination. The two biggest insect pollination groups in German agroecosystems are the Brachycera (“true flies“) and Hymenoptera. However, a decline trend in agricultural biodiversity has been observed in the past years, which is why the need for sustainable conservation strategies for pollination services is more needed than ever before. Therefore, via DNA-Barcoding the potential pollinators of caraway (*Carum carvi*) will be identified. Additionally, other plants that might be important in the pollination network of caraway will be identified via Metabarcoding pollen samples. Therefore, Hymenoptera and Brachycera samples were collected during the vegetations periods of 2016 and 2017 on two areas (one with and one without flowering strips) with a hand net on three different day intervals. Overall, on 14 sampling days of each year pollinators were collected, and in 2016 in total 1055 specimens were compiled. First preliminary results of morphological and genetic analysis suggest that around 54 fly and 43 Hymenoptera species are present in the caraway before, during and after the blooming. Further aims are to combine these results with the one of the metabarcoding, build up the pollinator network of caraway, and based on this information generate future recommendations for a sustainable management of pollination services.

Key words: pollinators, caraway, ecosystem service, DNA-Barcoding, GBOL

Einleitung

Mehr als 52% der Fläche Deutschlands werden derzeit durch konventionelle oder ökologische Landwirtschaft genutzt. Während manche Nutzpflanzen wie Kartoffeln oder Getreide selbst- oder windbestäubt sind, hängen über 75% der meistproduzierten Anbau- und 87,5% der Wildpflanzen von der Bestäubung durch Insekten ab (Kleijn et al. 2015; Ollerton et al. 2011; Ricketts et al. 2008). Die Bestäubung gehört daher zu den essenziellen Ökosystemdienstleistungen und leistete z.B. im Jahr 2005 mit mehr als 153 Milliarden Euro einen enormen Beitrag zur Weltwirtschaft und zur Sicherung der Ernährung der Menschheit (Gallai et al., 2009; Potts et al., 2010).

Zu den wichtigsten und größten Gruppen bestäubender Insekten gehören im mitteleuropäischen Raum die Fliegen (Diptera, Brachycera) und die Hautflügler (Hymenoptera) (Ssymank et al. 2008). Zu den bekanntesten Hautflüglern gehört auch die Honigbiene (*Apis mellifera*), welche mit knapp 800.000 Kolonien in Deutschland den Hauptteil der Bestäubung in der Landwirtschaft übernimmt. Aber auch viele andere Arten wie die über 560 Wildbienenarten, zu denen auch die Hummeln gehören (NABU), leisten hierbei einen wichtigen Beitrag. Darüber hinaus ist davon auszugehen, dass auch zahlreiche, oftmals sehr kleine, blütenbesuchende Arten, wie Erzwespen oder andere parasitische Wespen ebenfalls potenzielle Bestäuber sind. In welchem Umfang sie diese Rolle übernehmen und welche Bedeutung sie damit in der Landwirtschaft spielen, ist jedoch bisher noch weitestgehend unbekannt. Von den 150 Familien der Fliegen, wurden bereits aus 71 Familien schon blütenbesuchende Vertreter identifiziert. Die bekannteste und wichtigste Bestäuberfamilie innerhalb dieser Ordnung sind die Schwebfliegen mit über 470 Arten allein in Deutschland. Nach den Bienen gehören die Arten dieser Familie zu den wichtigsten Bestäubern für viele Nutzpflanzen (Apfel, Erdbeere, Kirsche, usw.) (Ssymank et al., 2009). Alle Studien über die Rolle der Fliegen als Bestäuber in der Landwirtschaft haben bis jetzt gezeigt, dass die Anzahl der als Bestäuber in Frage kommenden Arten unterschätzt wurde oder deren Rolle in der Landwirtschaft überhaupt noch kaum erforscht ist (Ssymank et al., 2008).

Die Bestäubung als Ökosystemleistung gilt, verursacht durch den Rückgang von bestäubenden Insekten, jedoch seit mehreren Jahren als gefährdet (Potts et al. 2010). Hauptverursacher für diesen Verlust sind im Wesentlichen die Intensivierung der Landwirtschaft und der damit verbundene erhöhte Einsatz von Pflanzenschutzmitteln und der Rückgang an Blütenpflanzen. Das Ergebnis sind strukturlöse, verarmte und ausgeräumte Kulturlandschaften in weiten Teilen Deutschlands. Bereits über 52% der Wildbienen werden daher in einer der Gefährdungskategorien der Roten Liste geführt. Grund hierfür ist neben dem Verlust der Nahrungsressourcen vor allem auch der Verlust von Nistplätzen (Westrich et al. 2008). Ähnliches gilt auch für die Schwebfliegen von denen mindestens 30% der Arten in der Roten Liste geführt werden (Ssymank et al., 2011).

Der Kümmel (*Carum carvi*) - ein Doldenblütler (*Apiaceae*) - ist einer der weitverbreitetsten Arzneipflanzen in Deutschland und ist bekannt für seine wohltuenden Wirkungen im menschlichen Körper. Wie bei vielen anderen Doldenblütlern spielt die Windbestäubung der Blüten eine wichtige Rolle, aber nichtsdestotrotz wurde schon nachgewiesen, dass Insektenbestäubung die Erträge durchaus um 10-20% steigern kann (Bouwmeester & Smid 1995). Ziel des vorgestellten Projektes ist es daher, die häufigsten Blütenbesucher und potentiellen Bestäuber des Kümmels hierzulande mittels der Methode des DNA-Barcoding („genetischer Fingerabdruck“) zu identifizieren, um auf der Basis der Ergebnisse ein effektives Bestäubungsmanagement entwickeln zu können. Dies ist die erste Studie die mittels dieser Methode die Bestäubernetzwerke in der Landwirtschaft und in diesem Fall des Kümmels beschreiben will.

Material und Methoden

Die Erfassung der Insekten erfolgte während der Vegetationsperioden in 2016 und 2017. Dabei wurden sowohl Kümmelflächen ohne als auch mit Blühstreifen beprobt. Letzteres erfolgte, um zu

überprüfen, welchen Einfluss Blühstreifen auf die Diversität von bestäubenden Insekten in der Landwirtschaft haben (Behrens 2009). Beide Flächen befinden sich am Versuchs Campus Klein Altendorf der Universität Bonn.

Hierbei wurden einzelne Individuen der Brachycera und Hymenoptera (mit Ausnahme der Honigbiene) mit einem Handkescher entlang eines 50m-langen Transekts für 30 min während dreier Tagesintervalle (10-12, 12-14, 14-16 Uhr) gesammelt und zunächst bei minus 20°C zwischengelagert. Anschließend wurden die einzelnen Tiere im Labor mit einem linsengroßen Glycerinstückchen abgetupft, um anhaftende Pollen untersuchen zu können. Die Tiere und der Pollen werden dabei nicht nur morphologisch bestimmt, sondern auch mittels DNA-Barcoding bzw. DNA-Metabarcoding identifiziert. Dabei sollen neben den potenziellen Bestäuberarten auch die von den Insekten als Nahrungsquelle genutzten Pflanzenarten ermittelt werden. DNA-Metabarcoding - das Analysieren von Mischproben Anhand von Next Generation Sequencing (NGS)- ist eine Methode, die sich im Hinblick auf Bestäubernetzwerke als erfolgreich etabliert hat und in vielen Studien schon genutzt wurde (Lucas et al., 2018; Pornon et al., 2017).

DNA-Barcoding ist eine etablierte Methode, die sich in den letzten Jahren als globaler Standard zur schnellen und zuverlässigen genetischen Artidentifizierung entwickelt hat. Anhand eines kurzen Markergens ist es damit möglich, auch besonders schwierig zu identifizierende Arten oder artenreiche Gruppen zu bestimmen. Für dieses Projekt wird u.a. die Referenzdatenbank von „German Barcode of Life“ (GBOL) benutzt (www.bolgermany.de). Das GBOL-Projekt hat das Ziel, die Artenvielfalt aller deutschen Tiere, Pilze und Pflanzen anhand ihres DNA-Barcodes zu erfassen. Es handelt sich um das größte DNA-Barcoding Vorhaben in Europa und es ist gelungen innerhalb der ersten Projektphase über 30% der aus Deutschland bekannten Arten zu erfassen (Wägele, 2016). Erreicht wurden diese Ziele durch ein deutschlandweites Netzwerk aus 23 Institutionen, die sich mit Biodiversitätsforschung beschäftigen und ehrenamtlichen Taxonomen. In das Teilprojekt "Bestäuber in der Landwirtschaft" sind im Wesentlichen drei Einrichtungen involviert:

- 1) Professur Agrarökologie und Organischer Landbau (AOL) der Universität Bonn
- 2) Zoologisches Forschungsmuseum Alexander König (ZFMK) in Bonn
- 3) TIEM (Team Integrierte Umweltüberwachung GbR) der Justus Liebig Universität Gießen (JLU)

Vorläufige Ergebnisse und die die geplanten nächsten Schritte

Im Laufe des Jahres 2016 wurden 1055 Proben an 14 Sammeltagen gesichert, davon gehören 190 Individuen zur Ordnung der Hymenoptera und 865 zur Unterordnung der Brachycera. Die Ergebnisse des DNA-Barcoding der ersten 147 Individuen haben ergeben, dass mindestens 43 Hautflüglerarten aus jeweils 11 Familien nicht nur Blütenbesucher sind, sondern auch höchst wahrscheinlich beim Pollentransfer im komplexen Bestäubernetzwerk des Kümmels eine Rolle spielen. Darüber hinaus gehören 356 Fliegenindividuen mindestens 54 Fliegenarten an, die entweder mit DNA-Barcoding oder morphologisch charakterisiert werden konnten. Diese Ergebnisse werden durch die detaillierten Analyse der Pollenproben präzisiert, wobei die zu erwartende Diversität höher liegt, da durch DNA- Barcoding auch kryptische Arten zu erkennen sind.

Die ca. 1500 Proben aus dem Jahre 2017 befinden sich derzeit noch im Prozess der Aufarbeitung.

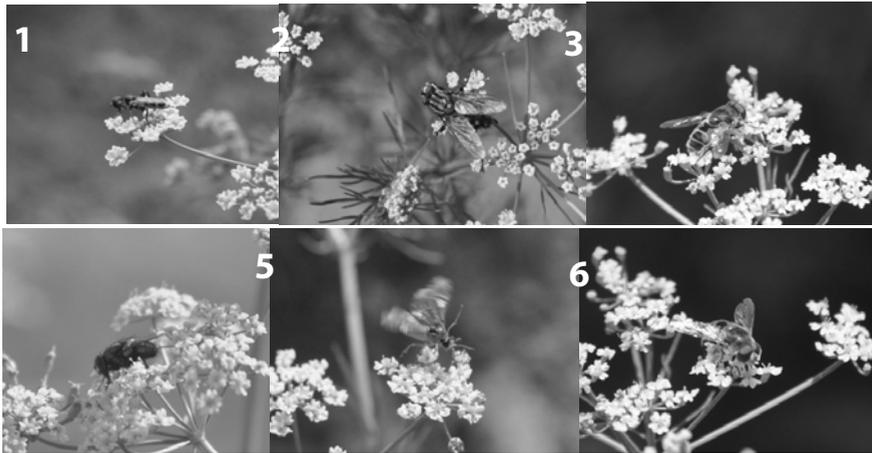


Abb.4: Potenzielle Bestäuber des Kümmel (*Carum Carvi*) aus der Unterordnung der Brachycera und der Ordnung der Hymenoptera. (1) *Syrirta pipiens* (Syrphidae), (2) Sarcophagidae, (3) *Eristalis* sp. (Syrphidae) (4) Calliphoridae (5) *Athalia* sp. (Tenthredinidae) und (6) *Eristalis tenax* (Syrphidae). ©Isabel Kilian

Literaturverzeichnis

- Bouwmeester, H. J., & Smid, H. G. (1995). Seed yield in caraway (*Carum carvi*). 1. Role of pollination. *The Journal of Agricultural Science*, 124(02), 235. <https://doi.org/10.1017/S0021859600072907>
- Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J., & Vaissière, B. E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68(3), 810–821. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>
- Hamm, A., & Ssymank, A. (2009). Caring for Pollinators: Safeguarding agrobiodiversity and wild plant diversity. Retrieved July 20, 2018, from <https://www.bfn.de/fileadmin/MDb/documents/service/Skript250.pdf>
- Kleijn, D., Winfree, R., Bartomeus, I., Carvalheiro, L. G., Henry, M., Isaacs, R., ... Potts, S. G. (2015). Delivery of crop pollination services is an insufficient argument for wild pollinator conservation. *Nature Communications*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms8414>
- Lucas, A., Bodger, O., Brosi, B. J., Ford, C. R., Forman, D. W., Greig, C., de Vere, N. (2018). Floral resource partitioning by individuals within generalised hoverfly pollination networks revealed by DNA metabarcoding. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23103-0>
- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Pornon, A., Andalo, C., Burrus, M., & Escaravage, N. (2017). DNA metabarcoding data unveils invisible pollination networks. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16785-5>
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- Ricketts, T. H., Regetz, J., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Bogdanski, A., Viana, B. F. (2008). Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? *Ecology Letters*, 11(5), 499–515. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x>
- Ssymank, A., Doczkal, D., Rennwald, K., & Dziöck, F. (2011). Rote Liste und Gesamtartenliste der Schwebfliegen (Diptera: Syrphidae) Deutschlands.
- Ssymank, A., Kearns, C. A., Pape, T., & Thompson, F. C. (2008). Pollinating flies (Diptera): a major contribution to plant diversity and agricultural production. *Biodiversity*, 9(1–2), 86–89.
- Wägele, J. W. (2016). DNA-Barcoding ermöglicht den universellen und effizienten Zugang zu Artenwissen. *Biologie in Unserer Zeit*, 46(5), 267–267. <https://doi.org/10.1002/biuz.201690078>
- Westrich, P., Frommer, U., Mandery, K., Riemann, H., Ruhnke, H., Saure, C., & Voith, J. (2008). Rote Liste der Bienen Deutschlands (Hymenoptera, Apidae)(4. Fassung, Dezember 2007). *Eucera*, 1(3), 33–87.

Themenkreis B: Biodiversität

BSL 9 Gibt es die Unterart *Arnica montana* subsp. *atlantica* wirklich?

Corinna Schmiderer¹, Paula Torres-Londono², Andrea Lutz-Röder³, Virginia K. Duwe⁴, Johannes Novak¹



¹Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, A-1210 Wien, Österreich, e-mail: Johannes.Novak@vetmeduni.ac.at

²Kräutermix GmbH, Wiesentheider Str. 4, D-97355 Abtswind, Deutschland

³Kneipp GmbH, Winterhäuser Str. 85, D-97084 Würzburg, Deutschland

⁴Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Straße 6-8, D-14195 Berlin, Germany

DOI 10.5073/jka.2018.460.009

Zusammenfassung

Für Arnika (*Arnica montana* L., Asteraceae) sind in der Literatur zwei Unterarten beschrieben, *A. montana* subsp. *atlantica* (AMA), die nur auf der Iberischen Halbinsel vorkommen soll, und *A. montana* subsp. *montana* (AMM) mit einem sehr weiten Verbreitungsgebiet. Aufgrund der sehr geringen morphologischen Unterschiede wird dieses Konzept der Arnikaunterarten aber oft angezweifelt. Um dieses Konzept genetisch zu prüfen, wurden Populationen von spanischer AMA und österreichischer AMM, ergänzt durch Herbarproben und Material von DNA-Banken von europäischen Herkünften mit 12 publizierten Mikrosatellitenmarkern untersucht.

Arnika kann sich sowohl generativ über Samen als auch klonal über ihr Rhizom fortpflanzen. In AMA konnten wir durch die genetischen Marker ein sehr hohes Ausmaß an klonaler Fortpflanzung feststellen, während wir bei AMM nur einen Fall einer klonalen Vermehrung gefunden haben. Um AMA und AMM in ihrer genetischen Konstitution miteinander vergleichen zu können wurden Klone aus der weiteren Berechnung genetischer Parameter ausgeschlossen und somit nur Proben generativ vermehrter Arnikapflanzen untersucht.

Genetisch unterschied sich AMA mit einem GST von 0,82 sehr deutlich von AMM. Diese eindeutige Abgrenzung rechtfertigt die Unterteilung der Art in diese zwei Unterarten.

Neben dieser taxonomischen Fragestellung ermöglichte die vorliegende Studie auch Aussagen über die genetische Konstitution derjenigen Populationen zu treffen, von denen mehrere Individuen untersucht werden konnten (i.e. spanische AMA und österreichische AMM Populationen).

Die genetische Variabilität in AMA-Populationen ($H_{exp} = 0.28$) war geringer als die der alpinen AMM-Populationen ($H_{exp} = 0.70$). Der Fixierungsindex war in AMA mit einem FST von 0.17 etwas größer als in AMM ($F_{ST} = 0.70$). Dies zeigt an, dass der Genfluss zwischen den AMA-Populationen bedingt durch Fragmentierung etwas stärker eingeschränkt ist als in den alpinen AMM-Populationen. In Populationen beider Unterarten konnte keine Inzucht festgestellt werden ($F_{IS} = 0.10$ für AMA bzw. $F_{IS} = 0.08$ für AMM).

Da die spanische AMA stark gesammelt wird, geben diese Daten wertvolle Hinweise, um eine nachhaltige Wildsammlung organisieren zu können. Bedingt durch die fortschreitende Habitatfragmentierung und Bodenmelioration, die die Wachstumsbedingungen für AMA verschlechtert, ist aber eine Inkulturnahme der AMA anzuraten.

Stichwörter: Arnika, *Arnica montana* subsp. *atlantica*, *Arnica montana* subsp. *montana*, Taxonomie, Populationsgenetik

Arnica montana subsp. *atlantica* – really subspecies?

Themenkreis C: Tierwohl

Der Themenkreis Tierwohl wurde organisiert von der Gesellschaft für Pflanzenzüchtung (GPZ), AG 17 Arznei- und Gewürzpflanzen

**CPL 10 Einsatz von Heil- und Gewürzpflanzen als Futterzusatzstoffe:
Verbesserung der Tiergesundheit und des Tierwohls**



Use of medicinal plants and herbs as feed additives: Improvement of animal health and welfare

Johanna Fink-Gremmels

Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine, Division Veterinary Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology, Yalelaan 104; 3584 CM Utrecht, The Netherlands J.Fink@uu.nl

DOI 10.5073/jka.2018.460.010

Zusammenfassung

In der Tiermedizin werden, vergleichbar mit der Anwendung beim Menschen, Heilpflanzen und Kräuter seit Jahrhunderten angewendet. In der modernen Tierhaltung werden in letzter Zeit in zunehmender Masse pflanzliche Produkte (Pflanzenextrakte, ätherische Öle oder Kräutermischungen aus Heilpflanzen als Futterzusatzstoffe eingesetzt). Das Hauptindikationsgebiet ist hierbei die Verbesserung der Tiergesundheit in kritischen Lebensphasen (erste Lebensstadien, Absetzen, Umgruppieren, Laktation, Futterumstellungen). Bei der Entwicklung solcher Futterzusatzstoffe, die der Zulassungspflicht unterliegen, werden aktuelle Erkenntnisse über den Einfluss des Mikrobioms auf die Darmgesundheit, die Stressresistenz und das Immunsystem berücksichtigt. Hierdurch gelingt es, den Einsatz von Antibiotika zu vermeiden und das Tierwohl nachhaltig zu verbessern.

Stichwörter: Futterzusatzstoffe, Mikrobiom, Darmgesundheit, Tiergesundheit, Antibiotikareduktion, Tierwohl.

Abstract

In veterinary medicine, herbal products are used for centuries comparable to the use in humans. In modern animal husbandry, phytochemical products (extracts, essential oils, and herbal mixtures) are increasingly used as feed additives. The major objective is an improvement of animals' health and disease resilience in critical phases of life (life-start, weaning, grouping, onset of lactation, feed changes). In the development of such feed additives, which require in Europe premarketing approval, recent scientific insights on the importance of the microbiome for gut health, stress tolerance and the immune system are considered. This strategy reduces the need to use antibiotics and actively supports animal welfare.

Keywords: feed additives, microbiome, gut health, animal health, reduction of the use of antibiotics, animal welfare.

Themenkreis C: Tierwohl

CSL 11 Neue Wege in der integrierten tierärztlichen Bestandsbetreuung (ITB) - Landwirtschaftliche Phytopharmacognosia Die klassisch-historische Traditionelle Indische Medizin (TIM) in der westlichen Nutztiermedizin - Entwicklungs-Dokumentation über eine Nutzhanf-Moxibustion für die Anwendung am großen Pflanzenfresser



Finding new approaches to integrated veterinary herd health care (oder auch: stock supervision) – “Agricultural Phytopharmacognosia”: Classical-historical Traditional Indian Medicin (TIM) in western (occidental) medicine for livestock.

Victoria Göckmann

Tierärztin & B.Sc. Agrar (FH) Flurstraße 38, 85402 Kranzberg, E-Mail: vg@dr-goeckmann.com

DOI 10.5073/jka.2018.460.011

Stichwörter: Landwirtschaft, Phytopharmacognosia, Integrierte Tierärztliche Bestandsbetreuung (ITB), Schmerz, Entzündung, Prophylaxe, Nutzhanf, Ayurveda, Traditionell Chinesische Medizin (TCM), Traditionell Chinesische Veterinär Medizin (TCVM), Moxibustion

My development documentation concerning moxibustion of (industrial) hemp applied on the large herbivore.

Keywords: Agriculture, phytopharmacognosy, integrated veterinary herd health care (ITB), pain, inflammation, prophylaxis, (industrial) hemp, Ayurveda, Traditional Chinese Medicine (TCM), Traditional Chinese Veterinary Medicine (TCVM), moxibustion.

Zusammenfassung

Ayurvedische Konzepte stützen seit Jahrtausenden die empfindliche menschliche Gesundheit; das landwirtschaftlich genutzte Tier ernährt seit Jahrtausenden menschliche Kulturen.

Das Zusammenbringen beider Kompetenzen und damit das Gehen erstmalig neuer phytopharmakognostischer Wege bietet sowohl ökologisch wie auch ökonomisch interessante potenzierte Wirkungen für das Wohl des landwirtschaftlichen Nutztieres und seines Menschen.

Abstract

Since thousands of years ayurvedic concepts support our sensitive human health; since thousands of years animal agriculture feeds human cultures.

Uniting both competences, and, for the first time, realizing new phytopharmacognostic approaches provides interesting and intensified effects on the well-being of agricultural livestock and human lives.

Themenkreis C: Tierwohl

CSL 12 Kräuter und ätherische Öle in der Ernährung von Nutztieren

Herbs and essential oils in animal nutrition



Saskia Kehraus, Karl-Heinz Südekum

Institute of Animal Science, University of Bonn, Endericher Allee 15, 53115 Bonn, Germany

email: plos@itw.uni-bonn.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.012

Zusammenfassung

Seit der Gebrauch von Antibiotika in der Nutztierfütterung EU-weit verboten wurde, hat die Suche nach möglichen Alternativen erheblich zugenommen. Eine Möglichkeit ist die Verwendung von Futterzusatzstoffen in Form von Kräutern und deren ätherischen Ölen. Zahlreiche *in vitro*-Studien haben bereits die antibakterielle Wirkung von ätherischen Ölen bestätigt. Darauf aufbauend hat auch die Anzahl von *in vivo*-Versuchen in den letzten Jahren stark zugenommen. Leistungskenngrößen, die hierbei zumeist untersucht und analysiert wurden, waren Futteraufnahme, Körpermassezunahme bzw. Legeleistung und Futteraufwand. Die meisten untersuchten Substanzen wirkten sich positiv auf die untersuchten Variablen aus, obwohl nur wenige Studien tatsächlich statistisch abzusichernde Differenzen zugunsten der neuartigen Futterzusatzstoffe aufwiesen. Da es vielfältige Möglichkeiten der Dosierung und der Zusammenstellung gibt, befindet sich die Forschung diesbezüglich noch in der Anfangsphase. Eine mangelnde Standardisierung des Versuchsablaufs erschwert zusätzlich die Vergleichbarkeit der Studien. Ein Faktor, der generell die Standardisierung erschwert, ist die variierende chemische Zusammensetzung von Kräutern und deren Extrakten. Verschiedene Einflussgrößen, unter anderem der Erntezeitpunkt, die Trocknungstechnologie, der Extraktionsprozess und die geographische Herkunft der Pflanzen, beeinflussen die Zusammensetzung der pflanzlichen Wirkstoffe erheblich. Aus diesem Grund ist es besonders von Bedeutung, die Zusammensetzung der Bestandteile vor der Supplementierung von Futtermischungen zu analysieren und das Ergebnismast der Analyse zu berichten. Abschließend kann gefolgert werden, dass sich Kräuter und deren ätherische Öle durchaus als eine potenzielle Alternative zu Antibiotika in der Tierernährung eignen. Allerdings muss noch weitere Forschungsarbeit unter standardisierten Bedingungen betrieben werden, um den exakten Wirkmechanismus sowie die wirksamsten Wirkstoffe und deren Kombinationen und Dosierungen zu bestimmen.

Stichwörter: Kräuter, ätherische Öle, Leistung,

Abstract

Since the EU banned antibiotic growth promoters in animal nutrition, much research has been conducted to explore the use of possible effective substitutes. One possibility is the application of herbs or their essential oils (EO). Numerous *in vitro* studies have already confirmed the antibacterial actions of these feed additives. Consequently, several *in vivo* studies were performed to confirm their beneficial qualities. Performance variables that were dominantly observed and analyzed are feed intake, body weight gain, laying performance, respectively, and feed conversion ratio. Most of the trials showed slight positive effects, however significant results were rare. Since there are almost unlimited possibilities concerning dosage and combinations of herbs and EO there is still more research needed. A lack of standardization leads to difficulties when it comes to comparing results. One major factor in this concern is the varieties of active components. Chemical composition depends significantly on variables like plant species, physical and chemical soil condition, harvest period, stage of maturity at harvest, technology of drying, duration of storage and extraction process. Therefore, it is necessary to define and declare the composition of the feed additive used in experiments. Generally, it can be stated that herbs and EO have the potential to be considered as an alternative to antibiotic growth promoters in animal nutrition. Nevertheless, there is still further research under more standardized condition needed to evaluate the right dosage and combination as well as the exact mechanism of actions.

Keywords: Herbs, essential oil, performance

Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

DPL 13 *Cistus*-Arten – Analytik ihrer Polyphenole und ihre antikariogene Wirkung

I. Kölling-Speer*, G. Wittpahl*, C. Hannig**, K. Speer*

* Lebensmittelchemie, TU Dresden,

** Medizinische Fakultät, Poliklinik für Zahnerhaltung, TU Dresden

DOI 10.5073/jka.2018.460.013



Die polyphenolreiche Zistrose wird seit der Antike pharmakologisch genutzt; so sind entzündungshemmende, antioxidative, antibakterielle und auch antivirale Eigenschaften bekannt [1,2,3,4]. Diese Effekte werden den Polyphenolen in *Cistus* zugeschrieben, wobei die Polyphenol-Zusammensetzung der wenigen bisher untersuchten *Cistus*-Arten recht unterschiedlich ist [5]. Aus diesem Grund wurden die Polyphenole in den Blättern zahlreicher verschiedener *Cistus*-Arten mit HPLC-DAD-MS/MS vergleichend analysiert. Zusätzlich wurden die *Cistus*-Extrakte auf ihre antibakterielle Wirkung gegen *Streptococcus mutans* – den Leitkeim der Kariogenese – untersucht. Eingesetzt wurde dazu der LIVE/DEAD® BacLight™ Test, der durch Differenzierung von lebenden und toten Bakterien eine Einschätzung der Bakterien-Vitalität ermöglicht [6].

In den untersuchten 23 verschiedenen *Cistus*-Arten, Subspezies und Hybriden wurden 46 phenolische Verbindungen identifiziert und 36 von ihnen quantifiziert, darunter verschiedene Ellagitannine, Flavanole und Flavonol-Glycoside. Basierend auf den Gehalten der zehn Hauptverbindungen wurden die untersuchten *Cistus*-Proben in drei Gruppen eingeteilt (s. Abb.). Die erste Gruppe umfasste drei *Cistus*-Arten mit hohen Ellagitannin-Gehalten; bedeutend waren dabei zwei Punicalagin- und vier Punicalagin-gallat-Isomere. Zehn der untersuchten *Cistus*-Arten wurden in eine zweite Gruppe eingeteilt, die neben wenigen Ellagitanninen in besonders hohen Konzentrationen Flavonole mit Myricetin-3-rhamnosid als Haupt-Verbindung enthielten. Relativ heterogen war dagegen die Gruppe 3, in der die restlichen acht *Cistus*-Arten zusammengefasst wurden. Sie zeichneten sich sowohl durch hohe Flavonol-Gehalte als auch durch vergleichsweise recht hohe Gehalte an Ellagitanninen aus.

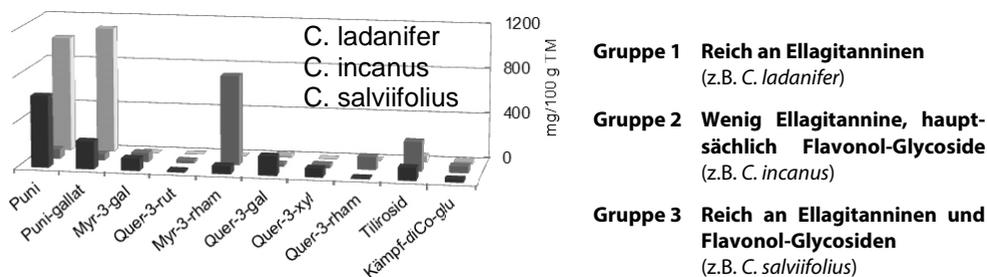


Abb.: Gehalte der 10 Hauptverbindungen in den Blättern von drei ausgewählten *Cistus*-Arten, stellvertretend für die drei Gruppen.

Die unterschiedliche Polyphenol-Zusammensetzung spiegelte sich auch in der antibakteriellen Wirkung gegen *Streptococcus mutans* wider. Die beste Wirkung hatten *Cistus*-Extrakte aus der Gruppe 2 und 3, während die antibakterielle Aktivität in der Gruppe 1 weniger stark ausgeprägt war. Als Ursache werden die geringen Gehalte bzw. die Abwesenheit von Flavonol-Glycosiden angenommen: So ergaben Untersuchungen von definierten Extrakt-Fractionen, dass nicht

einzelne oder wenige Verbindungen, sondern vor allem synergetische Effekte für die antibakterielle Wirkung der Polyphenole verantwortlich waren.

Bei der Untersuchung von Cistus-Tees des Handels zeigte sich deutlich, dass die antibakterielle Wirkung von der Qualität der Ware abhängig war [7].

- [1] E. Barrajón-Catalán, S. Fernández-Arroyo, D. Saura, E. Guillén, A. Fernández-Gutiérrez, A. Segura-Carretero, V. Micol, *Food and Chemical Toxicology*, **2010**, 48, 2273-2282
- [2] F. Petereit, Dissertation der Westfälischen Wilhelms-Universität, **1992**
- [3] C. Ehrhardt, ER. Hrinčius, V. Korte, I. Mazur, K. Droebner, A. Poetter, S. Dreschers, M. Schmolke, O. Planz, S. Ludwig, *Antiviral Res*, **2007**, 76 (1), 38-47.
- [4] S. Rebensburg, M. Helfer, M. Schneider, H. Koppensteiner, J. Eberle, M. Schindler, L. Gürtler, R. Brack-Werner, *Scientific Reports* 6, **2016**, doi 10.1038/srep20394
- [5] E. Barrajón-Catalán, S. Fernández-Arroyo, C. Roldán, E. Guillén, D. Saura, A. Segura- Carretero, V. Micol. *Phytochemical Analysis*, **2011**, doi 10.1002/pca.1281
- [6] C. Hannig, B. Spitzmüller, A. Al-Ahmad, M. Hannig, J. Dentistry, **2008**, 36, 540-545
- [7] G. Wittpahl, I. Kölling-Speer, S. Basche, E. Herrmann, M. Hannig, K. Speer, C. Hannig, *Planta Med*, **2015**, doi 10.1055/s-0035-1557822

Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

DSL 14 Charakterisierung zweier neuer antioxidativer Tetrahydroxyxanthone in *Hypericum*-Samen und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Testa



Characterization of Two Novel Antioxidant Tetrahydroxyxanthenes from Hypericum Seeds and Scanning Electronmicroscopic Investigations of their Testa

Peter Lorenz^a, Annerose Heller^b, Marek Bunse^a, Miriam Heinrich^a, Melanie Berger^a, Jürgen Conrad^c, Florian C. Stintzing^a, Dietmar R. Kammerer^a

^aWALA Heilmittel GmbH, Abteilung Analytische Entwicklung & Forschung, Sektion Phytochemische Forschung, Dorfstr. 1, 73087 Bad Boll/Eckwälden, e-mail: peter.lorenz@wala.de

^bUniversität Hohenheim, Institut für Botanik (210), Garbenstraße 30, 70599 Stuttgart

^cUniversität Hohenheim, Chemisches Institut, Bioorganische Chemie (130b), Garbenstraße 30, 70599 Stuttgart
DOI 10.5073/jka.2018.460.014

Zusammenfassung

Hypericum-Samen wurden kürzlich als natürliche Quelle für eine Reihe von Xanthon-Derivaten beschrieben. In Methanol-Extrakten von *H. perforatum* und *H. tetrapterum* konnten per HPLC(DAD)-MSⁿ zwei Hauptkomponenten, die Tetrahydroxyxanthone THX-1 und -2, identifiziert werden, deren genaue Konfiguration bislang unbekannt war. Beide Substanzen wurden deshalb über chromatographische Auftrennung an Polyamid und Kieselgel aus dem Samenextrakt angereichert und mit Hilfe von 1D- und 2D-NMR-Techniken eine Strukturanalyse vorgenommen. Durch Synthese von THX-1 und -2 und Vergleich ihrer chromatographischen sowie spektroskopischen/spektrometrischen Eigenschaften mit den natürlichen THX in *H. perforatum* wurde die exakte Konfiguration als 1,4,6,7-THX (THX-1) und 1,2,6,7-THX (THX-2) bestimmt. Die beiden neuartigen Verbindungen zeigten eine dreifach stärkere Radikalfängerwirkung im DPPH-Test als das wasserlösliche Vitamin E-Derivat Trolox[®] und sind somit starke Antioxidantien. Ferner konnte durch rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen (SEM) die zweilagige Struktur der *Hypericum*-Samenschale (Testa) gezeigt werden, wobei die Xanthone wahrscheinlich in der sehr dickwandigen, lignifizierten Sklerenchymschicht eingelagert sind.

Stichwörter: *Hypericum perforatum*, *H. tetrapterum*, Samen, Xanthone, DPPH, SEM.

Abstract

Hypericum seeds have recently been identified as a natural source of different xanthone derivatives. Two main constituents, the tetrahydroxyxanthenes THX-1 and -2, were identified in methanolic extracts of *H. perforatum* and *H. tetrapterum* by means of HPLC(DAD)-MSⁿ methods. However, the exact configuration of both THX was unknown so far. For this reason, the two compounds were enriched by chromatography on polyamide and silica, and the corresponding fraction was investigated by 1D- and 2D-NMR techniques. Based on a tentative structural assignment a total synthesis of THX-1 and -2 was performed. Comparing the chromatographic and spectroscopic/spectrometric features of synthetic THX-1 and -2 with their natural counterparts their exact configuration was determined as 1,4,6,7-THX (THX-1) and 1,2,6,7-THX (THX-2), respectively. The novel compounds exhibited a threefold higher radical scavenging activity in the DPPH assay than the vitamin E derivative Trolox[®]. Hence, they are strong antioxidants. Furthermore, scanning electron microscopy (SEM) provided insights into the two-layer structure of the testa (seed coat), with the thick lignified sclerenchyma layer presumably being the depository of the xanthenes.

Keywords: *Hypericum perforatum*, *H. tetrapterum*, seeds, xanthenes, DPPH, SEM.

Einleitung

Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L., im Englischen "St. John's wort") ist eine Arzneipflanze mit traditioneller wie auch aktueller Bedeutung in der Naturheilkunde. Ihr Inhaltsstoff-Spektrum ist

komplex, die Anwendungen der aus oberirdischen Teilen gewonnenen Zubereitungen sind vielfältig. Neben der anti-depressiven Wirkung ihrer Extrakte sind für *H. perforatum* zahlreiche pharmakologische Effekte wie anti-virale, anti-oxidative, antibakterielle und wundheilungsfördernde Wirkungen beschrieben. Die phytomedizinische Bedeutung der Pflanze regte zahlreiche phytochemische wie pharmakologische Untersuchungen an. So dauert die intensive Forschung zu *H. perforatum* nach wie vor an.

Oberirdische Teile von Johanniskraut zeigen ein breites Spektrum an Sekundärstoffmetaboliten, zu deren prominentesten Vertretern die acylierten Phloroglucinole (z.B. Hyperforin und Adhyperforin) und die Naphthodianthrone (wie Hypericin und Pseudohypericin) zählen, neben zahlreichen Flavonoiden. Insbesondere in Wurzeln von *Hypericum*-Arten wurden Xanthone mit einer großen Variabilität an funktionellen Gruppen wie z.B. OH-, MeO-, Prenyl-, Sulfonat- oder Glycosyl-Resten nachgewiesen. Xanthone besitzen ein großes pharmakologisches Potential: einige Vertreter zeigen anti-carcinogene, anti-entzündliche oder neuroprotektive Wirkungen. Bisher nicht erforscht waren hingegen die Inhaltsstoffe der Samen von *Hypericum*. In einer ersten phytochemischen Untersuchung konnten in Methanol-Extrakten von *H. perforatum* und *H. tetrapterum*, dem geflügelten Johanniskraut, neben fettem Öl zahlreiche Xanthone mit den oben genannten funktionellen Gruppen mittels LC-MS bzw. GC-MS nachgewiesen werden (Heinrich et al. 2017). Dabei wurden zwei Tetrahydroxyxanthone (THX-1 und THX-2) als Hauptkomponenten in den Samen detektiert, deren genaue Struktur (Konfiguration) zunächst allerdings unbekannt blieb. Ziel einer weitergehenden Untersuchung sollte folglich sein, die exakte Struktur von THX-1 und -2 aufzuklären und ihre Antioxidans- bzw. Radikalfänger-Wirkung zu ermitteln. Darüber hinaus sollten rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen Informationen zum Aufbau der Testa der Samen liefern und erste Hinweise auf die biologische Funktion der THX geben.

Material und Methoden

Zur Isolierung der THX wurden Samen von *H. perforatum* zunächst mit Dichlormethan extrahiert. Der erhaltene Extrakt lieferte nach Entfernen des Lösungsmittels unter Vakuum ein fettes Öl (31.7% bez. auf Samenmasse). Anschließend wurden die entfetteten Samen mit Methanol (MeOH) extrahiert und der MeOH-Extrakt nachfolgend chromatographisch an Polyamid und Kieselgel aufgereinigt (Lorenz et al. 2018). Die dabei stark angereicherten THX-1 und -2 wurden mit Hilfe von 1D- und 2D-NMR-Methoden (^1H , ^{13}C , HSQC und HMBC) untersucht. Zur abschließenden Strukturaufklärung erfolgte die Synthese von THX-1 und -2 über vier Stufen nach Lorenz et al. (2018). Mit Hilfe einer validierten HPLC-Methode (Heinrich et al. 2017) wurden die Gehalte von THX-1, THX-2 und einer Nebenverbindung THX-3 in den Samen von *H. perforatum* und *H. tetrapterum* bestimmt.

Die synthetisierten THX-1, THX-2 und THX-3 wurden mit dem künstlichen Radikal DPPH in einem photometrischen Test zur Reaktion gebracht und hinsichtlich ihrer Radikalfängerwirkung mit dem wasserlöslichen Tocopherol-Derivat Trolox[®] verglichen.

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen (SEM) erfolgten an einem Zeiss-DSM 940-Rasterelektronenmikroskop nach Sputtern der trockenen ganzen Samen und Bruchstücke mit Gold-Palladium bei 5 kV.

Ergebnisse

Aus den NMR-Daten der chromatographisch angereicherten THX konnte eine erste Strukturanalyse vorgenommen werden. Sie zeigte für THX-1 und THX-2 ein 1,4,6,7- bzw. 1,2,6,7-OH-Substitutionsmuster am Xanthongerüst (s. Strukturformeln, Abb. 1B). Basierend auf diesen Strukturvorschlägen wurden THX-1 und THX-2 synthetisiert. Die synthetisierten Verbindungen wurden per HPLC(DAD)-MSⁿ und GC-MS mit den THX der *Hypericum*-Extrakte verglichen. Diese waren in ihren chromatographischen und spektroskopischen/spektrometrischen Eigenschaften

identisch, wodurch die Konformationsanalyse abgesichert werden konnte. THX-1 und THX-2 waren bisher weder für *Hypericum* noch für andere Pflanzengattungen als Naturstoffe beschrieben. Lediglich die Nebenverbindung THX-3, welche über eine Referenzsubstanz als 1,3,6,7-THX (Norathyriol) identifiziert wurde, ist für *Hypericum* aus der Literatur bekannt. Abb. 1A zeigt ein typisches HPLC-Chromatogramm eines MeOH-Extraktes von *H. perforatum* mit den beiden Hauptxanthonen. Die per HPLC bestimmten THX-Gesamtgehalte (THX-1,-2 und -3) betragen für *H. perforatum*-Samen 1252,07 mg/kg und 265,16 mg/kg für *H. tetrapterum*-Samen (Tab. 1). Das THX-1 : THX-2 –Verhältnis (*w/w*) war in den Samen beider *Hypericum*-Arten ähnlich und betrug 1 : 1,46 für *H. perforatum* und 1 : 1,49 für *H. tetrapterum*.

Tab. 1 Tetrahydroxyxanthon-Konzentrationen in getrockneten Samen von *H. perforatum* und *H. tetrapterum* (gemessen mittels HPLC(DAD), mit externer Kalibrierung über THX-3 als Referenz, *n* = 3).

Tab. 1 Concentrations of the tetrahydroxyxanthenes in dried seeds of *H. perforatum* and *H. tetrapterum* (analyzed by HPLC(DAD) based on external calibration with THX-3 as reference compound, *n* = 3).

Xanthon	<i>H. perforatum</i>	<i>H. tetrapterum</i>
	Gehalt [mg/kg] (Mittelwert; Standardabweichung)	
THX-1	478,41 (± 36,13)	93,49 (± 13,08)
THX-2	700,47 (± 19,02)	139,72 (± 20,90)
THX-3	73,19 (± 2,51)	31,94 (± 0,56)
Gesamt	1252,07	265,16

Die Umsetzung der reinen THX mit dem künstlichen stabilen Radikal DPPH (s. Abb. 1B) zeigte für THX-1 und THX-2 eine IC_{50} von 7,15 μ M und 7,05 μ M, bzw. für THX-3 11,19 μ M. THX-1 und -2 waren in ihrer Radikalfängerwirkung somit ca. 3x stärker als das wasserlösliche Vitamin E-Derivat Trolox®, mit einer IC_{50} von 23,22 μ M, was die starke Radikalfänger- bzw. Antioxidanswirkung der Titelverbindungen beweist. Interessant ist, dass auch die DPPH-Aktivität methanolischer *Hypericum*-Samenextrakte mit den per HPLC bestimmten THX-Gesamt-Konzentrationen (s. Tab. 1) korreliert (IC_{50} für *H. perforatum*: 8,7 mg/l und *H. tetrapterum*: 31,9 mg/l), n. Heinrich et al. 2017. Ähnlich den Tocopherolen, die auf zahlreiche Pflanzenöle antioxidativ wirken, könnten die THX *in vivo* eine Schutzwirkung auf die Samenlipide ausüben, was weitere Untersuchungen zeigen sollen.

Durch rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen konnten zusätzlich Informationen zum Aufbau der *Hypericum*-Samen gewonnen werden. Die Dimensionen von *H. perforatum*-Samen betragen ca. 1 mm x 0,5 mm, während *H. tetrapterum*-Samen kleiner sind (0,6 x 0,3 mm). Beide Samen sind länglich und an beiden Enden abgerundet. Außerdem sind eine Raphe (seitliche Naht) und ein Hilum (Samennabel) erkennbar (s. Abb. 2). Die Übersichtsaufnahme eines Samens von *H. perforatum* zeigt die typische netzartige Struktur der äußeren Epidermis, durch die teilweise Abdrücke der darunter liegenden Sklerenchymschicht erkennbar sind (Abb. 2, linkes Bild). In Querbrüchen der Samen (Abb. 2, rechtes Bild) ist die zweilagige Struktur der Testa (Samenschale) zu sehen, die aus der dünnen Epidermis (Ep) und einer dickwandigen Sklerenchymschicht (Sc) mit verstärkten antiklinen Wänden besteht. Aus lichtmikroskopischen Untersuchungen war bekannt, dass das Sklerenchym stark lignifiziert ist und es ist zu vermuten, dass auch weitere phenolische Substanzen, wie die Xanthone (THX) hier lokalisiert sind. Die genaue biologische Funktion der THX in den Samen ist bisher nicht bekannt. Allerdings kann eine Phytoalexin-Wirkung auf mikrobielle oder tierische Pflanzenpathogene vermutet werden – die nachgewiesene Antioxidans-Wirkung liefert hierfür einen Hinweis.

Der Samenertrag von *Hypericum* ist aufgrund der geringen Samengröße minimal, so dass eine pharmazeutische Nutzung ökonomisch eine Herausforderung darstellen dürfte, ein Aspekt der weitergehender Untersuchungen bedarf.

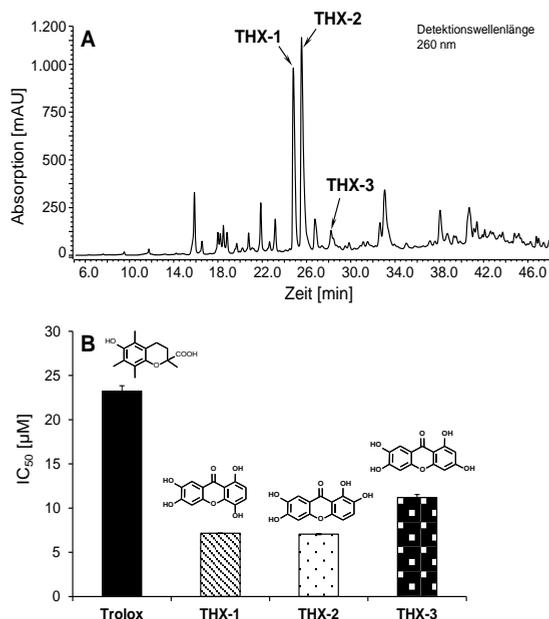


Abb. 1 A) HPLC-Chromatogramm eines Methanol-Extraktes der Samen von *H. perforatum* (Detektionswellenlänge: 260 nm); B) Mittlere inhibitorische Konzentrationen (IC₅₀) der synthetisierten Tetrahydroxyxanthone (THX-1 bis THX-3) im DPPH-Assay (n = 3) im Vergleich zum wasserlöslichen Vitamin E-Derivat Trolox®.

Fig. 1 A) HPLC chromatogram of a methanol extract from *H. perforatum* seeds (detection wavelength 260 nm). B) Middle inhibitory concentrations (IC₅₀) of the synthesized tetrahydroxyxanthenes (THX-1 to THX-3) in the DPPH antioxidant assay (n = 3) in comparison to the water soluble vitamin E derivative Trolox®.

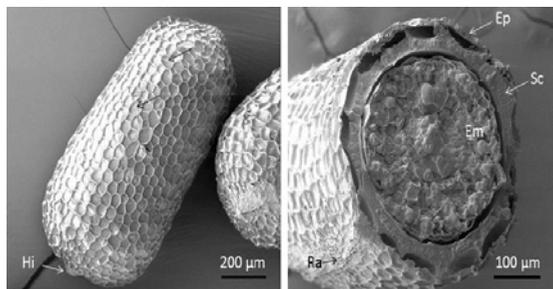


Abb. 2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (SEM) von trockenen *H. perforatum*-Samen. Linkes Bild: Gesamtansicht eines Samens mit dem typischen hexagonalen Netzmuster der äußeren dünnen Epidermis und Abdrücken der darunter liegenden Testaschicht (Sklerenchym, siehe schwarze Pfeile); Hi = Hilum. Rechtes Bild: Samenquerbruch. Erkennbar ist die zweilagige Struktur der Testa (Samenschale) mit äußerer Epidermis (Ep) und lignifizierter Sklerenchymschicht (Sc) sowie dem innenliegenden Embryo (Em), Ra = Raphe.

Fig. 2 Scanning electron micrographs (SEM) of dry seeds of *H. perforatum*. Left picture: Total view of a seed exhibiting the typical hexagonal grid pattern of the epidermal layer with imprints of the secondary layer of the testa (sclerenchyma), see black arrows; Hi = hilum. Right picture: cross fraction of a seed showing the two-layered testa with a thin external epidermal layer (Ep), the lignified sclerenchyma cells (Sc) and the inner embryo (Em); Ra = raphe.

Literatur

- BARNES, J., ANDERSON, L.A., PHILLIPSON, J.D., 2001. St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **53**, 583-600.
- DEMIRKIRAN, O., 2007. Xanthones in *Hypericum*: Synthesis and biological activities. *Topics in Heterocyclic Chemistry*, **9**, 139-178.
- HEINRICH, M., LORENZ, P., DANIELS, R., STINTZING, F.C., KAMMERER, D.R., 2017. Lipid and phenolic constituents from seeds of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum tetrapterum* FR. and their antioxidant activity. *Chemistry and Biodiversity*, **14**, doi: 10.1002/cbdv.201700100.
- LORENZ, P., HELLER, A., BUNSE, M., HEINRICH, M., BERGER, M., CONRAD, J., STINTZING, F.C., KAMMERER, D.R., 2018. Structure elucidation of the main tetrahydroxyxanthones of *Hypericum* seeds and investigation into the testa structure. *Chemistry and Biodiversity*, **15**, doi: 10.1002/cbdv.201800035.
- SZKUDLARZ, P., 2014. Seed morphology and anatomy of *Hypericum elegans* Steph. ex Willd. *Biodiversity Research Conservation*, **35**, 15 – 18.

Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

DSL 15 Untersuchung von ätherischem Öl aus Sommerbohlenkraut zentraleuropäischem und armenischem Ursprungs



Investigation of the essential oil quantity and quality of summer savoury and germander of Italian and Armenian origin

Jacqueline Ungar*, **Roman Hovsepyan****, **Nelly Gasparyan*****, **Christian Stollberg***

*-Hochschule Wismar, Verfahrenstechnik Biogener Rohstoffe, Inselstraße 12, 23999 Malchow / Insel Poel, Deutschland

**-Institute of Archaeology and Ethnography, 15 Charents Str., 0025, Yerevan, Republic of Armenia

***-Republican Union of Employers of Armenia, 26a Movses Khorenatsi street, 0010, Yerevan, Republic of Armenia

Jacqueline Ungar, Bürgermeister-Haupt-Straße 29, 23966 Wismar, jacqueline.ungar@googlemail.com

DOI 10.5073/jka.2018.460.015

Zusammenfassung

Im Rahmen einer deutsch-armenischen Forschungskooperation auf den Gebieten der Ethnobotanik und chemischen Analyse von Medizinalpflanzen erfolgte in einem ersten Schritt die Analyse von Sommerbohlenkraut (*Satureja hortensis*) und Gamander (*Teucrium polium* L.). Ausgangspunkt bildeten dabei die Kenntnisse der armenischen Bevölkerung in der Region Tatev zum traditionellen Einsatz lokaler Heilkräuter. Darauf aufbauend wurde getrocknetes Pflanzenmaterial der Spezies auf ätherischen Öl Gehalt und verdampfbare Inhaltsstoffe untersucht. Weiterhin folgte ein Vergleich zwischen armenischem und italienischem Sommerbohlenkraut. Die Arbeiten ordnen sich in ein Vorhaben zur Gegenüberstellung traditioneller Anwendungsmöglichkeiten in verschiedener Regionen unter Einbeziehung des jeweiligen Inhaltsstoffspektrums ein.

Sommerbohlenkraut und Gamander wurden Destillationszeiten zwischen 0,5 und 3 Stunden in halbstündlichen Abstufungen ausgesetzt. Mittels 4 verschiedener externer Standards wurden die entsprechenden Anteile dieser als Referenzen festgelegten Substanzen im ätherischen Öl bestimmt. Als Analysemethode wurde die GC-MS verwendet. Hauptinhaltsstoffe des Sommerbohlenkrautes italienischer und armenischer Herkunft waren Carvacrol (41-49%), γ -Terpinen (30-38%), α -Terpinen (4.7-5.6%), p-Cymen (3-5%) und β -Myrcen (2.5-2.6%). Die Hauptinhaltsstoffe von armenischem Gamander waren β -Pinen (25-28%), Thymol (6.1-7.4%), Germacren D (4.2-5.9%), D-Limonen (3.8-5.8%), β -Farnesen (4.7-5.2%), α -Pinen (3.2-5.0%), α -Thujen (4.0-4.8%), β -Myrcen (4.1-4.5%), Terpinen-4-ol (3.4-4.1%), γ -Terpinen (3.7-4.0%), Caryophyllen (2.9-3.3%) und Carvon (1.1-1.3%).

Insgesamt wurde eine Entfärbung des ätherischen Öls von Sommerbohlenkraut über die Lagerzeit festgestellt. Die Menge an ätherischem Öl nahm mit steigender Destillationszeit bis zu einem Maximum ab 1,5 Stunden zu. Dabei wurde eine Verringerung des Gehaltes an p-Cymen beobachtet. Bei einer Lagerzeit von 3 Monaten konnte keine Veränderung der Inhaltsstoffe beim Sommerbohlenkraut italienischer Herkunft festgestellt werden.

Stichwörter: *Satureja hortensis*, *Teucrium polium* L., ätherisches Öl, GC-MS

Abstract

In the context of a German-Armenian research cooperation in the fields of ethnobotanic and chemical analysis of medicinal plants, a first step in the analyzation of summer savoury (*Satureja hortensis*) and germander (*Teucrium polium* L.) had been conducted. The knowledge of the Armenian population in Tatev about any traditional usage of local salutary herbs generated an initial point. Based on this knowledge, dried material of those kinds were investigated regarding the essential oil quantity and quality. Furthermore, a comparison between summer savoury of Armenian and Italian origin followed.

Throughout the investigation, the distillation time was diversified (0.5h to 3.0h) and calibrated with 4 different external standards for summer savoury. With the help of 4 different external standards, their amounts in the essential oil were determined. As an analytical device GC-MS was used. The mean components of Italian and Armenian summer savoury were Carvacrol (41-49%), γ -Terpinene (30-38%), α -Terpinene (4.7-5.6%), p-Cymene (3-5%) and β -Myrcene (2.5-2.6%). The mean components of Armenian germander were β -Pinene (25-28%), Thymol (6.1-7.4%), Germacrene D (4.2-5.9%), D-Limonene (3.8-5.8%), β -Farnesen (4.7-5.2%), α -Pinene (3.2-5.0%), α -Thujene (4.0-4.8%), β -Myrcene (4.1-4.5%), Terpinen-4-ol (3.4-4.1%), γ -Terpinene (3.7-4.0%), Caryophyllene (2.9-3.3%) and Carvone (1.1-1.3%).

Furthermore, a decolouration of summer savoury's essential oil was noticed over a brief period of storage. The amount of essential oil increased with distillation time up to its limit reached first at 1,5h. At the same time, a decrease of p-Cymene was noticed. No decline of components was observed during a storage time of 3 months for summer savoury's essential oil of Italian origin.

Key words: *Satureja hortensis*, *Teucrium polium* L, essential oil composition, GS-MS

Einleitung

Das Sommerbohlenkraut zählt zu den Lippenblütlergewächsen (Lamiceae), beziehungsweise zur Unterfamilie der Nepetoide. Es ist daher artverwandt mit weiteren mediterranen Kräutern wie Thymian und Rosmarin. Die einjährige Pflanze unterscheidet sich von dem Winterbohlenkraut durch einen süßeren Geschmack und einer geringeren Größe. In ihrer Blütezeit zwischen Juli und August entwickelt das Sommerbohlenkraut weiße bis pinkfarbene Blüten. Zu einem Anteil von 0,3 – 1,7% enthält es ein ätherisches Öl, welches mittels Wasser- oder Wasserdampfdestillation gewonnen werden kann (Purle, 2017).

In der Türkei ist das Sommerbohlenkraut als "yaz zakeri, corba kekigi" bekannt und wird oft für kulinarische (beispielsweise als Kräutertee oder aromatischer Zusatz) und für medizinische Zwecke (beispielsweise in der Volksmedizin um Asthma, Koliken, Bronchitis and Husten zu behandeln (Gulsum Yadiz, July 2017) verwendet. Zudem wird das Sommerbohlenkraut für Bauch- und Darmbeschwerden in der Volksmedizin genutzt (Hajhashemi, Sadraei, Ghannadi, & Mohseni, 2000).

Der Gamander gehört der Familie der Lamiceae an. Es existieren über 340 Gamanderarten weltweit. Hauptsächlich ist er im Süd-West-Asian, Europa und Nordafrika vertreten. 12 von den 340 Arten wachsen davon im Iran (Mahmoudi R. a., 2013). Der Gamander wird für medizinische Zwecke verwendet. Gängige Behandlungen mit Gamander sind gegen Magen-Darm-Beschwerden, Diabetes und Rheuma. Als traditionelle iranische Medizin (TIM) wird es für Typ 2 Diabetes, Erkältung und Verdauungsbeschwerden eingesetzt (Bahramikia S1, Yazdanparast R., Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran, 2012).

Seine Blüte ist weiß-pink und besitzt grüne Blätter, die oft zum Kochen verwendet werden. Oft wird es von Kräuterkennern gesammelt und auf regionalen Märkten vertrieben. Die oberirdischen Teile des *Teucrium polium* L., oder auch "mayramakhot", wie es in Armenien genannt wird, werden mit Wasseraufguss behandelt und gelten als entzündungshemmend (Hovsepyan, Stepanyan-Gandilyan, & Stollberg, 2017).

Material und Methoden

Die folgenden Materialien wurden eingesetzt:

Rundlauf-Apparatur (Clevenger-Typ)

GC-MS 2010 von Shimadzu

Analysenwaage

15g Sommerbohlenkraut / 100g Gamander pro Versuch

Lösemittel: Wasser, Heptan

Reinigung: Ethanol

Trocknungsmittel: Natriumsulfat

Das Sommerbohnenkraut und der Gamander wurden jeweils als Wildwuchs im Früh-Sommer 2017 und 2018 in Armenien geerntet, während von der italienischen Vergleichsprobe lediglich das Ursprungsland bekannt ist. Die Trockendrogen wurden zu entweder 15g oder 100g mittels Wasserdunstillation verarbeitet. Dabei variierte die Destillationszeit beim italienischen Sommerbohnenkraut zwischen 0,5 und 3,0 Stunden in halbstündlichen Abstufungen, während für beide armenische Kräuter sich auf eine 3,0 Stundendestillation beschränkt wurde. Für jede Destillationszeit erfolgte eine dreifache Destillation. Die gewonnenen ätherischen Öle wurden aufgefangen, mit Natriumsulfat getrocknet und mit Heptan versetzt. Anschließend wurden die ätherischen Öle mittels der GC-MS jeweils doppelt vermessen.

Die Injektionstemperatur der GC-MS (Shimadzu GC-2010) belief sich auf 230°C, während die Säulentemperatur zwischen 65°C und 250°C lag. Das Aufteilungsverhältnis (split ratio) betrug 50. Die Säule besaß die Maße 30m*0.025mm mit 0.25µm Filmdicke. Als Trägergas wurde Helium mit einem Volumenstrom von 1mL/min eingesetzt.

Ergebnisse

Ätherisch-Öl Ausbeuten: Mengen und Farben

Die Menge an ätherischem Öl nahm mit steigender Destillationszeit zu, bis das Maximum mit 0,68mL ab 1,5 Stunden Destillationszeit erreicht wurde. Das Sommerbohnenkraut aus Armenien lieferte eine Menge von 0,37mL.

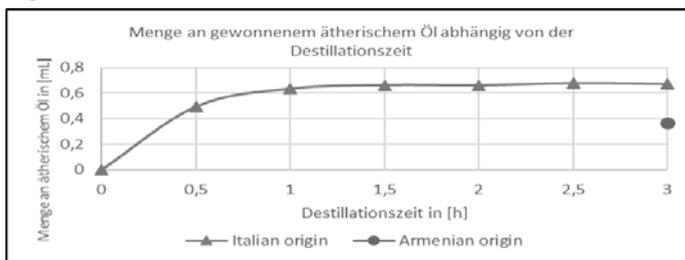


Abb. 1: Menge an gewonnenem ätherischem Öl des Sommerbohnenkrautes abhängig von der Destillationszeit

Fig. 1: Amount of gained essential oil of summer savoury depending on the time of distillation

Die im zweiten Durchgang destillierten Öle wiesen eine insgesamt dunklere Farbe auf, während sich die im ersten Schritt gewonnenen Öle über die Lagerzeit entfärbten. Zur Untersuchung der Einflussfaktoren wurden die ätherischen Öle nach erneuter Destillation direkt mit Stickstoff überschichtet und zusätzlich durch Aluminiumfolie lichtgeschützt im Kühlschrank bei 4°C gelagert. Dennoch wurde eine Entfärbung festgestellt.

Für das Sommerbohnenkraut ergab sich eine Ausbeute von 4,3%. Die Versuche mit armenischem Gamander (Erntezeitpunkte Sommer 2017 und 2018) erreichten ätherisch-Öl Mengen von 0,15mL pro 100g eingesetztem getrocknetem Material. Dies entspricht einer Ausbeute von 0,14%. Das Gamander-Material der Firma HERB™ jedoch wies kein ätherisches Öl auf. Mögliche Einflussfaktoren sind das Stadium der Pflanze bei seiner Ernte, anschließende Trocknungs- und Rebeverfahren.

Inhaltsstoffe der ätherischen Öle des Sommerbohnenkrautes

Aus den Gehalten der einzelnen Inhaltsstoffe der ätherischen Öle des italienischen und armenischen Sommerbohnenkrautes wurden die Mittelwerte für die Destillationszeit von 3 Stunden gebildet.

Tab. 1 Ergebnisse der GC-MS Analyse der italienischen und armenischen Kräuter**Tab. 1** Results of the GC-MS analysis of Italian and Armenian herbal material

Name	R.Time	Armenien Area%	Italien Area%
α -Thujen	10.664	1,84	1,49
α -Pinen	10.950	1,65	1,38
Camphen	11.821	0,11	0,1
β -Pinen	13.101	0,89	0,58
β -Myrcen	13.660	2,53	2,51
α -Phellandren	14.375	0,52	0,5
α -Terpinen	15.013	5,54	4,75
D-Limonen	15.462	0,41	0,4
β -Phellandren	15.886	0,23	0,23
p-Cymen	16.210	2,94	5,24
Eucalyptol	16.380	0,06	0,07
β -Ocimen	16.617	0,10	0,09
γ -Terpinen	17.075	38,19	30,65
α -Terpinolen	18.540	tr.	0,08
2-Cyclohexen-1-ol	20.657	0,11	0,18
2-Cyclohexen-1-ol	22.877	0,12	0,15
Terpinen-4-ol	26.328	0,17	0,28
Borneol	27.299	0,06	0,09
α -Terpineol	27.960	nd	tr.
Caryophyllen	36.869	0,73	0,98
Thymol	37.121	0,81	0,15
Allo-Aromadendren	37.437	0,07	n.d.
Carvacrol	37.871	41,69	49,3
β -Farnesen	38.055	0,27	tr.
Varidifloren	40.069	0,08	nd
Germacren D	40.345	0,07	nd
β -Bisabolen	40.579	0,66	0,73
Germacren B	41.091	0,18	nd
Spathuleneol	47.986	tr.	nd
Naphtalen	60.493	nd	tr.
Summe		99,99	99,92

tr. <0,05; nd, Komponente nicht detektiert

Die direkte Gegenüberstellung ergab eine starke Abweichung bei Inhaltsstoffen hoher Konzentration. Dabei weist der armenische Vertreter deutlich höhere Werte für α -Thujen, α -Pinen, α -Terpinen and γ -Terpinen auf. Camphen, β -Myrcen, α -Phellandren, D-Limonen, Eucalyptol, β -Ocimen, α -Terpinolen, 2-Cyclohexen-1-ol, Borneol and β -Bisabolen zeigen bei insgesamt geringerer Konzentration auch kleinere Differenzen auf. Germacren D und Spathuleneol wurden in lediglich einem ätherischen Öl armenischer Herkunft nachgewiesen.

Inhaltsstoffe der ätherischen Öle des Gamanders

Armenischer Gamander, gesammelt im Früh-Sommer (Mai-Juni) 2017 und 2018 wurde 2mal, beziehungsweise 3mal mittels Clevenger-Apparatur destilliert. Weitere Versuche wurden mit Gamander der Firma HERB™ durchgeführt.

50 verschiedene Komponenten wurden mit Hilfe der GC-MS identifiziert. Aufgrund von kleinen Anteilen und ungenauen Bestimmungen durch die Bibliothek der GC-MS wurden diese auf die 28 Hauptkomponenten reduziert, die in der Tabelle 2 aufgeführt sind.

Tab. 2 Ergebnisse der GC-MS Analyse des armenischen Gamanders 2017 und 2018**Tab. 2** Results of the GC-MS analysis of Armenian germander of 2017 and 2018

	R.Time	Armenien Area% 2017	Armenien Area% 2018
α -Thujen	10,631	4,06	4,79
α -Pinen	10,922	5,07	3,19
β -Pinen	13,078	25,85	28,39
β -Myrcen	13,615	4,55	4,18
α -Terpinen	14,969	1,64	1,87
D-Limonen	15,418	5,79	3,85
p-Cymen	16,333	2,10	1,86
Eucalyptol	16,972	0,86	1,58
β -Ocimen	18,462	0,10	0,09
γ -Terpinen	22,179	3,72	4,09
α -Terpinolen	26,255	0,54	0,60
Linalool	27,556	0,39	0,36
Terpinen-4-ol	29,760	3,42	4,26
Carvon	32,156	1,31	3,20
Copaen	33,892	1,92	1,51
Caryophyllen	36,238	2,90	3,23
Thymol	36,951	7,46	6,09
Carvacrol	37,564	2,24	1,30
β -Farnesen	37,727	4,74	5,10
α -Caryophyllen	38,553	0,27	0,28
Germacren D	39,186	5,93	4,89
β -Bisabolen	39,985	0,48	1,39
o-Menth-8-en	40,923	1,67	2,19
δ -Cardinen	41,448	1,09	0,76
Spathuleneol	44,046	0,66	0,99
Caryophyllen-oxid	45,995	0,75	1,05
α -Cadinol	47,918	0,19	0,37
β -Eudesmol	48,946	0,65	nd
Summe		92,19	93,85

nd, Komponente nicht detektiert

Die Komponenten höchster Konzentration waren dabei β -Pinen (25-28%), Thymol (6.1-7.4%), Germacren D (4.2-5.9%), D-Limonen (3.8-5.8%), β -Farnesen (4.7-5.2%), α -Pinen (3.2-5.0%), α -Thujen (4.0-4.8%), β -Myrcen (4.1-4.5%), Terpinen-4-ol (3.4-4.1%), γ -Terpinen (3.7-4.0%), Caryophyllen (2.9-3.3%) und Carvon (1.1-1.3%). Unterschiede zwischen dem Gamander Material von 2017 und 2018 konnten im Gehalt von Carvon, β -Eudesmol, Eucalyptol, Thymol, D-Limonen und β -Pinen aufgezeigt werden. Dabei handelte es sich um Proben aus der gleichen Region, die jedoch von unterschiedlichen Parteien geerntet wurden. Als mögliche Fehlerquellen kommen Wägefehler, Dosierfehler bei der Vorbereitung der ätherischen Öle für die GC-MS, Analysenfehler durch die GC-MS (hier werden die größten Fehlerquadrate kalibrierter Inhaltsstoffe berücksichtigt), aber auch Einflussfaktoren wie Sonneneinstrahlung, Nährstoffkonzentrationen des Bodens, Wachstumsstadium der Pflanze, damit verbundener Erntezeitpunkt und Trocknungsverfahren in Frage.

Weitere Erkenntnisse

Zur Untersuchung der Lagerzeit als Einflussfaktor auf die Qualität der ätherischen Öle des Sommerbohnenkrautes italienischer Herkunft wurde ein destilliertes ätherisches Öl über einen Gesamtzeitraum von 3 Monaten alle 2-3 Wochen mittels der GC-MC auf seine Inhaltsstoffe analysiert. Trotz der erwähnten Entfärbung konnten keine Veränderungen über die Lagerzeit festgestellt werden.

Ebenfalls wurde die Destillationszeit als Einflussfaktor untersucht. Für die Destillationszeiten von 0,5h bis 3h (Abstufungen 0,5h, 1h, 1,5h, 2h, 2,5h und 3h) wurden jeweils dreifach-Destillationen des Sommerbohnenkrautes italienischer Herkunft vorgenommen und durch GC-MS bei gleichbleibender Methodik untersucht. Für die Inhaltsstoffe Carvacrol, γ -Terpinen, p-Cymen, Terpinen-4-ol und α -Thujen konnte ein leichter Anstieg bei einer Destillationszeit von 1,5h nachgewiesen werden. Der Gehalt von p-Cymen lag bei einer Destillationszeit von 0,5h am höchsten und sank bereits nach der ersten Erhöhung der Destillationszeit stark ab. Durch die Kreislaufführung des Destillationswassers weist dies auf eine zeitabhängige Veränderung der Hydrolatzusammensetzung hin und auf unterschiedliche Flüchtigkeiten der Einzelkomponenten hin.

Mittels externer Standards von Carvacrol, γ -Terpinen, p-Cymen und β -Myrcen wurden die Mengen dieser Inhaltsstoffe im ätherischem Öl des Sommerbohnenkrautes ermittelt. In 15g getrocknetem Sommerbohnenkraut italienischer Herkunft, wurden 0.0007916 μ L bis 0.006497 μ L (durchschnittlich 0.0006960 μ L) an p-Cymen, für Carvacrol 0.0183 μ L bis 0.0193 μ L (durchschnittlich 0.0189 μ L), für γ -Terpinen 0.0109 μ L bis 0.0121 μ L (durchschnittlich 0.0116 μ L) und für β -Myrcen von 0,0004334 μ L bis 0,0005416 μ L (durchschnittlich 0,0004869 μ L) festgestellt.

Literaturverzeichnis

- Bahramikia S1, Yazdanparast R., Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran. (2012, November). www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22344867. Retrieved Februar 1, 2018, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22344867>
- Ewalt, K. (n.d.). *online-shop.eppendorf*. Retrieved June 22, 2018
- Gulsum Yadiz, M. C. (July 2017). Antioxidant Activities of *Satureja hortensis* L. Essential Oil during the Flowering Period.
- Hajhashemi, V., Sadraei, H., Ghannadi, A., & Mohseni, S. (2000). *Antispasmodic and antidiarrhoeal effect of Satureja hortensis L. essential oil*. *Journal of Ethnopharmacology* 71, 187–192.
- Hovsepyan, R., Stepanyan-Gandilyan, N., & Stollberg, C. (2017). *Ethnomedicinal knowledge and exploitation of medicinal plants resources by local population in Tatev and surrounding villages (Syunik, Armenia)*.
- Lamnauer, D. (n.d.). *A Guide to Medicinal Plants in North Africa*. Retrieved Februar 1, 2018
- Mahmoudi, R. a. (2013). *International food research journal*. Retrieved Februar 1, 2018, from [http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20\(04\)%202013/27%20IFRJ%2020%20\(04\)%202013%20Mahmoudi%20\(266\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20(04)%202013/27%20IFRJ%2020%20(04)%202013%20Mahmoudi%20(266).pdf).
- Mahmoudi, R. a. (2013, Januar 4). *Teucrium polium* L. essential oil: phytochemical component and antioxidant properties. *International Food Research Journal*.
- Purle, T. (2017, Juli 22). *Kraeuter-buch.de*. Retrieved from <http://www.kraeuter-buch.de/kraeuter/Bohnenkraut.html>

Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

DSL 16 Horizontaler Naturstoff-Transfer: Neue Erkenntnisse über potentielle Kontaminationspfade in Kräuter und Gewürze



Dirk Selmar

Institut für Pflanzenbiologie, TU Braunschweig

DOI 10.5073/jka.2018.460.016

In den letzten Jahren wurde deutlich, dass eine große Zahl an Arznei- und Gewürzpflanzen Nikotin und Pyrrolizidinalkaloide (PA) enthält. Zunächst wurde vermutet, dass das Auftreten von Nikotin auf die illegale Verwendung nikotinhaltiger Insektizide zurückzuführen ist, und dass die PA-Kontaminationen ausschließlich durch PA-haltige Beikräuter verursacht werden. Inzwischen muss allerdings davon ausgegangen werden, dass die Situation wesentlich komplexer und vielschichtiger ist. Der Befund, dass Nikotin aus durch Zigarettenkippen kontaminierten Böden aufgenommen wird (1; 2), hat zwangsläufig zu analogen Studien bezüglich der Aufnahme von PAs aus dem Boden geführt.

Unsere aktuellen Untersuchungen haben zweifelsfrei belegt, dass auch PAs, die z.B. aus verrottendem Pflanzenmaterial in den Boden ausgewaschen wurden, von Akzeptorpflanzen aufgenommen und in deren Blätter verlagert werden (3). Damit ist – neben der Ernte PA-haltiger Beikräuter – ein weiterer potentieller Kontaminationspfad für PAs vorhanden. Darüber hinaus konnten wir mit unseren Studien an Co-Kulturen nachweisen werden, dass PAs auch aus vitalen PA-haltigen Donor-Pflanzen in andere Pflanzen verlagert werden (4).

Neben Alkaloiden werden auch viele andere Naturstoffe, wie Coumarine oder Stilbene von Akzeptorpflanzen aufgenommen. Ein weiterer Aspekt dieser Thematik betrifft die Tatsache, dass die importierten Naturstoffe in den Akzeptorpflanzen umgebaut werden. Es konnten bislang Hydroxylierungen, Methylierungen und Glucosylierungen nachgewiesen werden.

Diese überraschenden Befunde haben zur Formulierung des sogenannten Horizontaler Naturstoff-Transfers geführt (5). Im Vortrag werden die Grundlagen und die praktische Auswirkungen dieses neu entdeckten Phänomens präsentiert. In diesem Zusammenhang sind neben der Kontaminationsproblematik vor allem die bislang weitgehend unverstandenen positiven Auswirkungen von Co-Kulturen und Fruchtfolgen zu nennen.

Key words: Horizontaler Naturstoff-Transfer; Alkaloide; Kontaminationen

Literatur

- (1) Selmar, D., Engelhardt, U.H., Hänsel, S., Thräne, C., Nowak, M., Kleinwächter, M. (2015) Nicotine uptake by peppermint plants as a possible source of nicotine in plant-derived products. *Agronomy for Sustainable Development* **35**: 1185-1190
- (2) Selmar, D., Radwan, A., Abdalla, N., Taha, H., Wittke, C., El-Henawy, Alshaal, T., Amer, M., Nowak, M., El-Ramady, H. (2017) Uptake of Nicotine from Discarded Cigarette Butts *Environmental Pollution* **238**: 972-976
- (3) Nowak, M.; Wittke, C., Lederer, I., Klier, B., Kleinwächter, M., Selmar, D. (2016) Interspecific transfer of pyrrolizidine alkaloids: An unconsidered source of contaminations of phytopharmaceuticals and plant derived commodities. *Food Chemistry* **213**: 163–168
- (4) Selmar, D., Wittke, C., Beck-von Wolfersdorff, I., Klier, B., Kleinwächter, M., Nowak, M. (2018) Exchange of natural products between living plants: Interspecies transfer of pyrrolizidine alkaloids. *submitted to Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- (5) Nowak, M., Yahyazadeh, M., Lewerenz, L., Selmar, D. (2017) Horizontal Natural Product Transfer: A so far unconsidered source of contamination of medicinal. *In: Environmental Challenges and Medicinal Plants*. Eds: Ghorbanpour, M., Varma, A. Springer International Publishing, pp. 215-226

Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

EPL 17 Intraspezifische Variabilität und Drogenqualität des Wermuts (*Artemisia absinthium* L.)



Intraspecific chemical variability and drug quality of wormwood (Artemisia absinthium L.)

T. Huong-Nguyen^a, J. A. Llorens-Molina^b, É. Zámoriné-Németh^{a*}

^aLehrstuhl Arznei- und Gewürzpflanzen, Szent István Universität, Villányi Str. 29-35, 1118 Budapest, Ungarn

^bMediterranean Agroforestry Institute, Universitat Politècnica de València, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera, s/n, 46022 Valencia, Spanien

E-mail: Zaborine.Nemeth.Eva@kertk.szie.hu

DOI: 10.5073/jka.2018.460.017

Zusammenfassung

Einhundert zwanzig Einzelpflanzen aus zwölf Herkünften von *Artemisia absinthium* waren unter den gleichen Umständen angebaut um ihre Drogenqualität zu bestimmen. Der ätherische Ölgehalt wurde durch Wasserdestillation und seine Zusammensetzung durch die GC-MS Methode bestimmt. Der Ätherischöl Gehalt variierte stark mit signifikanten Unterschieden zwischen Herkünften. Der grösste Ölgehalt wurde von den spanischen Herkunft produziert (3.215ml/100g), die Herkünften "Norwegen", "German 2" und "Belgien" gaben mittlere Werte (1.569-2.089 ml/100g) und acht Materiale zeigten Ölgehalte unter 1% (0.349-0.832 ml/100g). Die Hauptkomponente der Öle waren α -Thujone (0%-51.7%), β -Thujone (0%-89.8%), *cis*-Epoxyocimen (0%-75.7%), *trans*-Sabinyl Acetat (0%-94.5%), Sabinene (0%-33.8%), β -Myrcen (0%-68.4%), Linalool (0%-52.1%), *cis*-Chrysanthenol (0%-37.3%), (*Z*)-Iso-Citral (0%-49.2%), Selin-11-en-4- α -ol (0%-58%) und (*E*)-Nuciferol Isobutyrate (0%-33.2%). Aufgrund dieser Verbindungen, zehn charakteristische Chemotypen wurden beschrieben. Die meisten Herkünften waren heterogen betrachtend die Chemotypen. Keine Zusammenhang konnte zwischen den Chemotypen und der Origin der Samples bestimmt werden. Die Drogenqualität sowohl der Wildherkünften als auch der gekauften Marktmuster ist unsicher.

Stichwörter: Wermut, Chemotyp, Herkunft, ätherisches Öl, Thujon

Abstract

One hundred and twenty individuals from twelve accessions of *Artemisia absinthium* were grown under universal circumstances in order to evaluate the quality of the drug. The essential oil was obtained by hydrodistillation and analyzed by the GC-MS method. The essential oil yield was quite variable with significant differences among accessions. Highest yield was produced by "Spanish" accession (3.215ml/100g), "Norwegen", "German 2" and "Belgien" produced medium values (1.569-2.089 ml/100g) and eight accessions showed EO yields below 1% (0.349-0.832 ml/100g). Major components of the oils were α -thujone (0%-51.7%), β -thujone (0%-89.8%), *cis*-Epoxyocimene (0%-75.7%), *trans*-sabinyl acetate (0%-94.5%), sabinene (0%-33.8%), β -myrcene (0%-68.4%), linalool (0%-52.1%), *cis*-chrysanthenol (0%-37.3%), (*Z*)-iso-citral (0%-49.2%), selin-11-en-4- α -ol (0%-58%) and (*E*)-nuciferol isobutyrate (0%-33.2%). Based on these main compounds ten characteristic chemotypes were identified. The majority of the accessions were heterogenous concerning appearance of chemotypes. A connection between chemotype and habitat can not be justified in most cases. Drug quality of both natural populations and those purchased on market is variable.

Keywords: wormwood, chemotype, accession, essential oil, thujone

Einleitung

Artemisia absinthium (Wermut) ist eine aromatische Pflanze in der Familie Asteraceae. Die Pflanzenhöhe beträgt 40 - 150 cm, hat eine grosse Blattrosette und einen verholzenden, aufwärts wachsenden, verzweigenden Stängel der mit weissen Haaren bedeckt ist. Wermut ist für das Würzen von Getränke und für seine Heilwirkungen sowohl in der Volksheilkunde als auch in der

modernen Therapie verwendet. Die Hauptwirkstoffe sind die flüchtigen Komponente der Blätter und Blüten, die der Pflanze einen charakteristischen, starken Geruch verleihen. Die am besten bekannte Komponente des ätherischen Öles ist der Thujon (Juteau et al., 2003; Meschler and Howlett, 1999). Aufgrund der Bestandteile des Öles wurden mehrere Chemotype des Wermuts beschrieben wie z.B. Myrcen, Sabinen, Linalool, *cis*-Epoxyocimen, *cis*-Chrysanthenol, Chrysanthenyl Acetate, *trans*-Sabinyl Acetat usw. (Nguyen and Németh, 2016). Zur gleicher Zeit, die Herkunft und Bemusterung der Pflanzen ist in vielen Mitteilungen nicht ausführlich angegeben, deshalb die wahren Hintergründe der beschriebenen Variabilität sind unsicher. Wir haben mit diesem Versuch eine ausführliche Untersuchung von 12 Herkünften der *A. absinthium* begonnen. Einerseits wurden die Pflanzen auf dem gleichen Standort, unter gleichen Bedingungen angebaut damit die Umwelteinflüsse ausgeschlossen werden können. Andererseits wollten wir durch die individuelle Musternamen die wirkliche intraspezifische chemische Variabilität betreffend der Anhäufung der Ätherischöl-Komponente erkennen.

Material und Methoden

- **Plant material and cultivation**

Zwölf Herkünfte wurden in dieses Experiment einbezogen, unter denen Saatgut aus Genebanken, von der internationalen Market und aus Wildsammlung vorkommen (**Table 1**). Wir haben die völlig ausgewachsene Blätter der Rosette am Anfang August 2016 geerntet. Aus jeder Herkunft wurden zehn Einzelpflanzen zufälligerweise ausgewählt und geschnitten. Das Pflanzenmaterial wurde auf Raumtemperatur (20-25°C) im Schatten getrocknet

- **Abtrennung des ätherischen Öles**

Das ätherische Öl wurde durch Wasserdestillation erzeugt, wobei 50 g getrocknete Blätter wurden in 500 ml Wasser in einem Clevenger Gerät durch 2,5 Stunden destilliert.

- **Bestimmung der Zusammensetzung des Öles**

Die gaschromatographische- massenspektrometrische Untersuchungen wurden in einem Agilent Technologies 6890N Gerät mit einem HP-5MS Kapillarkolonnen (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm) und mit einem Agilent Technologies MS 5975 inert massenselektiv Detektor durchgeführt. Die Komponente über 1% des Gesamtareals wurden bestimmt. Dazu haben wir die linearen Retentionsindices gerechnet nach der Methode von Van Den Dool und Kratz (van Den Dool and Dec. Kratz, 1963) benutzt, ausserdem wurden die Massenspektren mit denen in der Massenbibliotheken NIST MS Search 2.0 und Adams (2007) verglichen.

Ergebnisse

- **Äthersicher Ölgehalt**

Der durchschnittlichen ätherischen Ölgehalt der untersuchten Herkünfte war 0.827 ml/100g der jedoch variierte auf einer breiten Skala von 0.347 ml/100g (Huw4) bis 3.215 ml/100g (Spa). Auf dem ANOVA Test basierend, waren die Unterschiede signifikant: $F_{(8,81)}=58.707$ ($p<0.001$), (**Tabelle 1**). Die Ergebnisse zeigen dass alle ungarischen Herkünfte, und dazu die Herkünfte "Eng", "Ger0" und "Ger1" sind statistisch ähnlich, mit Werten unter 1%. In Allgemeinen, diese Werte stimmen mit früheren Angaben überein (Orav et al., 2006) wo der ätherische Ölgehalt von verschiedenen europäischen Herkünften zwischen 0.1–1.1% lag und auch mit den Angaben von Basta et al. (2007) über griechischen wildwachsenden Pflanzen (0.31%).

- **Zusammensetzung des ätherischen Öles**

In den 120 Ätherischöl Mustern aus den Blättern des *Artemisia absinthium* L. konnten wir 69 Komponente (wenn wir die Komponente mit einem Arealgebiet über 1% des Gesamtarealgebietes in Betracht ziehen), unter dessen 30 Monoterpene und 39 Sequiterpene. Hauptkomponente (über 30% des GC Areal) dieser Öle waren die beiden Isomere von Thujon α -

Thujon (0%-51.7%) und β -Thujon (0%-89.8%), *cis*-Epoxy-Ocimen (0%-75.7%), *trans*-Sabinyl Acetat (0%-94.5%), Sabinene (0%-33.8%), β -Myrcen (0%-68.4%), Linalool (0%-52.1%), *cis*-Chrysanthenol (0%-37.3%), (*Z*) iso-Zitral (0%-49.2%), Selin-11-en-4- α -ol (0%-58%) und (*E*)-Nuciferol Isobutyrate (0%-33.2%). Aufgrund unserer Kentnisse, stellen die Pflanzen mit (*Z*)-iso-Zitral, Selin-11-en-4- α -ol, (*Z*)- und (*E*)-Nuciferol Isobutyrate neue Chemotypen dar, den diese sind bisher in der Literatur nicht erwähnt gewesen.

Eine gute Homogenität war in den Herkünften "Spa" (100% der Einzelpflanzen gehörten zum *cis*-Epoxyocimen Chemotyp), "Bel" (100% der untersuchten Individuen wiesen Thujon als Hauptkomponent auf) und "Ger2" (100% der Muster zeigten den *trans*-Sabinyl-Acetat Chemotyp) gefunden. Die meisten Herkünfte waren aber viel weniger einheitlich. In vier von den fünf ungarischen Herkünften waren die β -Myrcen Typen in 10-20% anwesend. Zu unsere Überraschung enthielt nur eine der ungarischen Wildherkünfte ("HuW4") Thujon Chemotyp Pflanzen, hier waren sie aber in 40% der Muster zu finden und auch die Konzentration von Thujon war hoch (68% - 90% des Öles). Die zwei Marktartikel "Eng" und "Ger0" haben keine besondere Chemotyp-verteilung gezeigt.

In dieser Arbeit kamen die Thujon-Typ Individuen also nur in den Herkünften aus Belgium und Norwegen in Mehrheit vor. Auch diese unterscheiden sich, in der ersten ist nämlich das Verhältnis zwischen der α - und β -Thujonen variierend, in der letzteren Herkunft kommen sie etwa im gleichen Verhältnis vor. Unsere Ergebnisse – zusammen mit früheren Angaben (z.B. Blagojević et al., 2006, Juteau et al., 2003, Nin et al. 1995) - weisen darauf hin, dass das Thujon Chemotyp in der nördlichen Hemisphäre weit verbreitet ist und beschränkt sich nicht auf bestimmten Regionen.

Cis-Epoxyocimene ist auch eine bekannte Komponent des ätherischen Öles von Wermut (Mucciarelli et al., 1995, Llorens-Molina et al., 2017). In unserem Experiment war das die charakteristische Hauptkomponent der spanischen Muster. Obwohl diese Komponent auch in manchen anderen Ölen detektiert war, die Häufigkeit und die Konzentration lag viel niedriger als in dem spanischen Material. Auch Literaturangaben unterstützen die Vermutung das *Cis*-Epoxyocimen in den südeuropäischen Bereichen weit verbreitet und meistens hier eine Hauptkomponent des Öles sei.

Sabinen und β -Myrcene sind häufige Komponente des Wermutöles (Nguyen and Németh, 2016). Die geschilderten Ergebnisse zeigen, dass auch diese Komponente nicht zu bestimmten Regionen gebunden sind sondern viel mehr als universale Bestandteile dieser Öle zu betrachten sind.

Durch unseren Angaben konnte das Vorhandensein der vielen Chemotypen des Wermuts bestätigt, eine gesicherte Zusammenhang zwischen den spezifischen Chemotypen und Standorte (Regionen) aber am meisten nicht gesichert werden. Die Angaben zeigen deutlich, dass sich die Drogenqualität eben unter einheitlichen Wachstumsbedingungen je Herkunft sogar in meisten Fällen auch innerhalb der Herkünfte verändert. Das kann keinesfalls eine entsprechende biologische Grundlage für standardisierten Produkte sichern.

Tab. 1: Die untersuchten Wermut Herkünfte und ihre ätherischen Ölgehalte (ml/100g TrM) in der getrockneten Blätter

Tab. 1 *The examined accessions of wormwood and their essential oil contents (ml/100g DM) in the dry leaves*

Herkunft	Origin der Population	Äth.Ölgehalt mg/100g Tr.M.
Bel	Gatersleben Genbank (gesammelt in Belgium)	1.892 b
Eng	Marktprodukt from England	0.673 a
Ger0	Marktprodukt from Deutschland	0.598 a
Ger1	Gatersleben Genbank (gesammelt in Leipzig – Deutschland)	0.831 a
Ger2	Gatersleben genbank (collected in Deutschland - Germany)	2.090 b
Hum	Market item from Hungary	0.361 a
HuW1	Wild collected in Csór, Hungary	0.520 a
HuW2	Wild collected in Pákozd, Hungary	0.553 a
HuW3	Wild collected in Soroksár, Hungary	0.349 a
HuW4	Wild collected in Oskü, Hungary	0.347 a
Nor	Gatersleben genbank (collected in Norway)	1.568 b
Spa	Wild collected in Teruel, Spain	3.215 c

Verschiedene Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Herkünften aufgrund des Games-Howell's post hoc Test bei $p=0.05$

Tab. 2 Verteilung der identifizierten Chemotypen in den untersuchten *Artemisia absinthium* Herkünften

Tab. 2 *Distribution of the identified chemotypes in the studied Artemisia absinthium accessions*

Chemotyp	Anteil in der Herkunft (%)											
	Bel	Eng	Ger0	Ger1	Ger2	Hu m	Hu W1	Hu W2	Hu W3	HuW4	Nor	Spa
Reine Chemotype (Hauptkomponente über 30% der total GC Areal)												
Thujon	100			30						40	20	
cis-Epoxy-Ocimen		20					10	30				100
trans-Sabinyl Acetat			10	10	100				10		40	
Sabinen		10										
β-Myrcen				20		20	10	10	30			
Linalool										10		
cis-Chrysanthenol						10						
Iso-Zitral (Z)		10		10								
Selin-11-en-4-α-ol								10				
(E)-Nuciferol-Isobutytrat			10									
Gemischte Chemotype (die Hauptkomponente zusammen über 30% der total GC Areal)												
Thujon + cis-epoxy-Ocimen											10	
Thujon + cis-epoxy-Ocimen + trans-Sabinyl Acetat											20	
Thujon + trans-Sabinyl Acetat											10	
Sabinen + β-Myrcen		20	30				40		10			
β-Myrcen + β-Caryophyllen				10		10	10	20				
β-Myrcen + (Z)-Nuciferol-Isobutytrat			10									
Linalool + β-Caryophyllen				10				10				
Linalool + (Z)-Nuciferol-Isobutytrat										30		
β-Caryophyllen + selin-11-en-4-α-ol						20		20				
selin-11-en-4-α-ol + Isocitral (Z)				10								
selin-11-en-4-α-ol + (Z)-Nuciferol-Isobutytrat						10			10			
Andere	0	40	40	10	0	30	30	0	40	20	0	0

Literatur

- Basta, A., O. Tzakou, M. Couladis, M. Pavlović, 2007. Chemical Composition of *Artemisia absinthium* L. from Greece. *J. Essent. Oil Res.* 19: 316–318.
- Blagojević, P., N. Radulović, R. Palić, G. Stojanović, (2006). Chemical Composition of the Essential Oils of Serbian Wild-Growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *J. Agr. Food Chem.*, 54(13): 4780–4789.
- Julio, L.F., J. Burillo, C. Giménez, R. Cabrera, C.E. Díaz, J. Sanz, A.González-Coloma, 2015. Chemical and biocidal characterization of two cultivated *Artemisia absinthium* populations with different domestication levels. *Ind. Crops Prod.* 76: 787–792.
- Juteau, F., I. Jerkovic, V. Masotti, M. Milos, J. Mastelic, J-M. Bessière, J. Viano, 2003. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France. *Planta Med.* 69: 158–161.
- Llorens-Molina, J. A., S. Vacas, V. Castell, É. Németh-Zámboriné, 2017. Variability of essential oil composition of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) affected by plant organ. *J. Essent. Oil Res.*, 29(1): 11–21.
- Mucciarelli, M., R. Caramiello, M. Maffei, F. Chialva, 1995. Essential oils from some *Artemisia* species growing spontaneously in North-West Italy. *Flavour Frag. J.*, 10(1): 25–32.
- Meschler, J.P., A.C.Howlett, 1999. Thujone exhibits low affinity for cannabinoid receptors but fails to evoke cannabimimetic responses. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 62: 473–480.
- Nguyen, H.T., É. Z. Németh, 2016. Sources of variability of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) essential oil. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants.* DOI:10.1016/j.jarmap.2016.07.005
- Nin, S., P. Arfaoli, M. Bosetto, 1995. Quantitative Determination of Some Essential Oil Components of Selected *Artemisia absinthium* Plants. *J. Essent. Oil Res.*, 7(3): 271–277.
- Orav, A., A. Raal, E. Arak, M. Muurisepp, T. Kailas, 2006. Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. of different geographical origin, in: *Proceedings-Estonian Academy of Sciences Chemistry. TRUEKITUD OU*, p. 155.
- Adams, R.P. 2007. *Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, 4th Edition, 4th edition. ed. Allured Pub Corp, Carol Stream, Ill.
- Van Den Dool, H., P. Dec. Kratz, 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A* 11: 463–471.

Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

ESL 18 Gewerbliche Wildsammlung von Arzneipflanzen in Deutschland

Commercial wild collection of medicinal plants in Germany



Anja zur Loye, Joanna Sucholas, Rainer Luick

Hochschule für Forstwirtschaft Rottenburg, Schadenweilerhof, 72108 Rottenburg am Neckar,
zurloye@hs-rottenburg.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.018

Zusammenfassung

Der deutsche Import von Arzneipflanzen steht in einem globalen Vergleich an vierter und der deutsche Export an dritter Stelle. Die dabei gehandelten Arzneipflanzen stammen aus dem Anbau oder werden durch gewerbliche Wildsammlung beschafft. Mit 500 Pflanzen- und Pilzarten spielt die deutsche Wildsammlung eine eher untergeordnete Rolle auf dem weltweiten Arzneipflanzenmarkt. Marktrelevante Mengen stammen hauptsächlich aus süd-ost europäischen Ländern, wie Albanien, Rumänien, Polen und Bulgarien und aus nicht europäischen Ländern, wie Indien und China. Trotz der untergeordneten Marktposition Deutschlands ist es wichtig gerade in einer Industrienationen mit einem hohen Flächenverbrauch zu evaluieren wie relevant die Wildsammlung im Sinne einer Ökosystemdienstleistung ist. Die gewerbliche Wildsammlung von Pflanzen ist in Deutschland durch das Bundesnaturschutzgesetz (§39 Abs. 4 BNatSchG) reguliert. Für jede Entnahme im gewerblichen Sinne ist eine offizielle Sammelgenehmigung nötig. Diese werden in der Regel von den Unteren Naturschutzbehörden der Landkreise und kreisfreien Städte erteilt. Zwischen den deutschen Bundesländern zeigen sich deutliche Unterschiede in Bezug auf ihre Wildsammlungstätigkeiten. Baden-Württemberg und Bayern scheinen eine führende Rolle zu spielen, wohingegen Mecklenburg-Vorpommern und Niedersachsen eine untergeordnete Position einnehmen. In den letzten drei Jahren wurden in Deutschland 128 Genehmigungen zur gewerblichen Entnahme von Pflanzen erteilt. Die Gründe hinter den Wildsammlungen sind sehr divers. Am häufigsten sind die Gewinnung von regionalem Saatgut, die Verwendung als Lebensmittel und die Herstellung von Arzneimitteln genannt. Bezüglich der Herstellung von Arzneimitteln und Kosmetikprodukten werden sehr unterschiedliche Arten in Deutschland gesammelt. Allen voran die Pestwurz (*Petasites hybridus*) gefolgt von Bärlauch (*Allium ursinum*) und Mistel (*Viscum album*).

Stichwörter: Gewerbliche Wildsammlung, Arzneipflanzen, Deutschland, Arzneipflanzenmarkt

Abstract

German importation of medicinal plants ranks fourth on the global scale, while exportation comes in third. Medicinal plants for the herbal market are sourced from either farmed or wild collections. Germany's wild collection plays a small role in comparison to other countries, with only 500 species of plants and mushrooms gathered from their natural environment. Many South-Eastern European countries including Albania, Romania, Poland and Bulgaria as well as Non-European countries such as India and China have a much larger wild collections industry. Despite Germany's small role on the global scale, it is important to look at an industrial nation with a high level of land consumption, such as Germany, to evaluate the importance of wild collection as a ecosystemservice. In Germany commercial wild collections are regulated by the Federal Nature Conservation Act (§39 Abs. 4 BNatSchG). This states that for every form of commercial wild collection a permit is needed. These permits are distributed by The Lower Nature Conservation Agency of every German district or district free city. German wild collection differs greatly between each federal state, for example, Baden-Württemberg and Bavaria see much more collection than states such as Mecklenburg-Vorpommern and Niedersachsen. In the last three years 128 permits for commercial wild collection have been granted. These permits are needed for many different purposes, primarily for seed-mixtures, food production and manufacturing of pharmaceuticals and cosmetics. A particular variety of species is needed for the commercial wild collection of manufacturing pharmaceuticals or cosmetics. The three most comonly gathered spicies are: *Petasites hybridus*, *Allium ursinum* and *Viscum album*.

Keywords: commercial wild collection, medicinal plants, Germany, herbal market

Einleitung

Verschiedene pflanzliche Produkte, wie Phytopharmaka und Naturkosmetika werden in der Phytotherapie verwendet. Es gibt drei verschiedene Medikationen, die als Phytotherapie zusammengefasst werden können: die konventionelle Phytotherapie, die Homöopathie und die Anthroposophie. Die konventionelle Phytotherapie verwendet Pflanzen im konventionellen Sinn der Medizin. Die Homöopathie und die Anthroposophie verwenden hingegen neben Pflanzen noch weitere natürliche Materialien und das im Kontext einer integrativen Medizin, die effektiv die konventionelle Therapie vervollständigt oder allein neben dem konventionellen Medizingedanken besteht (BLASIUS, 2017). Der deutsche Markt für Phytopharmaka ist der größte und der deutsche Markt für homöopathische und anthroposophische Medizin ist der zweit größte in Europa (BLASIUS, 2017). Zusätzlich ist Deutschland eines der führenden Zentren was die Expertise bezüglich pflanzlicher, homöopatischer und anthroposophischer Medizin angeht. Diese führende Position wird nicht allein durch die 150 deutschen Unternehmen begründet, die Produkte für die Phytotherapie herstellen, sondern ist auch auf die Tatsache zurückzuführen, dass Deutschland mit seinen innovativen medizinischen Produkten internationale Standards für Qualität, Sicherheit und Zuverlässigkeit setzt. Die Meisten Produkte in der Phytotherapie basieren auf Arzneipflanzen. In einem globalen Vergleich steht der deutsche Import von Arzneipflanzen an vierter und der deutsche Export an dritter Stelle (SCHIPPMANN et al., 2006 based on LANGE, 2002). Die dabei gehandelten Arzneipflanzen stammen aus dem Anbau oder werden durch gewerbliche Wildsammlung beschafft. Gewerbliche Wildsammlung beschreibt die Entnahme von Pflanzenmaterial am natürlichen Standort der Pflanze und das aus gewerblichen Interessen, wobei der Standort der Art nicht erheblich vom Menschen beeinflusst sein sollte. Mit 500 Pflanzen- und Pilzarten, die aus deutscher Wildsammlung stammen, spielt Deutschland eine eher untergeordnete Rolle auf dem weltweiten Arzneipflanzenmarkt (Quelle 1). Marktrelevante Mengen stammen hauptsächlich aus süd-ost europäischen Ländern, wie Albanien, Rumänien, Polen und Bulgarien und aus nicht europäischen Ländern, wie Indien und China. Die gewerbliche Wildsammlung von Pflanzen ist in Deutschland durch das Bundes-naturschutzgesetz (§39 Abs. 4 BNatSchG) reguliert. Das Gesetz besagt, dass jede Entnahme im gewerblichen Sinne einer Genehmigung bedarf. Die Genehmigung wird erteilt werden, wenn die Entnahme keinen negativen Effekt auf das natürliche Gleichgewicht, die Art und das Artvorkommen am Entnahmeort hat. Die verantwortliche Autorität welche die Genehmigungen erteilt, sind die 401 Unteren Naturschutzbehörden aller Landkreise und kreisfreien Städte aller 16 Bundesländer in Deutschland. Trotz der untergeordneten Marktposition Deutschlands ist es wichtig gerade in einer Industrienationen mit einem hohen Flächenverbrauch zu evaluieren wie relevant die Wildsammlung im Sinne einer Ökosystemdienstleistung ist. Es soll die Frage beantwortet werden, welche Rolle gewerbliche Wildsammlung in Deutschland und innerhalb der einzelnen Bundesländer einnimmt. Darüberhinaus stellt sich die Frage aus welchem Grund gewerbliche Wild-sammlungen durchgeführt und welche Arten dabei gesammelt werden.



Abb. 1 Karte von Deutschland mit allen bis jetzt kontaktierten (grau) und noch nicht kontaktierten (weiß) Bundesländern.

Fig. 1 Map of Germany with all the contacted (grey) and not yet contacted (white) federal states

Material und Methoden

Um die qualitativen und quantitativen Daten zu erheben wurde die relevante Literatur studiert und semi-strukturierte Interviews durchgeführt. Bis jetzt wurden 306 der 401 deutschen Unteren Naturschutzbehörden bzw. Landkreise und kreisfreien Städte kontaktiert. Vollständigkeit wird angestrebt. Die 306 Unteren Naturschutzbehörden repräsentieren 12 der 16 Bundesländer Deutschlands (Abb.1): Hamburg, Berlin, Bremen, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Sachsen, Thüringen, Hessen, Rheinland-Pfalz, Saarland, Baden-Württemberg und Bayern. Die durchgeführten Interviews behandelten folgende Themen: erteilte Genehmigungen für gewerbliche Wildsammlungen von Pflanzen in den letzten drei Jahren, Zweck der Sammlungen sowie die Arten die gesammelt wurden. Eine Genehmigung umfasst häufig mehrere Arten, weswegen die Anzahl der Sammelgenehmigungen zum Zweck der Herstellung eines Arzneimittels und eines Pflegeproduktes nicht mit der Häufigkeit der gesammelten Arten übereinstimmt. Die prozentuale Angabe der landwirtschaftlichen Fläche pro Landesfläche der Bundesländer wurde berechnet (Quelle 2).

Ergebnisse

Von den bisher kontaktierten 306 Landkreisen und kreisfreien Städten haben 159 auf die Anfrage geantwortet (149 blieben ohne Antwort). Positiv fielen 70 der 159 Antworten aus (es wurden Wildsammlungen im Landkreis genehmigt) und 89 Antworten waren negativ (es wurden keine Genehmigungen erteilt bzw. beantragt) (Abb.2). Diese ersten Ergebnisse zeigen, dass gewerbliche Wildsammlung durchaus eine Rolle in Deutschland spielt.

In den letzten drei Jahren hat es in den kontaktierten Bundesländern 128 Genehmigungen für gewerbliches Wildsammeln von Pflanzen gegeben (gesamt Anzahl der Genehmigungen pro Bundesland: Abb. 3-a). Hinter den Wildsammlungen stehen verschiedene Gründe. Am häufigsten wird die Herstellung regionaler Saatgutmischungen, gefolgt von der Lebensmittelherstellung und der Herstellung von Arzneimitteln und Kosmetikprodukten genannt (Anzahl der Genehmigungen pro Zweck und Bundesland: Abb. 3-b). Mit Fokus auf die Wildsammlungen zum

Zweck der Herstellung von Arzneimitteln und Kosmetikprodukten zeigt sich, dass verschiedenen Arten gesammelt werden. Am häufigsten Pestwurz (*Petasites hybridus*), gefolgt vom Bärlauch (*Allium ursinum*) und Misteln (*Viscum album*) (Abb. 3-c).

Es zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Bundesländern Deutschlands. Im Süden liegende Bundesländer wie Baden-Württemberg und Bayern nehmen eine führende Rolle ein, wohingegen nördliche Bundesländer wie Niedersachsen und Mecklenburg-Vorpommern eine untergeordnete Position innehaben. Die führende Rolle der großen süddeutschen Bundesländer könnte mit ihre große Anzahl sehr unterschiedlicher Ökosysteme mit einer Vielzahl an Pflanzengesellschaften und damit verbunden mit einer hohen Anzahl an marktrelevanten Pflanzenarten zusammenhängen. Die große Zahl unterschiedlicher Ökosysteme lässt sich wiederum durch die großen topografischen, reliefbezogenen und demzufolge auch klimatischen Unterschiede erklären, die im Gegensatz zum Norden im Süden Deutschlands bestehen. Die großen topografischen und reliefbezogenen Unterschiede führen zusätzlich zu natürlichen Ungunstbereichen für den Menschen und seine landwirtschaftlichen Interessen. Bayern und Baden-Württemberg stehen in einem bundesweiten Vergleich des Anteils der landwirtschaftlichen Fläche an der gesamten Landesfläche an 8. Und 10. Position (BY=44%, BW= 40%). Dem gegenüber rangieren Mecklenburg-Vorpommern und Niedersachsen an 2. Und 4. Position (MV=58%, NI=54%). Ein hoher Anteil weitläufig zusammenhängender, landwirtschaftlicher Nutzflächen kann zu einem geringeren Auftreten natürlicher oder semi-natürlicher Lebensräume führen, wodurch die geringere gewerbliche Wildsammlungsaktivität erklärt werden kann.

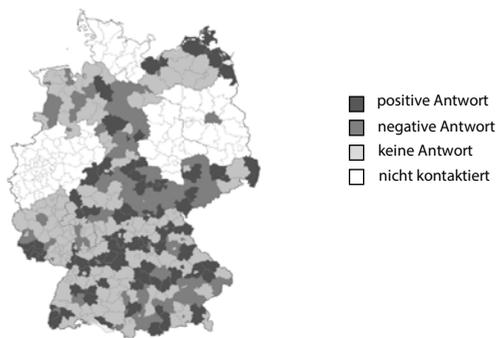


Abb. 2 Karte von Deutschland mit allen Landkreisen und kreisfreien Städten, die positiv (dunkel grau), negativ (mittel grau) oder noch nicht geantwortet haben (hell grau) oder noch nicht kontaktiert wurden(weiß).

Fig. 2 Map of Germany with all district and district free cities that answered positive (dark grey), negative (middle grey), or didn't answer yet (light grey), or not contacted yet (white)

Literatur

- Blasius, H., 2017: Herbal, homeopathic & anthroposophic medicines. Germany Trade and Invest, Company Directory.
- Schippmann, U., Leaman, D. & Cunningham, A.B., 2006: A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects. In: BOGERS, R.J, CRAKER, L.E. & LANGE, D. (Eds.): Medicinal and Aromatic Plants: Agricultural, Commercial, Ecological, Legal, Pharmacological and Social Aspects.- Springer, Dordrecht, 75-95.
- Lange, D., 2002: The role of east and southeast Europe in the medicinal and aromatic plants' trade.- Newsletter of the Medicinal Plant Specialist Group of the IUCN Species Survival Commission, Vol. 8, 14-18.
- Quelle 1: Mitschrift des Interviews von Ökolandbau mit Peter Riedl von Salus (Stand 08.07.2018): <https://www.oekolandbau.de/erzeuger/oekonomie/diversifizierung/oekologische-wildsammlung/>
- Quelle 2: Anteil der landwirtschaftlichen Fläche und Landesfläche der Bundesländer, Stand 08.07.2018 : <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/154868/umfrage/flaeche-der-deutschen-bundeslaender/>
<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/206265/umfrage/landwirtschaftlich-genutzte-flaeche-nach-bundeslaendern/>

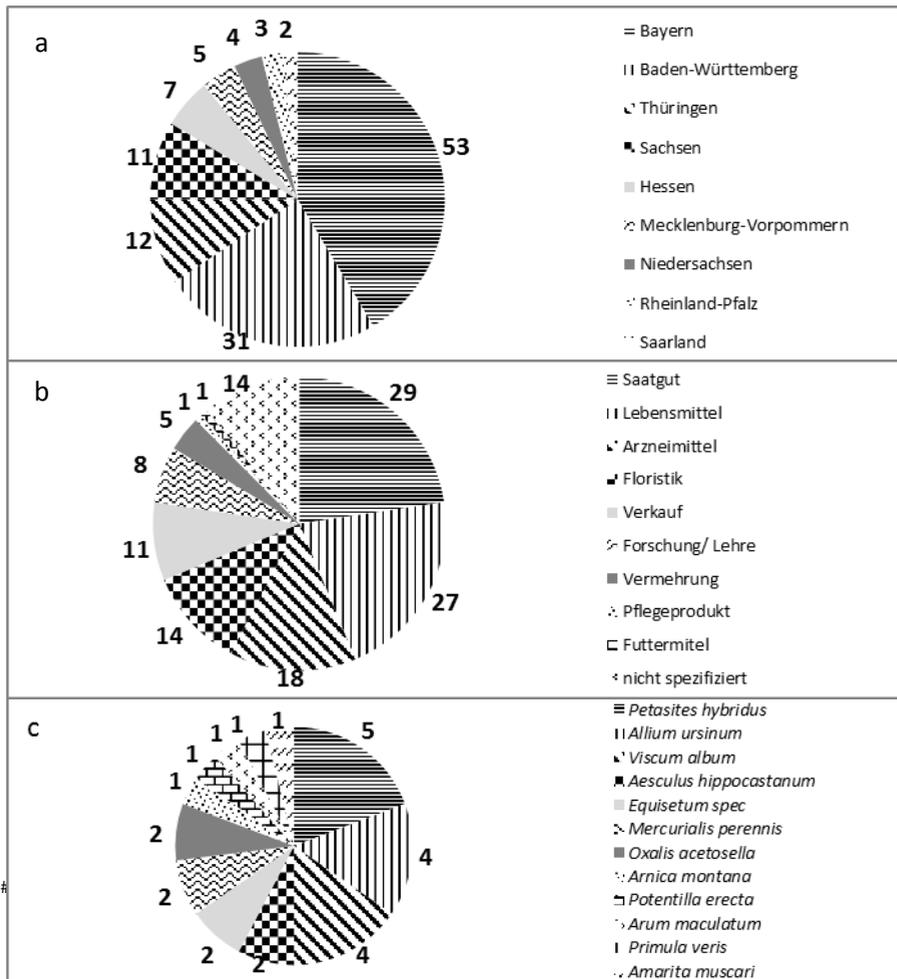


Abb. 3-a Anzahl gegebener Sammelgenehmigungen pro kontaktiertem Bundesland
b Zweck der Wildsammlung und Anzahl der Genehmigungen pro Grund
c Anzahl und Arten der Sammelgenehmigungen zum Zweck der Arzneimittel- und Pflegeprodukttherstellung
Fig. 3-a Number of wild collection permits per contacted German federal states
b Purposes of the permits and number of permits per purpose
c Number and species of wild collections for the purpose of manufacturing pharmaceuticals and cosmetics

Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

ESL 19 Next generation breeding tools for chamomile: Evaluating genetic diversity, ploidy variation, and identifying marker-trait associations



Züchtungsmethoden der nächsten Generation für Kamille: Bewertung der genetischen Diversität, der Ploidievariation und Identifizierung von Marker-Merkmal Assoziationen

Lars-Gernot Otto^{1*}, Jonathan Brassac¹, Prodyut Mondal², Marlis Sonnenschein³, Bartolome Plocharski³, Wolfram Junghanns⁴, Susanne Preiss², Jörg Degenhardt², Mariateresa Lazzaro⁵, Marika Bocchini⁵, Emidio Albertini⁵, Andreas Plescher³, Beate Fraust¹, Sang He¹, Jochen Reif¹, Timothy Sharbel⁶

* corresponding author: ottol@ipk-gatersleben.de

¹ Quantitative Genetics Research Group, Department Plant Breeding Research, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Corrensstraße 3, D-06466 Seeland OT Gatersleben, Germany.

² Research Group of Pharmaceutical Biotechnology, Martin-Luther University Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germany.

³ Pharmaplant GmbH, Artern, Germany.

⁴ Dr. Junghanns GmbH, Aschersleben, Germany.

⁵ Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences, University of Perugia, Perugia, Italy.

⁶ Global Institute for Food Security, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.

DOI 10.5073/jka.2018.460.019

Zusammenfassung

Die Nutzung von Kamille (*Matricaria recutita* L.) als Arzneipflanze hat eine lange Tradition und umfasst einen weiten Anwendungsbereich. Die Blütenköpfe von Kamille enthalten eine Vielzahl an medizinisch wirksamen Inhaltsstoffen. Next-Generation Sequenzierungsmethoden (NGS) werden bei den Hauptkulturpflanzen verwendet, um genetische Ressourcen zu erschließen und die Züchtung zu unterstützen. Genotypisierung-durch-Sequenzierung (GBS) wurde bei der Nicht-Modellpflanze Kamille zur Charakterisierung der genetischen Diversität angewandt. Unter Nutzung von den erhaltenen 6495 hochqualitativen SNP-Markern wurden mittels einer genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) DNA-Sequenzen identifiziert, die signifikant mit dem pharmazeutisch wichtigen Alpha-Bisabolol-Gehalt assoziiert sind. Die Ploidievariation in der Art Echte Kamille wurde mittels Hochdurchsatz-Durchflusszytometrie untersucht. Di-, tri- und tetraploide Pflanzen wurden identifiziert und in Feldversuchen charakterisiert. Da für das Ernteprodukt bei Kamille keine Samen benötigt werden, könnte Triploidie ein Weg sein, eine sterile Kamillensorte zu erzeugen. Mit einer sterilen Sorte könnte so das Problem gelöst werden, dass Kamillensamen im Boden bis zu 15 Jahre lang nach dem Anbau auskeimen, was den Fruchtwechsel auf den Ackerböden erheblich erschwert und u.a. zur Akkumulation von Kamillenkrankheiten führt.

Abstract

Chamomile (*Matricaria recutita* L.) has a long history of use in herbal medicine with various applications, and the flower heads contain numerous medicinally active compounds. Next generation sequencing (NGS) approaches are applied to exploit genetic resources in the major crop plants to develop genomic resources, and to enhance breeding. Genotyping-by-sequencing (GBS) has been used to evaluate the genetic structure of cultivated populations in the non-model crop chamomile using 6495 SNP markers, and to perform a genome wide association study (GWAS) identifying sequences significantly associated with the medicinally important alpha-bisabolol content. Ploidy variation in chamomile was investigated by high-throughput flow-cytometry. Di-, tri- and tetraploid plants were identified, and in field trials characterized. Since seeds are not needed in the harvested product of chamomile, triploidy could be a way to obtain a sterile chamomile variety, omitting the

problems of chamomile seeds lying up to 15 years dormant in the soil and facilitating crop rotation in the fields.

Keywords: *Matricaria recutita*, chamomile, genetic diversity, GBS, AFLP

Stichwörter: *Matricaria recutita*, Kamille, genetische Diversität, GBS, AFLP

Introduction

German chamomile (*Matricaria recutita* L. syn. *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert) with a long history of use in herbal medicine is one of the most important medicinal plants. However, unlike in major crops, few breeding efforts are done, and rarely "next generation" breeding methods are applied. Here one of the next-generation sequencing (NGS) approaches, Genotyping-by-Sequencing (GBS), which is widely used in many crop plants, has been applied to chamomile of various origins. Together with AFLP-markers, numerous SNP markers rendered by GBS (OTTO et al., 2017) allowed the evaluation of genetic diversity within this species in addition to a genome-wide association study (GWAS) for two important traits, flowering time and the content of alpha-bisabolol. The high density of the SNP-markers provided a high chance of identifying closely linked or functional (located within the gene of interest) markers associated with important agronomical traits.

Additionally, with the intention of studying the approaches to develop a sterile triploid chamomile, for several chamomile origins ploidy level variation was determined and some traits were characterized for plants within each ploidy class (diploid, triploid, tetraploid). The methods used here might be applied to other MAPs (medicinal and aromatic plants), with chamomile serving as a model.

Material and methods

Plant Material

Different origins (varieties, wild and cultivated populations, accessions) of chamomile from various geographic regions were included in the analyses, as for the evaluation of ploidy variation described in OTTO et al. (2015), and for the analysis of genetic diversity by GBS described in OTTO et al. (2017). For the analysis of genetic diversity with AFLP markers, 2 to 8 plants each from 46 chamomile origins and from 11 origins out of 8 related species (*Artemisia absinthium* L.; *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia vulgaris* L., *Matricaria discoidea* DC., *Matricaria nigellaefolia* DC., *Matricaria trichophylla* (Boiss) Boiss., *Matricaria perforata* Mérat, *Achillea millefolium* L.) were analysed. The focus was placed on cultivated chamomile.

The field trials for the phenotyping of di-, tri- and tetraploid plants were done with blocks of clonal plants for each genotype in the years 2014 and 2016 in Artern, Germany, encompassing 7.5 m² for each genotype. To reduce the influence of the individual genetic background, the diploid, triploid and tetraploid plants compared were originating from the same or similar population.

Ploidy analysis

Flow-cytometric analysis was done according to OTTO et al. (2015) using *Vicia faba* L. as internal standard and the 2-component buffer CyStain UV Precise P (Partec, Münster, Germany) with additional 0.5 % β -mercaptoethanol and 1 % polyvinylpyrrolidone (PVP) to stabilize the DNA from oxidation.

AFLP-marker analysis

AFLP-analysis (Amplified Fragment Length Polymorphism) was done modified according to OBERPRIELER et al. (2009) and VOS et al. (1995) with 6 primer combinations (EcoRI+ACA – MseI+CAC,

EcoRI+ACA – MseI+CGA, EcoRI+ACC – MseI+CAT, EcoRI+ACC – MseI+CAG, EcoRI+AGG – MseI+CTT, EcoRI+AGG – MseI+CGA) using a fragment analyzer (CEQ 8000, Beckman-Coulter, Krefeld, Germany). A first AFLP analysis was done with a subset of 47 samples (38 chamomile and 9 related species) using 79 markers.

Phenotyping and Genotyping-by-Sequencing (GBS) for genome-wide association study

The analysis of chemical compounds was done by gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS) with modifications according to KÖLLNER et al. (2004) and IRMISCH et al. (2012). DNA was extracted with the Chloropure kit (Agencourt Bioscience Corp., Beverly, Massachusetts, USA). The sample preparation and the GBS was accomplished at the Biotechnology Resource Center (BRC, Cornell, USA) according to a modified protocol from ELSHIRE et al. (2011) on the Illumina HiSeq 2000/2500 (100 bp, single-end reads) using the enzyme ApeKI for digestion. In the absence of a reference genome, the assembly was done *de novo* (OTTO et al., 2017). SNPs were detected using the software pipeline pyRAD v. 3.0 (Eaton, 2014). The genetic diversity and structure of cultivated chamomile was analysed with 6,495 filtered, high-quality SNPs using the admixture model of STRUCTURE 2.3.4 (PRITCHARD et al, 2000; FALUSH et al, 2003; HUBISZ et al., 2009). The genome-wide association study was performed with the R package “rrBLUP” (ENDELMAN, 2011).

Results and Discussion

Analysis of genetic diversity and population structure

The analysis of the genetic diversity in chamomile by AFLPs and SNP markers (generated by Genotyping-by-Sequencing) revealed that *Matricaria recutita* L., from here on chamomile, is clearly distinct from related species like *M. discoidea* (Fig. 1). Within *M. recutita*, a group of 14 tetraploid origins was genetically highly homogenous as revealed by STRUCTURE (PRITCHARD et al., 2000), principle coordinate analysis and neighbor-joining analysis performed with 6495 high-quality SNPs, mined with the pyRAD-pipeline (EATON, 2014). In contrast, several tetraploid and most of the diploid origins displayed a higher genetic diversity. The lower genetic diversity in the tetraploid origins possibly reflects their breeding history, namely, their development from a limited set of diploid populations. These data could be used to exploit available genetic diversity in chamomile breeding, e.g. to profit from the heterosis effect. For further analysis, it is planned to investigate wild chamomile populations from the geographic origin, i.e. the Near East and South-Southeast Europe, to deeper unravel the genetic variation.

Genome wide association study for alpha-bisabolol content and flowering time

18 chemical compounds were measured in flower heads by GC-MS. The highest genomic heritability, estimating how much of the observed phenotypic variation can be explained genetically, was calculated for alpha-bisabolol (0.427) according to VISSCHER et al. (2008) and DE LOS CAMPOS et al. (2015). For all other compounds the genomic heritability was lower than 0.25. Thus, the further analysis was focused on alpha-bisabolol as one of the medicinally most important compounds of chamomile.

Varieties with genotypes possessing high alpha-bisabolol content (e.g. ‘Manzana’) could be genetically discriminated. By the genome wide association study, SNP markers significantly associated with flowering time and alpha-bisabolol, arguably the most important medicinal compound of chamomile, could be identified (OTTO et al., 2017). Moreover, four sequences carrying alpha-bisabolol-associated SNPs are involved in plant biotic and abiotic stress response in different plants species (BLAST alignments). These markers could pave the way for the application of marker assisted selection (MAS) in chamomile to select the desired plant at a young stage

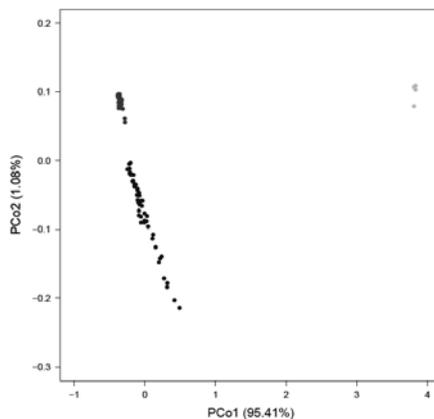
without extensive phenotyping of all the plants in the breeding population, e.g. for the analysis of the chemical compounds.

Ploidy variation in chamomile

By high-throughput flow-cytometry, the ploidy variation in 15 chamomile origins was investigated in seeds and plants (OTTO et al., 2015). Tetraploid origins often contained a portion di-, tri- and clearly aneuploid individuals. Triploids plants were selected in these tetraploid varieties and populations, but were also generated by crossing tetraploid and diploid parents. The triploid plants showed good agricultural performance, and were highly sterile.

A high individual variation in phenotypic traits could be observed between plants, independent of their ploidy level. However, altogether differences were detected between chamomiles of different ploidy levels. Diploid chamomile flowered significantly earlier than tetraploid one (OTTO et al., 2017). The flower heads from tetraploid plants were larger than these from di- and triploid ones (Fig. 2). No clear differences in average flower heads size were present between the investigated di- and triploid plants. In the field trials, the yield (harvested mass of flower heads) of di-, tri- and tetraploid plants was comparable, with a strong variation observed between single genotypes and with single triploid genotypes reaching the highest yield. The flowering period and the plant height were also comparable between plants of the various ploidy levels.

In chamomile, the flower heads are harvested before most of them generate seeds. As in many fruit and ornamental plants, in which seeds are not desired, a triploid seedless chamomile variety could be very valuable due to the absence of self-sowing. Seeds from chamomile can lay dormant for up to 15 years in the soil before germination, and chamomile is rather resistant to herbicides. Thus, once a field is contaminated with chamomile, crop rotation is hampered. Also, successive cultivation of chamomile leads to the accumulation of chamomile specific diseases. A triploid sterile variety could solve this problem.



Colours: **green**: outgroup from *M. discoidea*; **red**: homogenous group of 14 tetraploid origins; **blue**: rather diverse group consisting of all remaining samples

Fig. 1 (OTTO et al. 2017): Principle coordinate analysis of the 95 samples reveals the outgroup *M. discoidea* to be clearly distinct from *M. recutita*.

Acknowledgements

The majority of this work was financed based upon a resolution of the Federal Parliament of Germany (Deutscher Bundestag) by the Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft

(BMEL, support code 11NR389 and 14NR063) via the Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) as project executing organisation for the funding programme “Renewable Resources”. The funding body did not execute any influence on the study nor the manuscript.

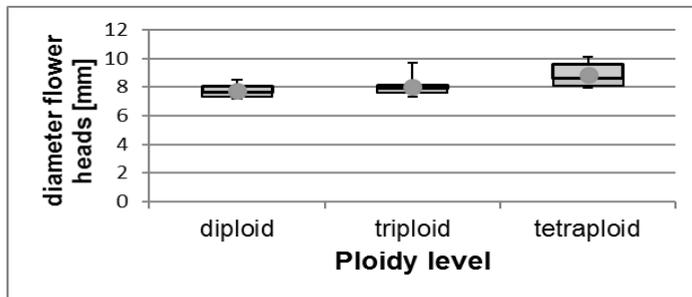


Fig. 2: Average diameter for the flower heads from diploid, triploid and tetraploid plants.

Box-whisker-plots of the average flower head diameter for the different ploidy levels from plants in field trial (diploid n=4, triploid n=12, tetraploid n=7): The quartiles 2 and 3 are drawn with the median in between them. The whiskers indicate the maximum and minimum values, whereas the dot in the middle represents the arithmetic mean.

References

- DE LOS CAMPOS, G., D. SORENSSEN, D. GIANOLA, 2015: Genomic heritability: what is it? *PLoS Genet* **11**(5): e1005048.
- EATON D.A.R., 2014: *PyRAD: assembly of de novo RADseq loci for phylogenetic analyses*. *Bioinformatics* **30**(13), 1844-1849. doi: 10.1093/bioinformatics/btu121.
- ELSHIRE, R. J., J. C. GLAUBITZ, Q. SUN, J. A. POLAND, K. KAWAMOTO, E. S. BUCKLER, S. E. MITCHELL, 2011: A Robust Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. *PLoS ONE* **6**(5): e19379. doi:10.1371/journal.pone.0019379.
- ENDELMAN, J. B., 2011: Ridge regression and other kernels for genomic selection with R package rrBLUP. *Plant Genome* **4**, 250-255. doi: 10.3835/plantgenome2011.08.0024.
- FALUSH, D., M. STEPHENS, J. K. PRITCHARD, 2003: Inference of population structure: Extensions to linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* **164**, 1567-1587.
- HE J., X. ZHAO, A. LAROCHE, Z.-X. LU, H. LIU, Z. LI, 2014: Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Front. Plant Sci.* **5**, 484. <http://doi.org/10.3389/fpls.2014.00484>.
- HUBISZ M., D. FALUSH, M. STEPHENS, J. PRITCHARD, 2009: Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* **9**(5), 1322-1332.
- Irmisch S., S. T. Krause, G. Kunert, J. Gershenzon, J. Degenhardt, T. G. Köllner, 2012: The organ-specific expression of terpene synthase genes contributes to the terpene hydrocarbon composition of chamomile essential oils. *BMC Plant Biology* **12**: 84. doi:10.1186/1471-2229-12-84.
- Köllner T.G., C. Schnee, J. Gershenzon, J. Degenhardt, 2004: The sesquiterpene hydrocarbons of maize (*Zea mays*) form five groups with distinct developmental and organ-specific distributions. *Phytochemistry* **65**, 1895-1902.
- OBERPRIELER, Ch., J. MEISTER, Ch. SCHNEIDER, N. KILIAN, 2009: Genetic structure of *Anogeissus dhofarica* (Combretaceae) populations endemic to the monsoonal fog oases of the southern Arabian Peninsula. *Biological Journal of the Linnean Society* **97**, 40-51.
- OTTO, L.-G., W. R. JUNGHANNS, A. PLESCHER, M. SONNENSCHNEIN, T. F. SHARBEL, 2015: Towards breeding of triploid chamomile (*Matricaria recutita* L.) - Ploidy variation within German chamomile of various origins. *Plant Breeding J.* **13**(4), 485-493. DOI: 10.1111/pbr.12285.
- OTTO, L.-G., P. MONDAL, J. BRASSAC, S. PREISS, J. DEGENHARDT, S. HE, J. C. REIF, T. F. SHARBEL, 2017: Use of genotyping-by-sequencing to determine the genetic structure in the medicinal plant chamomile, and to identify flowering time and alpha-bisabolol associated SNP-loci by genome-wide association mapping. *BMC Genomics* **18**:599. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3991-0>.
- PRITCHARD J. K., M. STEPHENS, P. DONNELLY, 2000: Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- PRITCHARD, J. K., M. STEPHENS, P. DONNELLY, 2000: Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- VISSCHER P.M., W. G. HILL, N. R. WRAY, 2008: Heritability in the genomics era-concepts and misconceptions. *Nat Rev Genet* **9**, 255-266. doi: 10.1038/nrg2322. pmid:18319743.
- VOS P., R. HOGERS, M. BLEEKER, M. van de REIJNS, T. LEE, M. HORNES, A. FRUITERS, J. POT, J. PELEMAN, M. KUIJPER, M. ZABEAU, 1995: AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* **23**, 4407-4414.

Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

ESL 20 Bedeutung einer effizienten Charakterisierung pflanzlicher Extrakte für die Züchtung und den Übergang von der Wildsammlung zum kontrollierten Anbau



The role of an efficient characterization of plant extracts for breeding and the transition from wild collection to controlled cultivation

Roland Geyer^a, Fred Eickmeyer^b, Michael Rettig^a, Steffen Heelemann^a, Renate Kirchhöfer^a

^alifespın GmbH, Am Biopark 13, 93053 Regensburg, roland.geyer@lifespın.de

^bESKUSA GmbH, Bogener Str. 24, 94365 Parkstetten, eickmeyer@t-online.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.020

Siehe auch Poster **P 4**

Zusammenfassung

Die Inkulturnahme noch nicht fest etablierter Heil- und Gewürzpflanzen steht vor folgendem Dilemma: Einerseits ist eine steigende Nachfrage nach Ware aus kontrolliertem, dokumentiertem, überprüfbarem, heimischem Anbau zu verzeichnen und eine Erhöhung der Anbauflächen dieser Arten politisch gewünscht. Andererseits wird die Anbauware im Preis, je nach Versorgungslage, mit dem Preis der Ware aus Wildsammlungen verglichen. Bei vergleichbaren Qualitäten erhält dann in der Regel die preiswertere Wildsammelware den Vorzug im Einkauf.

Dies führt dazu, dass eine kontinuierliche Versorgung der Verarbeitungsbetriebe mit Ware aus kontrolliertem Anbau immer wieder zusammenbricht, da die Anbauer sich nicht auf Preise und Abnahme verlassen können. Auswege aus diesem Dilemma bestehen darin, entweder mit dem Anbau zu warten, bis die Wildsammlungen versagen oder das anzubauende Material qualitativ deutlich von der Wildsammelware abzugrenzen.

An den Beispielen Echte Arnika (*Arnica montana* L.) und Russischer Löwenzahn (*Taraxacum kok-saghyz* L.E.Rodin) wird gezeigt, dass - vom Wildmaterial ausgehend - in den ersten Selektionszyklen enorm große Zuchtfortschritte erzielt werden können; vorausgesetzt die Ziele sind klar definiert und es steht eine ausreichende Analytik-Kapazität zur Verfügung. Eine solche kann beispielweise mittels moderner Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) mit entsprechender software-basierter Datenanalyse realisiert werden und wird im Folgenden, im oben genannten Kontext, diskutiert.

Stichwörter: Inkulturnahme, Elitenselektion, NMR, Hochdurchsatzphänotypisierung

Abstract

The cultivation of not yet well-established medicinal and herbal plants faces the following dilemma: On the one hand there is an increasing demand for goods from controlled, documented, verifiable, domestic cultivation and an increase in the acreage of these species is politically desired. On the other hand, the cultivated product is compared in price, depending on the supply situation, with the price of the product from wild collections. Usually, this results in the use of the cheaper wild collected goods.

As a result, the continuous supply of raw material from controlled cultivation to the processing plants collapses time and again as growers can not rely on prices and acceptance. The solution to this dilemma is either to wait with the cultivation until the wild collections fail or the quality of the material to be grown is clearly differentiated from the wild collection.

Based on two examples, Arnica (*Arnica montana* L.) and Russian Dandelion (*Taraxacum kok-saghyz* L.E.Rodin), it is demonstrated that - starting from the wild material - high breeding progress can be achieved in the first selection cycles. A necessary precondition is, that the goals are clearly defined and that there is sufficient capacity available to analyze output traits and lead ingredients. Such can be realized for example by means of modern nuclear magnetic resonance (NMR) analysis techniques with appropriate software-based data analysis and will be discussed below.

Keywords: Domestication, elite selection, NMR, high-throughput phenotyping

Einleitung

Aktuell werden etwa 85-90% der pro Jahr benötigten Rohdrogen nach Deutschland importiert. Davon wiederum stammen etwa 70% aus Wildsammlungen (STELTER 2017, STRAUB 2017). Vermehrt führt dies zur Übersammlung vieler Arten, bis hin zum totalen Verlust. Wenn man weiterhin soziale Aspekte und die demographische Entwicklung in den Sammelländern berücksichtigt, ist mit weiterem Rückgang der Verfügbarkeit von Wildmaterial zu rechnen. Schon jetzt führt die beschriebene Situation, in Kombination mit natürlichen Schwankungen in den Beständen und Qualitäten, zu volatilen Preisen und stark jahresabhängigen Qualitäten der Rohwaren für die verarbeitende Industrie. Um dieser Situation zu begegnen und Druck von den Beständen zu nehmen, ist neben zahlreichen Aktivitäten die Wildsammlung betreffend (z.B. Programme und Ausbildung zur nachhaltigen und kontrollierten Sammlung), eine Inkulturnahme und züchterische Bearbeitung zahlreicher Arten unabdingbar.

Um dabei der Diskrepanz zwischen Marktpreisen und Kosten für Züchtung und kontrolliertem Anbau in Deutschland zu begegnen, ist eine hohe Effizienz der Prozesse nötig. Wichtiger Bestandteil ist in diesem Zusammenhang zweifelsohne eine hohe Informationsdichte in der Selektion und späteren Qualitätskontrolle der Bestände bzgl. der Chemotypen und Zielsubstanzgehalte. Innovativen Verfahren wie der modernen und softwaregestützten NMR-Analytik wird hier eine wichtige Bedeutung zukommen. Die im folgenden beschriebenen Methoden zeigen eine Option auf, die züchtungsbegleitend genutzt werden kann und auch wirtschaftlich tragbar ist. Durch Analyse von mehreren 1000 Proben pro Jahr, bei Kosten unter 50% von denen klassischer analytischer Methoden, können Züchtungsprojekte beschleunigt werden und zielgerichtet den oben dargestellten Bedarf adressieren.

Methodenbeschreibung

Insbesondere im Übergang von der Wildsammlung zum kontrollierten Anbau, ist eine effiziente Charakterisierung pflanzlicher Extrakte, wie oben beschrieben, von fundamentaler Bedeutung.

Die im Folgenden beschriebenen Projekte wurden über mehrere Jahre und damit bei über 10.000 Einzelpflanzenproben mit NMR-Analysen inkl. software-basierter uni- und multivariater Datenanalyse begleitet. Wichtige Merkmale der Methode sind deren Reproduzierbarkeit, die quantitative Erfassung der Zielmetaboliten, ohne Kalibration oder substanzabhängige Einflüsse, sowie der hohe Grad an Effizienz und damit verbunden niedrige Kosten.

Für beide Verfahren sollten 50 mg Material nicht unterschritten werden. Nach oben ist prinzipiell keine Grenze gesetzt und letztlich wird die Möglichkeit zur repräsentativen Probennahme hier den tatsächlichen Maßstab setzen. Das zu untersuchende Material wird über Nacht gefriergetrocknet und im Folgenden mittels Kugelmühle homogenisiert. Dabei können bis zu 24 Proben (je nach Laborausstattung natürlich auch mehr) parallel bearbeitet werden, mit Run-times von je einer Minute. Das gemahlene Material wird dann mit entsprechender Extraktionslösung (Löwenzahn: Toluolbasiert, inkl. 10% Toluol-d8 und internem Standard 2,6-Dimethoxyphenol (DMOP); Arnika: Methanol/H₂O 50/50 V/V, inkl. 5% D₂O und internem Standard 3-(Trimethylsilyl)propion-2,2,3,3-d₄-säure (TSP)) extrahiert, abzentrifugiert und in NMR-Röhrchen gefüllt. Die Messzeit pro Probe liegt für die genutzten 1D ¹H Messungen mit Lösungsmittelunterdrückung bei 7 Minuten und wird an 600 MHz NMR-Spektrometern realisiert. Durch Nutzung von Autosamplern und entsprechender Automatisierungslösungen ist eine Messung von bis zu 480 Proben ohne manuelle Interaktion möglich. Die resultierenden Spektren werden im Folgenden automatisch referenziert, phasen- und basislinienkorrigiert und decken einen dynamischen Konzentrationsbereich von 6 Größenordnungen ab. Die nachfolgende Quantifizierung der Zielsubstanzen (Löwenzahn: *cis*-Polyisopren; Arnika: Summe der Helenaline und Dihydrohelenaline, Gesamt und Substanzklassenbezogen) erfolgt gegen internen Standard und wird gemeinsam mit inter- und

intraserieller Qualitätskontrolle software-basiert durchgeführt. Für beide Fragestellungen können auf diese Weise etwa 100 Proben pro Tag bearbeitet und über Nacht gemessen werden.

Neben der Quantifizierung von Leitsubstanzen kann im gleichen analytischen Vorgang auch eine tiefergehende Charakterisierung, ein sogenanntes Fingerprinting, erfolgen. Trotz der auftretenden natürlichen Variabilität können z.B. über Machine Learning Verfahren Metabolit-Netzwerke, bestehend aus Konzentrationsverhältnissen, entwickelt werden, die eine hohe Klassifizierungsgenauigkeit zulassen (MUSMANN et al. 2014). Auf diese Weise kann z.B. sehr schnell erkannt werden, ob die analysierte Probe unerlaubte Zusätze enthält oder ein von der Spezifikation (Chemotyp, agronomische Merkmale, Herkunft, Sorten, kontrollierte Replikation, u.v.m.) abweichendes Inhaltsstoff-Profil aufweist. Weitere Anwendungsbeispiele wurden hierzu beispielweise präsentiert von VAN DER KOOY, 2009, KRISHNAN et al. 2005 oder TOMITA et al. 2015.

Ergebnisse

Ein Anbau in Deutschland kann sich unter Berücksichtigung der hohen Lohn- und Lohnnebenkosten nur bei qualitativ deutlich höher zu bewertendem Material lohnen. Um dies zu erreichen ist für Züchter eine effiziente Charakterisierung nötig um die gesetzten Ziele schnellstmöglich zu erreichen.

Die enge Zusammenarbeit von Züchtung (ESKUSA) und Analytik (lifespın) ermöglichte diesbezüglich u.a. bei den gezeigten Arten mit vertretbarem Kostenaufwand und innerhalb kurzer Zeit hohe Gehalte an den gewünschten Inhaltsstoffen, in Kombination mit für den Anbau relevanten agronomischen Eigenschaften, zu selektieren. Damit kann sich das entwickelte Zuchtmaterial qualitativ deutlich vom ursprünglichen Wildtyp abgrenzen und sich mittelfristig als rentable und zielführende Alternative zum Material aus Wildsammlungen etablieren.

Beispiel Arnika

Die Preise für Arnika Blütendroge schwankten in den letzten zehn Jahren teilweise um bis zu 100% (GERARD, 2018). Solch volatile Preise, letztlich Indikatoren für die Versorgungslage, sind ein Treiber für langsam wachsendes Interesse an Inkulturnahme und Anbau als Alternative zur Wildsammlung.

Zielsubstanzen bzw. Substanzklassen sind im durchgeführten Projekt Sesquiterpenlaktone vom Helenalin bzw. Dihydrohelenalin-Typ. Der Gesamtgehalt sollte möglichst hoch sein, bei gleichzeitig überwiegend Dihydrohelenalinen, analog der qualitativen Zusammensetzung in Arnika vom „spanischen Typ“.

Über definierte Signale aus Strukturen im Grundgerüst der Sesquiterpenlaktone, unabhängig von der Substitution an der Hydroxygruppe, können die Gesamtsumme, sowie die beiden Teilsummen (Helenalin und Dihydrohelenalin) bestimmt werden. Für einzelne Verbindungen (z.B. die Methacrylsäureester) konnten zusätzlich Einzelsubstanzkonzentrationen erfasst werden, die jedoch für das Züchtungsvorhaben nur informativen Charakter besitzen.

Die Selektion erfolgte auf Basis der NMR-Daten zu Gehalt und qualitativer Zusammensetzung und resultierte, nach wenigen Selektionszyklen, in einer signifikanten Steigerung der Zielparame-ter. Im nun vorhanden eigenen Zuchtmaterial sind die Gehalte an Dihydrohelenalinen stabil um das 3- bis 5-fache erhöht.

Beispiel Löwenzahn

Um Löwenzahn als Kulturpflanze und Rohstoff für die Kautschukindustrie zu etablieren wurden in mehreren sukzessiven geförderten Vorhaben (Tarulin, BMBF, FKZ 0315971F; Takowind, BMEL, FKZ 22002112; Tarulin II, BMBF, FKZ 031B0059F; Takowind II, BMEL, FKZ 22024015) erste Schritte realisiert. Ausgehend vom Wildmaterial sind eine Verfünffachung des Wurzelgehaltes und durch Kombination mit agronomischen Merkmalen eine mehr als Verdreifachung des Hektarertrages Kautschuk nötig, um wirtschaftlich interessant zu werden. Durch große mögliche Fortschritte in

den ersten Selektionszyklen, ist dies aber, im Gegensatz zur Züchtung etablierter Arten, bei Wildmaterial eben nicht utopisch.

Zielsubstanz in den Löwenzahnwurzeln ist das *cis*-Polyisopren, idealerweise mit einer relativ engen Molgewichtsverteilung. Im Wildtyp sind davon durchschnittlich 3% zu finden, bei einem Hektarertrag von zu Beginn 30 kg/ha. Nach ca. 5 Zyklen, entsprechend etwa der Hälfte des geplanten Weges, sind mittlerweile sowohl Kautschukgehalte in den Wurzeln, als auch Hektarerträge realisiert, die eine erfolgreiche Fortführung der Vorhaben erwarten lassen und in Relation etwa der Anzahl der erfolgten Zyklen entsprechen. Die aktuellen jährlichen Probenzahlen für die Analytik liegen über 3000, konzentriert durchzuführen in ca. 2 Monaten zum Jahresende. Um diesen Aufwand zu stemmen, bei gleichzeitig niedrigem Budget, ist die oben beschriebene effiziente Charakterisierung erneut von grundlegender Bedeutung.

Literatur

- STELTER, W., 2017: Vorstellung der Besonderheiten des Arzneipflanzenanbaus und Förderaktivitäten des BMEL. Gülzower Fachgespräche, 56, 9-21
- STRAUB, M., 2017: Besonderheiten und Potenziale des ökologischen Anbaus von Arznei- und Gewürzpflanzen. Gülzower Fachgespräche, 56, 9-21
- VAN DER KOOP, F.; MALTESE, F.; CHOI, Y. H.; KIM, H. K.; VERPOORTE, R., 2009: Quality control of herbal material and phytopharmaceuticals with MS and NMR based metabolic fingerprinting. *Planta Med.*, 75(7), 763-775
- KRISHNAN, P.; KRUGER, N.J.; RATCLIFFE, R. G., 2005: Metabolite fingerprinting and profiling in plants using NMR. *J. of exp. botany*, 56(410), 255-265
- TOMITA, S., NEMOTO, T., MATSUO, Y., SHOJI, T., TANAKA, F., NAKAGAWA, H., ONO, H., KIKUCHI, J., OHNISHI-KAMEYAMA, M., SEKIYAMA, Y., 2015: A NMR-based, non-targeted multistep metabolic profiling revealed l-rhamnitrol as a metabolite that characterised apples from different geographic origins. *Food Chemistry*, 174, 163-172
- GERARD, D., persönliche Mitteilung, 2018

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

FSL 21 Blatterträge sowie Gehalt und Zusammensetzung des ätherischen Öls von *Mentha x piperita* L., *Mentha x spicata* L. und *Mentha suaveolens* EHRH.



Leaf yield, content and composition of the essential oil of Mentha x piperita L., Mentha x spicata L. and Mentha suaveolens EHRH.

Kathrin A. Göbel, Lena Hartert, Stephanie Tiefenböck, Tim Hellerberg, Alexandra Kontschevski, Bernd Honermeier

Justus-Liebig-Universität Gießen, Professur für Pflanzenbau, Biomedizinisches Forschungszentrum Seltersberg (BFS), Schubertstraße 81, 35392 Gießen, E-Mail: Kathrin.A.Goebel@ernaehrung.uni-giessen.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.021

Stichwörter: Minze, ätherisches Öl, Wasserdampfdestillation, GCMS

Keywords: Mentha, essential oil, steam distillation, GCMS

Einleitung

Die Minze (*Mentha sp.*) ist eine wichtige Arznei- und Gewürzpflanze aus der Familie der Lamiaceae. Zu dieser Gattung zählen 23 Arten und 15 Hybriden (LAWRENCE 2007). Als Arzneipflanze findet der Tripelbastard Pfefferminze (*Mentha x piperita* L.) Verwendung, wobei Menthol der wertgebende Inhaltsstoff ist. Die getrockneten Laubblätter oder das mittels Wasserdampfdestillation gewonnene ätherische Öl werden als Droge bei der symptomatischen Behandlung des Reizdarmsyndroms, bei Verdauungsstörungen sowie bei Kopf- und Muskelschmerzen genutzt (PH. EUR. 7, 2011). Menthol wird zudem in hohem Maße in der Kosmetik-, der Pharma- oder der Lebensmittelindustrie nachgefragt. Zur reinen Menthol-Gewinnung können neben der Pfefferminze auch andere Minze-Arten, wie beispielsweise die Grüne Minze (*Mentha x spicata* L.) verwendet werden.

Innerhalb der Gattung *Mentha* besteht eine hohe Diversität bezüglich phänotypischer und biochemischer Merkmale der Pflanzen. Eine gute Kenntnis über die Ausprägung dieser Merkmale ist für die Züchtung und Kultivierung der Minze sehr wichtig.

Material und Methoden

Gegenstand der Untersuchungen ist ein Minze-Sortiment, das in der Versuchsstation Gießen, Weilburger Grenze, im Jahr 2016 angelegt wurde. Die Versuchsstation Gießen (50°36'05.7"N 8°39'13.3"E) liegt 158 m über NN. Der Boden ist eine Gley-Vega aus Auenton mit einer Bodentextur aus schluffigem Ton (Tu 3, 0 -25 cm) und einer Ackerzahl von 65. Das Klima ist warm und gemäßigt, wobei das langjährige Mittel der Luft-Temperatur bei 9 °C und das langjährige Mittel der Niederschlagssumme bei 650 mm pro Jahr liegen.

Das in der Versuchsstation Gießen angelegte Minze-Sortiment umfasst insgesamt 99 Minze-Akzessionen verschiedener *Mentha*-Arten und -Varietäten, die auf jeweils 1,25 m² großen Parzellen angelegt wurden. Die Minzen wurden aus verschiedenen Ländern von Botanischen Gärten, Gärtnereien, Forschungseinrichtungen, Züchtern sowie der Genbank in Gatersleben bezogen.

Über zwei Jahre (2016 und 2017; je zwei Ernten pro Jahr) wurden diverse agronomische Parameter erhoben (u. a.: Blattertrag, Blatt-Stängel-Verhältnis, Pflanzenlänge, Krankheits- und Schädlingsanfälligkeit, Überwinterung). Zudem wurden der Gehalt des ätherischen Öls mittels

Wasserdampfdestillation (Clevenger-Apparatur) und die Zusammensetzung des ätherischen Öls mittels GC/MS-Analyse bestimmt. Die Analysen wurden nach PH. EUR. 7 (2011) durchgeführt.

Ergebnisse

Die Gehalte an ätherischem Öl schwankten im gesamten Sortiment von minimal 1,08 bis maximal 3,18 %. Innerhalb der Pfefferminzen konnten im Ergebnis der GC/MS-Analysen unterschiedliche Chemotypen (Carvon-, Piperiton-, Pulegon-Typen) identifiziert werden. Zahlreiche Akzessionen wiesen die für Pfefferminze typische Öl-Zusammensetzung auf. Es konnten wenige Minzen identifiziert werden, die in der Öl-Zusammensetzung den Anforderungen des Europäischen Arzneibuches entsprechen.

Die Blattproben von *Mentha x spicata* L. enthielten kaum Menthol, kein Isopulegol und sehr wenig Methylacetat. Einige dieser Akzessionen konnten als Carvon-reich eingeordnet werden.

Bei *Mentha suaveolens* EHRH. konnten einige Herkünfte mit höherem Piperiton-, Pulegon- und Carvon-Anteil identifiziert werden.

Die einzelnen Daten der durchgeführten Untersuchungen werden im Vortrag vorgestellt und bewertet.

Literatur

LAWRENCE, B. M., 2007: Mint. The genus *Mentha*. Vol. 44. CRC-Press, Taylor & Francis-Group.

PH. EUR. 7, 2011: Europäisches Arzneibuch, 7. Ausgabe, Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1799-1800.

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

FSL 22 Erfassung pflanzenbaulicher Parameter im ökologischen Anbau der morphinarmen Wintermohnsorte „Zeno Morphex“



Determination of agronomic parameters in the biological cultivation of the low morphine poppy variety 'Zeno Morphex'

Katharina Luhmer^{1,3}, Hanna Blum^{1,3}, Martin Berg², Ralf Pude^{1,3}, Louisa Wember¹

¹Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz (INRES), Nachwachsende Rohstoffe, Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn

²Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz (INRES), Agrarökologie und Organischer Landbau, Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn

³Außenlabore Campus Klein-Altendorf (CKA), Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn

DOI 10.5073/jka.2018.460.022

Zusammenfassung

Im ökologischen Anbau von Speisemohn, insbesondere im Winteranbau, gibt es in Deutschland kaum Anbauerfahrung. Der Bedarf nach Grundlagenforschung zu Fragen der Ertragssicherheit, Unkrautbekämpfung und Nährstoffversorgung ist hoch, weshalb in einem Feldversuch die Faktoren Saatzeitpunkt sowie Stickstoffversorgung in ihrer Wirkung auf die Pflanzenentwicklung und den Ertrag untersucht wurden. Als Dünger wurden Hornmehl (0-1 mm) und Hornspäne (4-7 mm) zu 30 kg N ha⁻¹ und 80 kg N ha⁻¹ ausgebracht. Die größten Pflanzenhöhen erreichte innerhalb des ersten Saatzeitpunkts (S1) die Variante, die mit 80 kg N ha⁻¹ Hornmehl gedüngt wurde (Endhöhe am 22.06.18: 123,2 cm, p<0.05). Zum zweiten Saattermin (S2) war kein durchgängig signifikanter Einfluss des N-Düngers messbar. Diese Tendenzen sind auch bei Trockenmasse und Blattflächenindex nachzuverfolgen. Bis Mitte April unterschieden sich die Pflanzenhöhen aufgrund des Saattermins zugunsten der früh gesäten Varianten über alle Düngevarianten hinweg signifikant. Anschließend gleichen sich die Höhen, mit Ausnahme der mit 80 kg N ha⁻¹ gedüngten Varianten, an. Der Saattermin beeinflusste auch die Trockenmasse, die bis Mitte April häufig signifikant über denen des zweiten Saattermins lag (Variante 80 kg N ha⁻¹: 7,22 g m⁻² (S1) & 2,08 g m⁻² (S2) am 28.03.2018). In Bezug auf die Parameter des Pflanzenwachstums zeigt sich somit eine tendenzielle bis signifikante Überlegenheit der höheren N-Düngung in Form von Hornmehl. Mit Hilfe von Ertragsdaten lassen sich womöglich weitere Effekte abbilden.

Stichwörter: Saatzeitpunkt, Düngung, Stickstoff, Pflanzenwachstum, Ertrag

Abstract

Experience in the biological cultivation of poppy in Germany, especially when sown in autumn, is small. That is why research is needed concerning yield stability, weed management and nutrition and is the reason for this study that deals with different seeding dates and varying nitrogen nutrition and their effects on plant development and yield. The chosen fertilizer was horn meal in small (0-1 mm) and coarse grained (4-7 mm) particle sizes. Both were applied either with 30 kg N ha⁻¹ or 80 kg ha⁻¹. Plant height of the first seeding date (S1) was highest for the variety that received 80 kg N ha⁻¹ small grained horn meal (Final height on 22.06.18: 123,2 cm, p<0.05). No continuously significant influence of the N-fertilization was determined for plants sown on the second seeding date (S2). These tendencies are also shown in the data of dry matter and leaf area index. Until mid of May significant differences in plant height due to seeding date could be seen in all fertilization varieties. In the following months height converged to similar levels, an exception made the varieties fertilized with 80 kg ha⁻¹ of horn meal. Seeding date also had an influence on dry matter that was significantly higher for the early sown plants until the mid of April (Variety 80 kg N ha⁻¹: 7,22 g m⁻² (S1) & 2,08 g m⁻² (S2) on March 28th 2018). Concerning the agronomic parameters of plant development tendencies are shown towards an advantage of high N-fertilization in the form of horn meal. Including yield data will probably reveal further effects.

Keywords: Seeding Date, Fertilization, Nitrogen, Plant growth, yield

Einleitung

Die Nutzung von Schlafmohn als Speisemohn hat in Europa lange Tradition. Der Mohn wird in der Verarbeitung hauptsächlich zu Backwaren oder Ölprodukten verwendet (DOBOS ET AL. 2009). Mit ca. 165 ha (BUNDESOPIMUMSTELLE 2017) ist die Anbaufläche in Deutschland eher gering, besonders der Wintermohnanbau ist im Vergleich zum Sommermohn wenig etabliert. Für den Anbau zugelassen sind insgesamt drei morphinarme Sorten, für die eine betriebsspezifische Anbaugenehmigung nach Betäubungsmittelrecht vorliegen muss. Als zugelassene Wintermohnsorte steht nur „Zeno Morpex“ zur Verfügung.

Der Wintermohnanbau kann einen Ertragsvorteil und höhere Ölgehalte gegenüber dem Sommermohn bieten (CHIZZOLLA UND DOBOS 2007; DOBOS ET AL. 2009). Voraussetzung dafür ist ein unkräuterner, ausreichend entwickelter Bestand vor dem Winter. Diese Ziele stehen im Konflikt miteinander und hängen unter anderem vom Aussaattermin ab. Mit späterer Aussaat wird die Möglichkeit geschaffen, durch vorhergehende intensive Bodenbearbeitung den Unkrautdruck zu senken. Dies ist wichtig, da der Mohn aufgrund seiner langsamen Jugendentwicklung wenig Konkurrenzkraft gegenüber Unkräutern aufweist (LUGINBÜHL 2013). Insbesondere im ökologischen Anbau, der auf maschinelle oder manuelle Unkrautbekämpfung angewiesen ist, stehen präventive Maßnahmen der indirekten Unkrautregulierung vor der Saat im Vordergrund (KUCHTOVA ET AL. 2010). Mit späterer Aussaat steigt dagegen das Risiko, keinen kräftigen Bestand mehr vor dem Winter etablieren zu können. Mit der Wahl eines früheren Saatzeitpunkts wird dem Mohn ein Entwicklungsvorsprung ermöglicht, der sich positiv auf die Ertragsicherheit auswirkt (ZAJAC ET AL. 2011). Da der Übergang von vegetativer zu generativer Entwicklung photoperiodisch mit dem Wechsel zum Langtag erfolgt, begünstigt ein früher Saattermin zudem eine ausreichende Bestockung vor diesem Zeitpunkt. Demnach besteht Bedarf, den optimalen Zeitpunkt zur Bestandsentwicklung standortspezifisch zu ermitteln.

Der Nährstoffbedarf des Mohns wird unterschiedlich beziffert (54-65 kg N ha⁻¹ DOBOS ET AL. 2009; 71,4 kg N ha⁻¹ EDELBAUER UND STANGL 1993; 60-80 kg N ha⁻¹ HEEGER 1989). Von Bedeutung ist jedoch, dass dem Mohn frühzeitig zur Bestockungsphase im März/April Stickstoff zur Verfügung steht, um die Ertragsleistung zu erhöhen (CHIZZOLLA UND DOBOS 2007; LOSAK 2005). Dies ist aufgrund geringer Mineralisierungsraten im zeitigen Frühjahr meist erschwert, im ökologischen Anbau fehlt zusätzlich die Möglichkeit einer mineralischen Düngung. Deshalb soll durch die Wahl verschieden schnell verfügbarer organischer Stickstoffdüngemittel und -düngemengen eine Annäherung des Bedarfs erfolgen.

Material und Methoden

Die pflanzenbaulichen Erhebungen wurden am Wiesengut in Hennef in einem Exaktversuch im Freiland, beginnend im Jahr 2017, durchgeführt. Das Wiesengut liegt bei 65 m über NN in den Niederungen der Sieg. Die Böden sind durch die Flussnähe schwankenden Grundwasserständen ausgesetzt und als Auensedimentböden lehmig-schluffig. Die Jahresdurchschnittstemperatur beträgt 10,3°C und es fallen im Mittel 840 mm pro Jahr Niederschlag. Zu zwei Saatterminen (26.09.2017; 16.10.2017) wurde die Wintermohnsorte „Zeno Morpex“ mit einer Saatstärke von 1,1 kg ha⁻¹ in Reihen auf 50 cm Abstand ausgesät. Die Düngung erfolgte am 27.03.2018 mit Hornmehl (0-1 mm) oder Hornspänen(4-7 mm) in je zwei Höhen (30 kg N ha⁻¹; 80 kg N ha⁻¹). Demnach ergaben sich 8 Varianten, die in 30 m² großen Parzellen je vierfach wiederholt wurden (s. Tab. 1)

Tab. 1 Saatzeitpunkt- und Düngevarianten im Wintermohnversuch 2017/18**Tab. 1** Seeding date and fertilizer varieties of the winter poppy trial 2017/18

Variante	Saatzeitpunkt	Düngemittel	Düngemenge
S1D1	26.09.2017	Hornmehl	30 kg ha ⁻¹
S1D2	26.09.2017	Hornmehl	80 kg ha ⁻¹
S1D3	26.09.2017	Hornspäne	30 kg ha ⁻¹
S1D4	26.09.2017	Hornspäne	80 kg ha ⁻¹
S2D1	16.10.2017	Hornmehl	30 kg ha ⁻¹
S2D2	16.10.2017	Hornmehl	80 kg ha ⁻¹
S2D3	16.10.2017	Hornspäne	30 kg ha ⁻¹
S2D4	16.10.2017	Hornspäne	80 kg ha ⁻¹

Die Pflanzenentwicklung wurde in zweiwöchigen Intervallen anhand der folgenden Parameter dokumentiert:

- Pflanzenhöhe: Messung an 5 Pflanzen pro Parzelle,
- Blattflächenindex: Messung der Blattfläche aller Pflanzen auf 0,1 m² pro Parzelle mittels LI-3100C Area Meter der Firma Li-Cor auf 1 m²,
- Frisch- und Trockenmasse von Zeiternteproben: Wiegung der oberirdischen Pflanzenmasse (geerntet auf 0,1 m² pro Parzelle), Trocknung für 48 h bei 40°C und anschließende Rückwaage.

Zusätzlich wurden zu Beginn Feldaufgang, Unkrautdeckungsgrad und Unkrautartenspektrum, im Verlauf der Chlorophyllgehalt, Entwicklungsstadium und die Bestandesdichte sowie zur Ernte der Kapselertrag und der Gesamtdruschertrag erfasst.

Statistische Verrechnungen erfolgten mit der Software „SPSS 20“. Unterschiede zwischen den Düngevarianten wurden innerhalb eines Saatzeitpunkts mittels einfaktorierlicher Varianzanalyse (ANOVA) berechnet. Der Einfluss des Saatzeitpunkts auf das Pflanzenwachstum wurde mittels Mittelwertvergleich (t-Test) zwischen den jeweils korrespondierenden Düngevarianten ermittelt.

Ergebnisse

Das Pflanzenwachstum von "Zeno Morphex" ist anhand der Verläufe von Trockenmasse (Abb. 1) und Pflanzenhöhe (Abb. 2) dargestellt. Zu Winterbeginn 2017 waren die Pflanzen des zweiten Saattermins mit durchschnittlich 5,66 cm Höhe im Schnitt 8,66 cm niedriger als die des ersten Saattermins. Dieser Unterschied wurde im Wachstumsverlauf zunehmend geringer, sodass ab Mitte April kein Höhenunterschied zwischen den Saatterminen mehr zu erkennen war. Im weiteren Vegetationsverlauf konnte dann eine Differenzierung zwischen den verschiedenen Düngevarianten beobachtet werden.

Um den Einfluss der Düngung auf die Pflanzenentwicklung zu ermitteln, wurden die Parameter Pflanzenhöhe, Trockenmasse und Blattflächenindex innerhalb eines Saattermins varianzanalytisch verglichen (ANOVA). Dabei wies unter den Parzellen des ersten Saattermins die Variante S1D2 an vier von sechs Messterminen eine signifikant größere Pflanzenhöhe auf ($p < 0.05$), sie betrug dort am 22.06.18 im Mittel 123,2 cm. Zum zweiten Saattermin war die Variante S2D2 am 23.04.19 deutlich größer als die übrigen Varianten ($\bar{\varnothing}$ 19 cm, $p < 0.05$). An allen anderen Messterminen konnten keine signifikanten Höhenunterschiede festgestellt werden. Der Einfluss des Saatzeitpunkts auf die Pflanzenhöhe zeigte sich in einem Vergleich mit der jeweilig selben Düngevariante gedüngten Parzellen (paarweise t-Tests). Zu den ersten beiden Messungen (13.04.18 / 23.04.18) waren die Ende September gesäten Pflanzen den im Oktober gesäten Pflanzen in jeder Düngestufe überlegen ($p < 0.05$). Danach glichen sich die Höhen so weit an, dass am 28.05.18, nach Ende der Blüte und zu Beginn der Samenreife am 22.06.18, nur noch die Varianten S1D2 und S2D2 signifikant unterschiedlich waren ($p < 0.05$).

Bei der Entwicklung der Trockenmasse zeigen sich ähnliche Tendenzen. Zum Zeitpunkt der Düngung lagen die Trockenmassewerte des ersten Saatzeitpunkts (\emptyset 713 g m⁻²) aufgrund des Wachstumsvorsprungs erwartungsgemäß über denen des zweiten Saatzeitpunkts (\emptyset 242 g m⁻²). Im Laufe der Vegetationsperiode entwickelten sich die einzelnen Varianten dann zunehmend unterschiedlich. Betrachtet man die beiden Saatzeitpunkte für sich, kann kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Düngevarianten nachgewiesen werden (ANOVA). Trotzdem zeigt sich die Variante S1D2 (633,67 g m⁻²) vor Beginn des generativen Wachstums (14.05.18) gegenüber S1D1 (533,00 g m⁻²), S1D3 (342,34 g m⁻²) und S1D4 (362,67 g m⁻²) überlegen. Auch beim zweiten Saattermin weist Ende Mai die Variante S2D2 im Vergleich die größte Trockenmasse auf, im Mittel 515,00 g m⁻².

Am Tag nach der Düngung (28.03.18) bestand zwischen den jeweils mit dem gleichen Dünger versorgten Varianten S1D2 und S2D2, sowie S1D4 und S2D4 ein signifikanter Unterschied in der Trockenmassebildung (t-Test, p<0.05). Hier zeigte sich der Einfluss des Saattermins und der damit zusammenhängende Entwicklungsvorsprung der früh gesäten Pflanzen. Zum 13.04.18 ist bei Variante S1D3 gegenüber S2D3 ebenfalls ein signifikanter Unterschied messbar (p<0.05). Zu den darauf folgenden Terminen können keine Unterschiede mehr in der Massebildung zwischen den einzelnen Düngevarianten festgestellt werden.

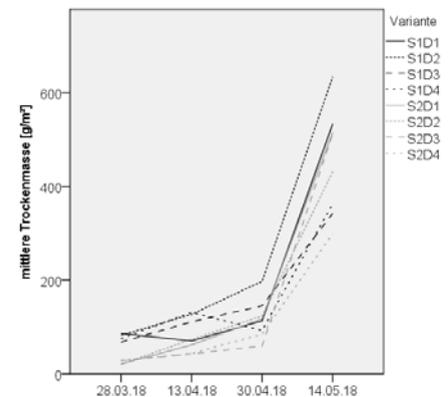


Abb. 1 Mittlere oberirdische Trockenmasse [g m⁻²] der Saatzeitpunkt- und Düngevarianten von Wintermohn (geerntet jeweils auf 0,1 m²) im Zeitverlauf.

Fig. 1 Mean above-ground dry matter weight [g m⁻²] of the poppy variations (seeding date and fertilization, collected on 0,1 m²) over time.

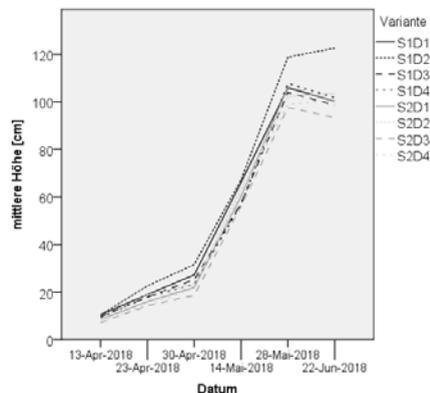


Abb. 2 Mittlere Pflanzenhöhen [cm] der Saatzeitpunkt- und Düngevarianten von Wintermohn von Mitte April bis Mitte Juni 2018.

Fig. 2 Mean plant height [cm] of the poppy variations (seeding date and fertilization) from April to June 2018.

Mittels Messung der Blattfläche auf 0,1 m² Bodenfläche konnte der Blattflächenindex der einzelnen Varianten errechnet werden (s. Tab. 1). Ab dem 30.4.18 wurde bei allen Varianten eine größere Blattfläche als Bodenfläche (BFI > 1) gemessen, was die langsame Jugendentwicklung des Mohns deutlich macht. Hier zeigte sich schon früh die größere Blattmassenbildung der Variante S1D2, die durchgängig die höchsten Messwerte lieferte. Die mittels Varianzanalyse ermittelten Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Nach dem 14.05.18 wechselten die Pflanzen bestandsübergreifend von der generativen zur vegetativen Entwicklung, weshalb mit beginnendem Blattfall nach diesem Termin ein rückläufiger BFI über alle Varianten beobachtet wurde, der jedoch nicht nachweisbar gemessen werden konnte.

Zusammen mit den Resultaten der Höhenmessung und Trockenmassebestimmung deuten die Ergebnisse daraufhin, dass bis Mitte April 2018 die Pflanzen des ersten Saattermins einen Wachstumsvorsprung vor den später gesäten Pflanzen aufwiesen, der sich bis zur Abreife anglich.

Die Auswirkung einer erhöhten Stickstoffgabe ist vor allem bei Pflanzen der frühen Aussaat sichtbar, was für einen größeren N-Bedarf zum Düngzeitpunkt oder eine bessere Verwertung des Düngers dieser Pflanzen zu diesem Zeitpunkt spricht. Dieser Effekt ist vor allem für die mit 80 kg N ha⁻¹ Hornmehl gedüngte Variante S1D2 signifikant messbar ($p < 0.05$) und tendenziell auch bei den anderen Hornmehldüngestufen zu sehen. Das unterstreicht, dass der Mohn von der potentiell schnelleren Verfügbarkeit des Stickstoffs aus der Hornmehlumsetzung profitiert. Möglicherweise können anhand der Ertragsdaten (voraussichtlicher Druschtermin Ende Juli 2018) weitere Effekte abgebildet werden.

Tab. 2 Mittlerer Blattflächenindex (BFI) der 8 Varianten zu vier Messterminen. Graue Markierungen zeigen den jeweils höchsten Messwert zum jeweiligen Datum (arithmetisches Mittel aus je 4 Parzellen pro Datum pro Variante)

Tab. 2 Mean Leaf Area Index (LAI). Grey markings indicate the highest values for the specific date (Arithmetic mean of 4 values per variety per sampling date)

	S1D1			S1D2			S1D3		
Datum	18.4	30.4	14.5	18.4	30.4	14.5	18.4	30.4	14.5
BFI/LAI	0,77 ±0,15	1,82 ±0,88	3,36 ±1,18	0,78 ±0,34	2,49 ±1,70	4,74 ±2,14	0,44 ±0,22	1,7 ±0,51	2,41 ±0,33
	S1D4			S2D1			S2D2		
Datum	18.4	30.4	14.5	18.4	30.4	14.5	18.4	30.4	14.5
BFI/LAI	0,56 ±0,19	1,27 ±0,67	3,26 ±1,13	0,39 ±0,19	1,28 ±0,89	2,92 ±1,46	0,51 ±0,13	1,79 ±0,58	3,94 ±1,62
	S2D3			S2D4					
Datum	18.4	30.4	14.5	18.4	30.4	14.5			
BFI/LAI	0,39 ±0,10	1,20 ±0,57	3,59 ±1,28	0,35 ±0,10	1,62 ±0,61	3,08 ±0,47			

Die Daten wurden im Rahmen des von der DBU geförderten REGIO-Mohn Projekts erhoben (DBU Projekt 33936/01).

Literatur

- Bundesopiumstelle, 2017. Mündliche Auskunft.
- Chizolla, R. und Dobos, G., 2007. Ertrag und Nährstoffentzug von Winter- und Sommermohnsorten (*Papaver somniferum* L.). Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzenforschung 12(1):163, 30-36 S.
- Dobos, G., Lohwasser, U., Schliephake, E. und Schmatz, R., 2009. Mohn (*Papaver somniferum* L.) in Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus Band 4: Anbauanleitungen Arznei- und Gewürzpflanzen Teil I. Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen SALUPLANTA e.V., Bernburg. 174-191 S.
- Edelbauer, A. und Stangl, J., 1993. Nutrient removal of the Waldviertler Graumohn (*Papaver somniferum* L.) during vegetation period. Bodenkultur 44, 15-27 S.
- Heeger, Dr. E.F., 1989: Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus. Drogengewinnung. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin. 556-572 S.
- Kuchtová, P., Plachká, E., Hájková, M., Kazda, J., Dvorák, P., 2010. Results of trials with poppy seed (*Papaver somniferum* L.) in organic and integrated production technology. Pestovateľské technológie pre prax, Centrum výskumu rastlinnej výroby, Piešťany, 8-14 S.
- Losak, T. und Palenicek, L., 2005. Using nitrogen and sulphur for the poppy (*Papaver somniferum* L.) nutrition. Rosliny Oleiste – Oilseed Crops. Tom XXVI, 261-268 S.
- Luginbühl (2013). Traditioneller Schlafmohnanbau in der Schweiz – eine Literaturstudie. Nationaler Aktionsplan zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung der pflanzengenetischen Ressourcen, Agroscope Reckenholz-Tänikon.
- Zajac, T., Oleksy, A., Klimek-Kopyra, A., 2011. Comparison of growth and productivity of the low morphine poppy *Papaver somniferum* L. cv. Mieszko depending on the sowing date. Acta Agrobotanica Vol. 64, 67-78 S.

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

FSL 23 Anfälligkeit von Johanniskraut (*Hypericum perforatum*) gegenüber dem Welkeerger *Colletotrichum gloeosporioides* - Gesamtauswertung mehrerer Resistenzprüfungen-



Susanne Wahl¹, Anja van Hamme², Andreas Plescher¹, Michaela Feldevert-Höveler¹

¹Pharmaplant GmbH, Am Westbahnhof 4, 06556 Artern/ Unstrut, Germany, info@pharmaplant.de, Tel. 03466-32560

²Martin Bauer GmbH & Co. KG, Bahnhofstraße 2, 25486 Alveslohe, Germany, anja.van-hamme@martinbauer.de, Tel. 04193-902145

DOI 10.5073/jka.2018.460.023

Zusammenfassung

Der Krankheitsverlauf von sechs Sorten und einem Stamm Johanniskraut (*Hypericum perforatum*) gegenüber dem Welkeerger *Colletotrichum gloeosporioides* nach künstlicher Inokulation im Untersuchungsjahr 2017 wird dargestellt. Die aktuell beobachteten Resistenzeigenschaften werden mit den Ergebnissen früherer Prüfungen verglichen. In einer Gesamtauswertung werden Ergebnisse von 13 Sorten und einem Stamm zusammengetragen.

Stichwörter: Johanniskraut, Rotwelke, *Hypericum perforatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*

Einleitung

Im Anbau von Johanniskraut (*Hypericum perforatum*) spielt die Rotwelke mit ihrem Erreger *Colletotrichum gloeosporioides* fortwährend eine bedeutende Rolle. Die Gefahr liegt in einem kurzphasigen Zusammenfall von Beständen mit bis zu 100- prozentigem Ertragsverlust. Im Anbau stehen verschiedene Sorten zur Auswahl. Für einige Sorten liegen Ergebnisse aus früheren Untersuchungen zur Anfälligkeit gegen Rotwelke vor. So gilt die Sorte ‚Hyperixtrakt‘ als nur gering anfällig, ‚Motiv‘ hingegen kann stark befallen werden.

Die Pharmaplant GmbH führte gemeinsam mit der Martin Bauer GmbH & Co. KG im Jahr 2017 eine Resistenzprüfung gegenüber dem Welkeerger an sechs Sorten und einem Stamm Johanniskraut durch. Ziel der Untersuchung war es, die Anfälligkeit der aktuell in Nutzung befindlichen Sorten zu erfassen und anschließend in einer Gesamtstudie einen Vergleich zu früheren Prüfungen vorzunehmen. Weitere Werteigenschaften wurden nicht berücksichtigt.

Material und Methoden

In der Versuchsanstellung 2017 wurde das Ausgangssaatgut einer fungiziden Entseuchung unterzogen. Weitere Pflanzenschutzmittel wurden nicht eingesetzt. Es fand eine Herbstpflanzung statt. Die Unkrautbeseitigung erfolgte manuell. Jede Versuchsparzelle umfasste 30 Pflanzen auf einer Fläche von 7,5 m². Es wurden 3 Wiederholungen als Blockanlage angelegt. Im Block wurden die Prüfglieder randomisiert. Die Inokulation erfolgte im Bestand. Das Inokulum wurde an infizierten Pflanzen durch Abwaschen gewonnen. Während des Streckungswachstums der Sprosse (BBCH 32- 36) im Frühjahr wurden jeweils 4 Pflanzen der Parzellenmitte mit je 100 ml Inokulum übergossen. Innerhalb der Vegetationsperiode wurden mehrere Bonituren durchgeführt.

Es wurden Wertprüfungen des Bundessortenamtes (2000- 2002) und der Pharmaplant GmbH (2002/2003 und 2016/ 2017) sowie ein Resistenztest an Jungpflanzen der Biologischen Bundesanstalt (2002) in einer Gesamtstudie ausgewertet. Zur Vergleichbarkeit der auf

verschiedene Art erhobenen Boniturdaten früherer Prüfungen, wurden diese auf eine 9teilige Bewertungsskala vereinheitlicht. Gleichfalls wurden die zugehörigen verbalen Merkmalsbeschreibungen neu formuliert. Zur Auswertung lagen Daten von 13 Sorten und einem Stamm vor. Für 6 Sorten konnten die Ergebnisse aus mindestens 4 Prüfungen einfließen. Von weiteren 7 Sorten und 1 Stamm lagen Ergebnisse aus 1 bis 3 Prüfungen vor.

Ergebnisse

In der Versuchsanstellung 2017 traten erste Symptome zum Zeitpunkt des ersten Ernteschnittes im Bereich der inokulierten Pflanzen auf. Es erfolgten jedoch auch Spontaninfektionen z.B. an Rand- und Eckenpflanzen. Die stärksten Krankheitssymptome, mit letztlich vollständigem Absterben der Pflanzen ab Anfang September, zeigte die Sorte ‚Motiv‘. Nur eine sehr geringe Infektion zeigten ‚Hyperixtrakt‘ und Stamm ‚Nr. 39 HUB‘. Mit einer auffällig verzögerten Blütenentwicklung erscheint ‚Stamm 39 HUB‘ jedoch für einen Anbau in Deutschland nicht gut geeignet. Biometrisch lässt sich nur die Sorte ‚Motiv‘ gegenüber den anderen Sorten signifikant abgrenzen, da die Streubreiten der Boniturergebnisse innerhalb der Wiederholungen sehr groß ausfielen.

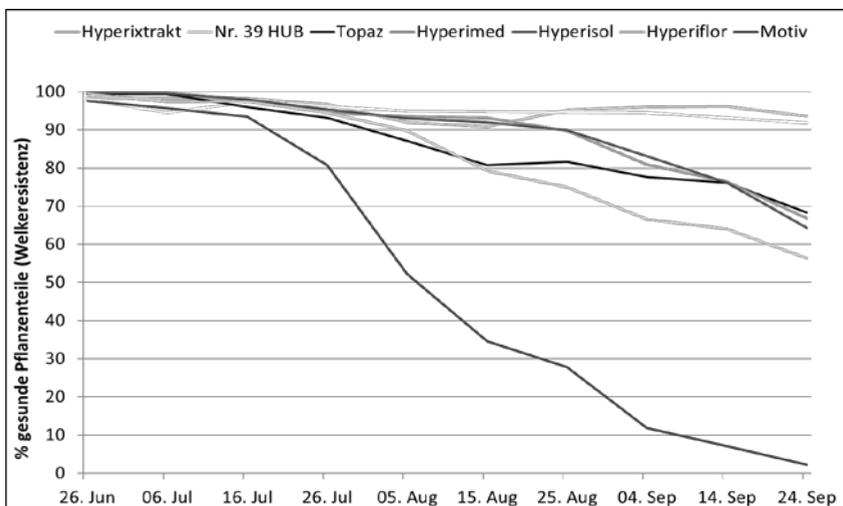


Abb. 1. Krankheitsverlauf der getesteten Sorten von *Hypericum perforatum* im Versuchsjahr 2017 am Standort Arten/ Thüringen, Untersuchungszeitraum: 45 bis 135 Tage nach Inokulation.

Die durchgeführte Vereinheitlichung der Boniturskalen birgt ein gewisses Risiko nachträglicher Ungenauigkeit aufgrund irrtümlich unpräziser Verschiebungen, vor allem bei Datenerhebungen mittels kürzerer Maßsysteme. Die Gesamtstudie bietet einen positiven Zugewinn aufgrund ihres gebündelten Informationsgehaltes und führt zu einer relativ sicheren und eindeutigen Abstufung der Resistenzeigenschaften der Johanniskrautsorten. Innerhalb der Gesamtbewertung konnten als nicht bis gering anfällig der Stamm ‚Nr. 39 HUB‘ sowie die Sorten ‚Vitan‘, ‚Hyperixtract‘ und ‚Hyperivo‘ ermittelt werden. Ähnlich mangelhafte Resistenzeigenschaften wie bei ‚Motiv‘ ergaben sich auch für ‚Anthos‘ und ‚Hyperigold‘.

Tab. 1 Gesamtauswertung mehrerer Resistenzprüfungen an Johanniskrautsorten auf Anfälligkeit gegenüber dem Welkeerger *Colletotrichum gloeosporioides*
(zur Vergleichbarkeit wurden die verschieden angewendeten Boniturschlüssel auf eine 9teilige Bewertungsskala nominiert, 1= total anfällig bis 9= nicht anfällig/ resistent)

Sorte/ Stamm	Welkeresistenz bzw. -toleranz, Boniturnote (9= resistent, 1= total anfällig)	Gesamtbewertung der Welketoleranz (verbal)
,Nr. 39 HUB'	8,09	
,Vitan'	7,25	
,Hyperixtrakt'	7,11	nicht bis gering anfällig
,Hyperivo'	7,00	
,Hyperipharm'	6,42	
,Taubertal'	6,40	gering bis mittel anfällig
,Topaz'	6,16	
,Upericon'	4,75	
,Hyperisol'	4,64	
,Hyperimed'	4,29	mittel bis stark anfällig
,Hyperiflor'	3,95	
,Anthos'	3,25	
,Motiv'	2,08	sehr stark anfällig
,Hyperigold'	1,00	

Literatur

- BUNDESSORTENAMT, 2002: Beschreibende Sortenliste Arznei- und Gewürzpflanzen. Deutscher Landwirtschaftsverlag. Hannover:196 S.
- SCHENK, R. UND U. GÄRBER, 2002. *Colletotrichum cf. gloeosporioides* an Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.), 4. Teil: Resistenzprüfung von Johanniskrautsorten und -stämmen. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 54 (4), 86–91.
- TRAUTWEIN, F. UND U. GÄRBER, 2005. Ergebnisse von Sortenprüfungen mit Johanniskraut (*Hypericum perforatum*). Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.57 (4), 69–73.

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

FSL 24 Kamilleanbau in Deutschland – Gefährdung durch unbekanntem Pilz



Cultivation of Chamomile in Germany - Threat by unknown fungus

Katja Sommerfeld¹, Monika Götz², Ute Gärber¹

¹Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Stahnsdorfer Damm 81, D-14532 Kleinmachnow, E-Mail: katja.sommerfeld@julius-kuehn.de

²Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Messeweg 11/12, D-38104 Braunschweig

DOI 10.5073/jka.2018.460.024

Zusammenfassung

Seit 2007 wurde in den Kamillebeständen in Thüringen ein vermehrtes Auftreten von Krankheitssymptomen beobachtet, deren Ursache unklar war. Neben tierischen Schaderregern wurden verschiedene pilzliche Pathogene, vorrangig *Septoria* sp. und ein unbekannter Pilz (UBK), sowie weitere Pathogene wie *Golovinomyces cichoracearum* var. *cichoracearum* (Echter Mehltau), *Paraperonospora leptosperma* (Falscher Mehltau), *Puccinia matricariae* (Rost) und *Colletotrichum* sp. an Kamillebeständen in Thüringen aufgefunden. Die Bedeutung des unbekanntem Pilzes für das Schadausmaß an Kamille war unklar und Hinweise aus der Literatur lagen nicht vor.

In molekularbiologischen Untersuchungen konnte die *Septoria*-Art eindeutig als *Septoria matricariae* identifiziert werden. Der unbekanntem Pilz UBK wird der Abteilung der Ascomyceten mit der Ordnung Helotiales zugeordnet.

Stichwörter: Kamille, *Matricaria recutita*, Krankheit, Pathogen, Ascomyceten, Helotiales

Abstract

Since 2007, an increased incidence of disease symptoms had been observed in the chamomile stocks in Thuringia, the cause of which was unclear. In addition to animal pathogens, various fungal pathogens, primarily *Septoria* sp. and an unknown fungus (UBK), had been found on chamomile stocks in Thuringia as well as pathogens such as *Golovinomyces cichoracearum* var. *cichoracearum* (powdery mildew), *Paraperonospora leptosperma* (powdery mildew), *Puccinia matricariae* (rust) and *Colletotrichum* sp. The importance of the unknown fungus for the damage level of chamomile was unclear. References from the literature were not available.

In molecular biological studies, the *Septoria* species was clearly identified as *Septoria matricariae*. The unknown fungus UBK is assigned to the division of the ascomycetes with the order helotiales.

Keywords: chamomile, *Matricaria recutita*, diseases, pathogen, ascomycete, helotiales

Einleitung

Die Kamille, *Matricaria recutita* L., ist eine der wirtschaftlich bedeutendsten Arzneipflanzen mit einer Anbaufläche von rund 1150 ha, wobei das Hauptanbaugebiet mit 1030 ha in Thüringen liegt (Plescher und Schmitz, 2012). Im Anbau der Kamille zeigt sich seit den 90er Jahren eine rückläufige Ertragsentwicklung. Ursachen sind unter anderem auf eine technisch-technologische Stagnation und auf das Auftreten früher nicht beobachteter „neuer“ Krankheiten zurückzuführen. Dabei galt die Kamille bis in die frühen 2000er Jahre als eine im Anbau unproblematische Heilpflanze. Seit 2007 wurde in den Kamillebeständen in Thüringen ein vermehrtes Auftreten von Krankheitssymptomen beobachtet, deren Ursache unklar war. Aufgrund der schnell zunehmenden Schäden in den Beständen war häufig eine zweite Kamillepflücke nicht mehr möglich. In ersten Untersuchungen am Julius Kühn-Institut und der Pharmaplant GmbH zeigte sich, dass die Schadensursachen sehr komplex sind und sowohl pilzliche als auch tierische

Schaderreger am Schaden beteiligt sind (Gärber et al., 2013). Als potentielle pilzliche Schaderreger wurde neben *Septoria* sp. ein an Kamille bislang noch nicht diagnostizierter, unbekannter Pilz detektiert.

In der vorliegenden Arbeit stand daher der unbekannte Pilz UBK neben *Septoria* sp. im Fokus weiterer Untersuchungen.

Material und Methoden

Der unbekannte Pilz und *S. matriariae* konnten aus kranken Pflanzen verschiedener Kamilleschläge in Thüringen isoliert und eine Pathogenbank aufgebaut werden. Dazu wurden die Pilze auf verschiedenen Nährmedien wie PDA (*Potatho Dextrose Agar*), MYP (*Malt Yeast Pepton*) und KAM-Agar (Kamille) kultiviert (15°C - 20°C, 14 µmol Licht) und Reinkulturen erzeugt. Zur Identifizierung des unbekanntes Pilzes UBK und der Verbreitung wurden Klimakammerversuche mit sechs Wochen alten Kamille-Pflanzen (18 °C, 12 h 122 µmol Licht) durchgeführt. Mit Isolaten des unbekanntes Pilzes wurden diese Pflanzen anschließend mit einem Aerosol erzeugenden Zerstäubers inokuliert und die Pflanze wöchentlich auf Symptome untersucht. Der gleiche Versuchsablauf wurde für *S. matricariae* verwendet.

Zur molekularbiologischen Identifikation der pilzlichen Pathogene wurden ITS, LSU, β -Tubulin und Translationelongationsfaktor 1 α Sequenzen verwendet.

Ergebnisse

Beobachtungen in der Praxis zeigten, dass ein Erstbefall mit dem unbekanntes Pilz in der Vegetationsperiode sehr zeitig vorkommt, teilweise schon im Herbst kurz nach der Aussaat (November), wobei der Befall flächendeckend nachweisbar ist. Wird die Krankheit erst im Frühjahr diagnostiziert, sind die Symptome leicht mit einem Frostschaden zu verwechseln, da der Pilz Verbräunungen verursacht. Der Befall ist bei bereits geschlossenem Bestand in der Kamille nicht immer sofort sichtbar, da der Befallsbeginn an den unteren Blättern stattfindet. Sind die Wachstumsbedingungen im Feld günstig für die Kamille, ist diese in der Lage dem Pilz „davon zu wachsen“. Ist dies nicht der Fall, etabliert und verbreitet sich der Pilz im Bestand und bildet auf verbräunten Fiederblättern und Stängeln Sporenlager, aus denen die neuen Sporengenerationen freigesetzt werden. Die Diagnose auf Befall des unbekanntes Pilzes, sowie das Schadausmaß auf dem Feld ist schwierig einzuschätzen, da pilzliche Pathogene oft ähnliche Symptome wie Verbräunungen verursachen. Damit ist eine Untersuchung der Pflanzen im Labor zur eindeutigen Identifikation des unbekanntes Pilzes unabdingbar, da dort die Verbräunungen der Pflanzen auf Sporenlager des unbekanntes Pilz untersucht werden können.

Zu Beginn des Projekts stand die Isolation des Pilzes im Labor und die Anlage einer Stammbank im Vordergrund, um verschiedene Untersuchungen zur Biologie und molekularbiologischen Identifikation durchführen zu können. Mit verschiedenen Isolaten wurde anschließend Infektionsversuche durchgeführt in denen das natürliche Schadbild mit seinen charakteristischen Merkmalen unter Laborbedingungen erzeugt werden konnte. Der Pilz konnte aus den künstlich infizierten Kamillepflanzen reisoliert werden. Damit wurden die Koch'schen Postulate (Loeffler, 1884) erfüllt und der Nachweis erbracht, dass es sich bei dem unbekanntes Pilz um ein Pathogen handelt.

Bei den parallel durchgeführten molekularbiologischen Untersuchungen am Julius Kühn-Institut wurde der unbekannte Pilz mit Hilfe von Sequenzanalysen den Ascomyceten, der Ordnung Helotiales und der Gattung *Rhexocercosporidium*-artigen zugeordnet. Eine telomorphe Form konnte trotz Testung verschiedenster Bedingungen noch nicht identifiziert werden.

Erste Untersuchungen zur Biologie von UBK zeigten, dass der Pilz ein breites Temperaturspektrum von 5 °C bis 25 °C abdeckt, in dem er in der Lage ist zu wachsen. Das Optimum für Wachstum und

Vermehrung liegt bei 15 °C bis 20 °C. Jedoch auch bei niedrigen Temperaturen unter null Grad Celsius verliert der Pilz nicht an Vitalität und kann somit sehr gut an Pflanzenresten auf dem Feld überwintern. Zur Sporulation braucht der Pilz ausreichend Feuchte. Leichte Regenschauer und milde Temperaturen fördern die Sporulation, wohingegen starke Regengüsse und auch hohe Temperaturen mit geringer Luftfeuchte sich offensichtlich negativ auf die Sporulation auswirken, da der Pilz abgewaschen bzw. in seinem Wachstum gehemmt wird. Der Pilz ist leicht mit Wind von einem Feld auf das andere übertragbar. So wurde in der Praxis eine schnelle Ausbreitung des Pilzes von einem befallenen Kamillebestand auf benachbarte befallsfreie Kamille festgestellt, die auf einem Feld kultiviert wurde, auf der noch nie Kamille stand.

Betrachtet man das Vorkommen des unbekanntes Pilzes deutschlandweit, ist Thüringen, das Hauptanbaugebiet der Kamille, am stärksten betroffen. In anderen Bundesländer (Sachsen, Nordrhein-Westfalen, Hessen) in denen Kamille angebaut wird, konnte der Pilz an einigen Standorten in geringer Häufigkeit nachgewiesen werden. In diesen Bundesländern ist die Anbauintensität der Kamille allerdings viel geringer.

Die *Septoria*-Isolate konnten molekularbiologisch als *Septoria matricariae* identifiziert werden. Pathogenitätstest lassen vermuten, dass *S. matricariae* trotz massenhaften Auftretens an den Blattspitzen und Blättern der Pflanzen im Schaderregerkomplex eine eher weniger bedeutende Rolle einnimmt.

Mit den Untersuchungen konnten erste wichtige Eckdaten zur Biologie und Verbreitung des unbekanntes Pilzes UBK erarbeitet werden. Diese sind die Basis, um für die Praxis nachhaltige Lösungen für Gegenmaßnahmen entwickeln zu können.

Ein besonderer Dank gilt der Firma Pharmaplant GmbH, insbesondere Frau Wahl, für die Probenahmen und den landwirtschaftlichen Betrieben, insbesondere Thüringen, und der anderen Bundesländer für ihre Unterstützung.

Literatur

- Gärber, U., Plescher, A., Hagedorn, G., 2013: Auftreten von Krankheiten und Schädigungen im Anbau von Kamille (*Matricaria recutita* L.). Zeitschrift für Arznei und Gewürzpflanzen 18 (3), 124-131.
- Loeffler, F., 1884: Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalb. Mitt. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, 2, 421-499.
- Plescher, A. und Schmitz, N., 2012: Stand des Anbaus von Arznei-, Gewürz-, Aroma-, Diät- und Kosmetikpflanzen in der Bundesrepublik Deutschland 2011. Unveröffentlichter Bericht an die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V.; 2012

Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

FSL 25 Pyrrolizidinalkaloide in *Senecio vulgaris* L. in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium unter Betrachtung verschiedener Jahreszeiten



Pyrrolizidine alkaloids in Senecio vulgaris L. depending on the stage of development, considering different seasons

Jens Flade*, Andreas Plescher^a, Wim Wätjen^b, Heidrun Beschow^b

*Korrespondierender Autor, Jens.Flade@gmx.de

^aPHARMAPLANT Arznei- und Gewürzpflanzen Forschungs- und Saatzucht GmbH, Am Westbahnhof 4, 06556 Artern

^bMartin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftliche Fakultät III, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften

DOI 10.5073/jka.2018.460.025

Zusammenfassung

Das Gewöhnliche Greiskraut (*Senecio vulgaris* L.) wird aufgrund seiner toxischen Inhaltsstoffe (Pyrrolizidinalkaloide, PAs) und seines enormen Verbreitungspotentials in landwirtschaftlichen Sonderkulturen als problematisch eingestuft (ROBINSON et al. 2003; BFR 2007; WIEDENFELD 2011; WIEDENFELD und EDGAR 2011). Aus experimentellen Arbeiten ist bekannt, dass die qualitativen und quantitativen Gehalte der PAs durch verschiedene Parameter determiniert werden (JOHNSON et al. 1985; HARTMANN und ZIMMER 1986; SCHAFFNER et al. 2003; BERENDONK et al. 2010; KARAM et al. 2011; CARVALHO et al. 2014; CHIZZOLA et al. 2015; NURINGTYAS et al. 2015).

Wir haben daher in Parzellenfreilandversuchen die Wachstumsparameter von *S. vulgaris* und den Gehalt an verschiedenen PAs hinsichtlich ontogenetischer Unterschiede in verschiedenen Jahreszeiten untersucht.

Wie bereits für andere *Senecio*-Arten gezeigt, wird auch in *S. vulgaris* der PA-Gehalt (PA-Gesamtsumme, tertiäre PAs und PA-N-oxide) je nach Jahreszeit durch das Entwicklungsstadium beeinflusst. Allgemein äußert sich die Tendenz, dass die PA-Konzentration bis zur Vollblüte ansteigt und nachfolgend zur Frucht- und Samenreife wieder abnimmt. Von den N-oxiden wurden jeweils höhere Gehalte als von den entsprechenden tertiären PAs gefunden. Senecionin-N-oxid zeigte die höchsten Gehalte, als weitere Leitalkaloide können Seneciphyllin-N-oxid, Senecionin, Seneciphyllin und Retrorsin-N-oxid charakterisiert werden. Die Einzelverbindungen werden in ihrer Konzentration unterschiedlich beeinflusst. Während einige PAs zu jeder Jahreszeit ontogenetisch verändert wurden (Retrorsin-N-oxid, Senecionin), konnte dieses für Senecivernin-N-oxid nicht nachgewiesen werden. Unsere Untersuchungen konnten zeigen, dass die PA-Menge in *S. vulgaris* deutlich durch fortschreitendes Wachstum bzw. Zunahme der Biomasse beeinflusst wird. Die Befunde stellen einen wichtigen Beitrag zur Risikobewertung von PAs als Prozesskontaminanten in Arznei- und Lebensmitteln dar.

Stichwörter: Senecio, Pyrrolizidinalkaloide, Ontogenese, Jahreszeit

Abstract

The common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) is a problematic weed because of its toxic compounds (pyrrolizidine alkaloids, PAs) and its enormous distribution potential in specialized crops (ROBINSON et al. 2003; BFR 2007; WIEDENFELD 2011; WIEDENFELD und EDGAR 2011). It is known from experimental work that the qualitative and quantitative contents of PAs are determined by various parameters (JOHNSON et al. 1985; HARTMANN und ZIMMER 1986; SCHAFFNER et al. 2003; BERENDONK et al. 2010; KARAM et al. 2011; CARVALHO et al. 2014; CHIZZOLA et al. 2015; NURINGTYAS et al. 2015).

During different seasons and in plot-field experiments we have examined the growth parameters and the amount of different PAs of *Senecio vulgaris* L. related to ontogenetic differences.

As already shown for other *Senecio* species, the PA content in *S. vulgaris* (PAs total, tertiary PAs and PA-N-oxides) is influenced by the developmental stage, depending on the season. In general, there is a tendency for the PA concentration to increase until full flowering and subsequently to decrease again for fruit and seed maturity. In each developmental stage contents of the N-oxides were higher than the corresponding tertiary

PAs. Senecionin-*N*-oxide showed the highest levels. Further main alkaloids are seneciphylline-*N*-oxide, senecionine, seneciphylline and retrorsin-*N*-oxide. The individual compounds are influenced differently in their concentration. While some PAs are always subject to a significant influence by ontogenesis (retrorsine-*N*-oxide, senecionine) influences for senecivernine-*N*-oxide could only be detected in one season. Our studies have shown that the amount of PA in *S. vulgaris* is largely determined by the increase in plant biomass. The findings represent an important contribution to the risk assessment of PAs as processing contaminants in pharmaceuticals and foods.

Keywords: senecio, pyrrolizidine alkaloids, ontogeny, seasons

Literatur

- Berendonk, C.; Cerff, D.; Hünting, K.; Wiedenfeld, H.; Becerra, J.; Kuschak, M., 2010: Pyrrolizidine alkaloid level in *Senecio jacobaea* and *Senecio erraticus* - the effect of plant organ and forage conservation. *Grassland science in Europe* 15. *Grassland in a changing world. Proceedings of the 23th general meeting of the European Grassland Federation*, Kiel, Germany, August 29th - September 2nd 2010. Duderstadt: Mecke Druck und Verlag, S. 669–671.
- BFR, 2007: Salatmischung mit Pyrrolizidinalkaloid-haltigem Greiskraut verunreinigt. Stellungnahme Nr. 028/2007 des BfR vom 10. Januar 2007.
- Carvalho, S.; Macel, M.; Mulder, P. P. J.; Skidmore, A.; van der Putten, Wim H., 2014: Chemical variation in *Jacobaea vulgaris* is influenced by the interaction of season and vegetation successional stage. *Phytochemistry* 99, 86–94. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.12.004
- Chizzola, R.; Bassler, G.; Kriechbaum, M.; Karrer, G., 2015: Pyrrolizidine alkaloid production of *Jacobaea aquatica* under different cutting regimes. *J Agric Food Chem* 63 (4), 1293–1299. DOI: 10.1021/jf5047927.
- Hartmann, T.; Zimmer, M., 1986: Organ-specific distribution and accumulation of pyrrolizidine alkaloids during the life history of two annual *Senecio* species. *J Plant Physiol* 122 (1), 67–80. DOI: 10.1016/S0176-1617(86)80085-2
- Johnson, A. E.; Molyneux, R. J.; Merrill, G. B., 1985: Chemistry of toxic range plants. Variation in pyrrolizidine alkaloid content of *Senecio*, *Amsinckia*, and *Crotalaria* species. *J Agric Food Chem* 33 (1), 50–55. DOI: 10.1021/jf00061a015.
- Karam, F. S. C.; Haraguchi, M.; Gardner, D. R., 2011: Seasonal variation in pyrrolizidine alkaloid concentration and plant development in *Senecio madagascariensis* Poir. (Asteraceae) in Brazil. In: F. Riet-Correa, J. Pfister, A. L. Schild und T. Wierenga (Hg.): *Poisoning by plants, mycotoxins and related toxins*. Wallingford: CAB, S. 179–185
- Nuringtyas, T. R.; Verpoorte, R.; Klinkhamer, P. G. L.; Choi; Young Hae; Leiss, K. A., 2015: Metabolomic study of diurnal variation on pyrrolizidine alkaloid from *Jacobaea* sp. hybrids. *Conference Proceedings 4th International Conference and Exhibition on Metabolomics & Systems Biology*, 27.-29.04.2015. Philadelphia, USA. In: *Metabolomics (Los Angel)*, Posters - Accepted Abstracts.
- Robinson, D. E.; O'Donovan, J. T.; Sharma, M. P.; Doohan, D. J.; Figueroa, R., 2003: The biology of Canadian weeds. 123. *Senecio vulgaris* L. *Can J Plant Sci* 83 (3), 629–644. DOI: 10.4141/P01-124
- Schaffner, U.; Vrieling, K.; van der Meijden, E., 2003: Pyrrolizidine alkaloid content in *Senecio*. *Ontogeny and developmental constraints. Chemoecology* 13 (1), 39–46. DOI: 10.1007/s000490300004.
- Wiedenfeld, H., 2011: Plants containing pyrrolizidine alkaloids. Toxicity and problems. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 28 (3), 282–292. DOI: 10.1080/19440049.2010.541288.
- Wiedenfeld, H.; Edgar, J., 2011: Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants. *Phytochem Rev* 10 (1), 137–151. DOI: 10.1007/s11101-010-9174-0

Workshops

WS 1 Der Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen und Biodiversität

André Hamm

INRES, Agrarökologie und Organischer Landbau, Universität Bonn

Kurzbeschreibung der Thematik:

Im Rahmen des Workshops wird der Frage nachgegangen, welchen Beitrag der Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen zum Erhalt und zur Förderung der Biodiversität in den Agrarökosystemen leisten kann. Der Workshop hat damit gerade vor dem Hintergrund der aktuellen Diskussion über das Insektensterben ein brandaktuelles Thema zum Gegenstand.

WS 2 Botanicals – Rechtliche Rahmenbedingungen und Herausforderungen für Qualitäts- und Authentizitätsbestimmung und Wirkstoffanalytik

Andreas Schieber

Molekulare Lebensmitteltechnologie, Universität Bonn

Kurzbeschreibung der Thematik:

Nahrungsergänzungsmittel auf Basis pflanzlicher Zubereitungen (Botanicals) werden vermehrt auf dem EU-Markt angeboten und mit einer Vielzahl potentieller gesundheitsfördernder Wirkungen beworben. Vom Verbraucher werden die Attribute „pflanzlich“ und „natürlich“ häufig mit „sicher“ assoziiert, doch können solche Produkte pharmakologisch hoch aktive Verbindungen enthalten und damit ein Risiko darstellen. Fälschungen, Fehlbestimmung von Pflanzen, Verwendung falscher Pflanzenteile, Interaktionen mit Arzneimitteln, Kontaminationen mit natürlichen oder anthropogenen Toxinen sowie ein Mangel an Qualitätsstandards und analytischen Methoden stellen weitere Probleme dar. Im Workshop werden diese Themen im Rahmen von drei Vorträgen mit anschließender Diskussion erörtert:

Lebensmittel oder Arzneimittel? Wahrnehmung von Borderline-Produkten aus Sicht der Verbraucher

Stefanie Bröring, Institut für Lebensmittel- und Ressourcenökonomik, Professur für Technologie- und Innovationsmanagement im Agribusiness, Universität Bonn

Botanicals – Produkte, Probleme, Prävention

Andreas Schieber, Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften, Professur für Molekulare Lebensmitteltechnologie, Universität Bonn

Wirkstoffanalytik von Botanicals

Dr. Maike Passon, Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften, Professur für Molekulare Lebensmitteltechnologie, Universität Bonn

Workshop organized by Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung (GA)

WS 3 Developing chances for medicinal plant farmers - Supporting rural entrepreneurship through the production and exploitation of medicinal and aromatic plants

Oliver Kayser

Vice President Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung (GA)

Abstract

Beyond their direct use in traditional medicine, medicinal plants are used on an industrial scale to produce total extracts and tinctures, purified extracts and chemical products. The cultivation of medicinal plants in their original habitat represents the most suitable means to comply with the increasing demand for medicinal plants and to avoid the depletion of natural sources. The market for medicinal plants is expanding and a great chance for farmers to participate and set up business especially in South-East Europe. The pharmaceutical market, breeding and production of MAP is highly regulated to ensure high quality. To overcome the gap of high quality demands in industry and low knowledge skills of starting farmers in South-East Europe, an EU initiative has started to develop guidelines how to teach and qualify farmers direct and how to set up a curriculum in rural communities at applied schools. This workshop will report about recent work and will discuss about future needs and directions towards embedding a new economy and new business models in rural underprivileged countries. The GA workshop will be split in an introduction part and a later discussion round where participants can meet the expert in open space discussions.

WS 4 Natürliche Aromen aus pflanzlichen Rohstoffen

Johannes Kiefl

Research & Technology, Symrise AG

Kurzbeschreibung der Thematik:

Im Rahmen dieses Workshops wird auf die Entwicklung und Gewinnung von natürlichen Aromastoffen aus unterschiedlichen pflanzlichen Materialien eingegangen. Dabei wird das Aroma und das sensorische Profil von wichtigen pflanzlichen Rohstoffen wie z.B. Zitrusfrüchte, Haselnuss oder Zwiebelgewächse vorgestellt. Beispiele zum Anbau der pflanzlichen Materialien sowie zur Authentizitätsbestimmung werden erläutert.

Der Workshop soll mit „allen Sinnen“ wahrgenommen werden, weshalb verschiedene Muster abgerochen, verkostet und anschließend diskutiert werden.

WS 5 Anbau, Anwendung, Wirksamkeit chinesischer Arzneien - Chinesische Kräutertherapie von der Tradition bis zur Moderne

Gerd Wiesemann¹, Sun Yutian²

¹Zhejiang Chinese Medical University Hangzhou / AQUASAN

²TCM-Apotheker, Shanghai Medical College of Fu Dan University Sinoherb/AQUASAN

Kurzbeschreibung der Thematik:

1. Eine Übersicht der Chinesische Kräutertherapie von der Tradition bis zur Moderne.
2. Erfahrungsschatz der Chinesischen Pharmakologie
3. Der richtige Standort, "geo-authentisch" oder urheimischer Standort chinesischer Heilkräuter "daodi yao".
4. Anbau, Ernte, Aufbereitung und Präparation von Arzneipflanzen (pao zhi), die Notwendigkeit Arzneidroge richtig aufzubereiten und zu präparieren von der Sammlung, Reinigung, Trocknung, Lagerung/Aufbewahrung, Präparation bis zur Einnahme
5. Sicherheit und Qualitätskontrolle chinesischer Arzneipflanzen, worauf ist zu achten?
6. Erfahrungen mit dem Import und Verkauf Chinesischer Arzneipflanzen in Deutschland
7. Erfahrungen mit dem Anbau Chinesischer Arzneipflanzen in Europa.

WS 6 Pflanzliche Rohstoffe für zertifizierte Natur- und Biocosmetik

Roland Grandel¹, Franziska Breisinger²

¹IONC - International Organic and Natural Cosmetics Corporation GmbH, BDIH e.V. Mannheim, Deutschland;

²All Organic Treasures GmbH_Wiggensbach/Allgäu, Deutschland

Der Workshop stellt die erfolgreiche Entwicklung des seit 2001 bestehenden BDIH Standard Zertifizierungssystems zum international harmonisierten COSMOS-standard vor. Die COSMOS-standard AISBL wurde von BDIH, Ecocert, Cosmebio, ICEA und SOIL gegründet und repräsentiert das größte und bedeutendste Zertifizierungssystem für Natur- und Biocosmetik weltweit. Immer mehr Hersteller zertifizieren Ihre Kosmetikrohstoffe und Kosmetikprodukte, um sich von den weitverbreiteten Greenwashing Produkten mit der unabhängigen Kontrolle und einer für Verbraucher transparenten Bewerbung der Natur- und Biocosmetik abzuheben.

Natur- und Biocosmetik besteht überwiegend aus pflanzlichen Rohstoffen. Für deren Verarbeitung stehen grundsätzlich zwei Prozesse zur Verfügung. Zum einen rein physikalische Methoden, zum anderen Methoden, bei denen chemische Modifikationen der pflanzlichen Wirkstoffe eingesetzt werden, um neue Rohstoffe 100% pflanzlichen Ursprungs herzustellen. Dabei sind die weltweit geltenden Grundprinzipien des COSMOS-standards einzuhalten:

- schonende Extraktionsprozesse zum Erhalt der Wirkstoffqualität,
- Wirkstoffextraktion nur mit Materialien natürlichen Ursprungs,
- umweltschonende Prozesse,
- über chemische Prozesse erhaltene Rohstoffe sind leicht biologisch abbaubar und nicht toxisch für Wasserorganismen,
- Verbot von gentechnisch veränderten Ausgangspflanzen und Biokatalysatoren,
- Verbot ionisierender Bestrahlung und Behandlung mit Ethylenoxid,
- Verbot von Tierversuchen durch die Hersteller.

Die Verwendung von Pflanzen in Bio-Qualität unterstützt den biologischen Anbau und die Erhaltung der Biodiversität.

Die Firma All Organic Treasures wird Ihre Erfahrungen über Herstellung und Vertrieb mit Pflanzenmazeraten vorstellen. Sie produziert gemeinsam mit einer Bio Gärtnerei eine Vielzahl von Frisch- und Trockenpflanzenmazeraten, die weltweit in der Naturkosmetik als Wirkstoffe Verwendung finden.

WS 7 Zukünftige Perspektiven zur Züchtung und zum Anbau von Kamille

¹Lars-Gernot Otto, Sebastian Albrecht²

¹Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Seeland OT Gatersleben,

²Pharmaplant GmbH, Artern

Kurzbeschreibung der Thematik:

Es werden aktuelle und mögliche zukünftige Entwicklungen zur Kamille diskutiert. Ein Schwerpunkt liegt auf der Schnittstelle zwischen der Forschung zu Kulturpflanzen und der Züchtung sowie dem Anbau von Kamille. Einige aktuelle Entwicklungen und Methoden, die bei den Hauptkulturpflanzen etabliert sind, sollen auf ihre Möglichkeiten zur Anwendung bei Kamille diskutiert werden (z.B. Marker gestützte Selektion, Nutzung genetischer Ressourcen). Im Rahmen der Diskussion soll eine Verbindung zu den wichtigsten Züchtungszielen herausgearbeitet werden.

Im Workshop mit den Teilnehmern sollen darüber hinaus aktuelle Probleme des Kamillenanbaus besprochen werden, wie z. B. Schäden durch auftretende Krankheiten und Lösungsmöglichkeiten hierzu. Grundsätzlich können ebenfalls weitere Aspekte wie Besonderheiten des ökologischen Anbaus oder der Anbau von Kamille im nicht-deutschsprachigen Raum angesprochen werden.

WS 8 Anbau von Arzneipflanzen in Polen und aktuelle Forschungsarbeiten im Arznei- und Gewürzpflanzenbereich

Jerzy Jambor

President of the Board, Polish Herbal Committee, Poznań, Poland

Kurzbeschreibung der Thematik:

Beschaffung der Heilkräuter aus dem Anbau und den natürlichen Populationen in Polen. Dr. Rafał Chmielecki

In Polen gibt es eine jahrelange Tradition der Kräutergewinnung aus dem Anbau als auch aus den natürlichen Populationen. So zählt Polen mit seinen Gewinnungsstrukturen zu den wichtigsten europäischen Kräuterexporteuren. Die wirtschaftlichen und sozialen Änderungen der letzten Jahre tragen zur deutlichen Änderungen der polnischen Kräuterbranche bei. In dem Vortrag soll das Potenzial der Kräuterbeschaffung in Polen unter Berücksichtigung der aktuellen Tendenzen geschildert werden.

- Stand und Perspektiven der Kräuterindustrie in Polen. Dr. Jerzy Jambor

Die Kräuterverarbeitung in Polen beruht auf der Herstellung von Pflanzenarzneimitteln und Nahrungsergänzungsmitteln. Abgesehen davon, dass die Herstellung der Kräuter-Lebensmittel an wirtschaftlicher Bedeutung gewinnt, wird in den nächsten Jahren die Herstellung von Pflanzenarzneimitteln auf die Entwicklung der Kräuterindustrie den größten Einfluss haben. Auf dem polnischen Markt dominieren traditionelle Kräuterprodukte. Sie werden vorwiegend durch die polnischen Hersteller produziert. Der polnische Kräuterproduktmarkt gehört zu den größten in Europa. Im Unterschied zu den Prognosen für den NEM-Markt sind die allgemeinen Konturen der Entwicklung des Pflanzenarzneimittelmarktes vorhersehbar.

- Arzneipflanzenforschung in Polen. Dr. Andrzej Ostrowicz

Am Arzneimittelmarkt dominieren chemische Arzneimittel. Doch, viele biologisch aktive Substanzen besitzen seine Wurzeln in der Pflanzenwelt. Deshalb auch in Polen an den Universitäten die Pharmakognosten, Chemiker und Biologen viele Untersuchungen über alte und neue Arzneipflanzen durchgeführt. Neue Substanzen von Arzneipflanzen und auch gut definierte Extrakte werden *in vitro* und *in vivo* geprüft. Vor allem werden Untersuchungen auf Neuroprotektive- und Antikanzergeneaktivität sowie auch gegen seltene Erkrankungen geführt. In dem Vortrag soll das Potenzial der der Arzneipflanzenforschung in Polen geschildert werden.

WS 9 Wildsammlung und Artenschutz im Kontext von Arznei- und Gewürzpflanzen

Peter Riedl¹, Uwe Schippmann², Joanna Sucholas³, Anja zur Loye³

¹Salus-Haus GmbH & Co. KG, Bruckmühl

²Bundesamt für Naturschutz (BfN)

³Hochschule Rottenburg

Kurzbeschreibung der Thematik:

(Wild)Sammlung ist die traditionelle Form der Beschaffung pflanzlicher Rohstoffe, die auch heute noch von großer Bedeutung für die abnehmende Industrie ist. Diese Rohstoffe finden

hauptsächlich Verwendung als Heil-, Kosmetik- und Gewürzpflanzen. Im Kontext der Wildsammlung ist stets auch der Artenschutz zu thematisieren.

In diesem Workshop soll der rechtliche Rahmen für Wildsammlungen, insbesondere für Sammlungen in Deutschland, aufgezeigt werden. Weiter wird erläutert, was beim Handel von geschützten Arten auf nationaler und internationaler Ebene (Ein- und Ausfuhr) zu beachten ist (CITES).

Hinsichtlich geschützter Arten wird Herr Dr. Uwe Schippmann vom Bundesamt für Naturschutz (BfN) erläutern, wie die Nachhaltigkeit von Wildsammlungen wissenschaftlich bewertet werden kann.

Die aktuelle Situation in Polen, einem traditionellen und wichtigen Herkunftsland von wild gesammelten Pflanzen, wird Fr. Joanna Sucholas von der Hochschule Rottenburg vorstellen (Referat in englischer Sprache). Mit diesen Eindrücken soll anschließend gemeinsam mit Frau Anja zur Loye, ebenfalls von der Hochschule Rottenburg, diskutiert werden, welche Rolle Wildsammlungen in Deutschland spielen und welche Tendenzen hier gesehen werden.

Abschließend soll gemeinsam mit den Workshop-Teilnehmern, insbesondere mit den Firmenvertretern, die Fragestellung nach der aktuellen und zukünftigen Relevanz von Rohstoffen aus Wildsammlungen erörtert werden. Wird diese Form der Beschaffung angesichts der hohen qualitativen Anforderungen an pflanzliche Rohstoffe (Stichworte Pyrrolizidin- und Tropanalkaloide) weiterhin als zeitgemäß gesehen?

Folgende Aspekte aus dem Themenkreis Wildsammlung und Artenschutz sollen im Rahmen dieses Workshops vorgestellt und diskutiert werden:

1. Überblick über die rechtlichen Grundlagen auf nationaler und internationaler Ebene
2. Wichtige Sammelgebiete in Europa – die Situation in Polen
3. Hat die Wildsammlung in Deutschland Zukunft?
4. Relevanz der Wildsammlung für die abnehmende Industrie
5. Handelsrelevante Beispiele im Zusammenhang mit Wildsammlung und Artenschutz

WS 10 Analyse von Wertschöpfungsketten – Wie können wir alle aus dem Vollen schöpfen?

Heidi Heuberger

AG Heil- und Gewürzpflanzen, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising

Kurzbeschreibung der Thematik:

Die Wertschöpfungskette vom Saatkorn und Boden bis zum Fertigprodukt ist komplex und ihr Erfolg auf allen Stufen der Produktion von unzähligen Faktoren abhängig. Im Workshop sollen Modelle vorgestellt und diskutiert werden, mit denen vorhandene oder geplante Wertschöpfungsprozesse vom Feld bis zum Kunden strukturiert auf Risiken und Potenziale untersucht und aus deren Bewertung Innovationen angestoßen werden können. Beides ermöglicht und erfordert Kommunikation auf Augenhöhe zwischen den Akteuren der Prozessstufen. Die These: Eine gezieltere Abstimmung der Anforderungen und Aktivitäten zwischen den Stufen fördert das Innovationspotenzial, erhöht die Erfolgswahrscheinlichkeit und schafft mehr Wert. Für alle.

Posterbeitrag Themenkreis B: Biodiversität

P 1 Biodiversitätsfördernde Eigenschaften des Anbaus von Lein (*Linum usitatissimum* L.) in Agrarökosystemen



Biodiversity supporting properties of flaxseed cultivation (Linum usitatissimum L.) in agricultural landscapes

Saskia Gall-Röhrig^{1*}, Hanna Blum¹, Rita Földesi², Andreé Hamm², Thomas Döring², Ralf Pude^{1,3}

¹ Institute of Crop Science and Resource Conservation, Research Area Renewable Resources, University of Bonn, Klein-Altendorf 2, 53359 Rheinbach, Germany

² Institute of Crop Science and Resource Conservation, Agroecology and Organic Farming, University of Bonn, Auf dem Hügel 6, 53115 Bonn, Germany

³Field Lab Campus Klein-Altendorf, Faculty of Agriculture, University of Bonn, Klein-Altendorf 2; 53359 Rheinbach, Germany

*correspondence: r.pude@uni-bonn.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.026

Zusammenfassung

Lein ist die ökonomisch bedeutendste Arzneipflanze in Deutschland und wird auf einer Fläche von über 2500 ha kultiviert. Der durch seine Blüte produzierte Nektar und Pollen stellt möglicherweise eine potentielle Nahrungsquelle für Insekten in intensiv genutzten Agrarlandschaften dar. Um diese Hypothese zu prüfen, wurden blütenökologische Untersuchungen an Lein und in der Umgebung an drei Standorten durchgeführt und Artenlisten von blütenbesuchenden Insekten angefertigt. Der Fokus lag dabei auf den Ordnungen Hymenoptera (ausgenommen Formicidae) und Diptera. Zudem wurden Pollenproben von verschiedenen Wildbienenarten genommen und der Mageninhalt von Schwebfliegen auf das Vorhandensein von Leinpollen untersucht. An zwei der drei untersuchten Standorte waren im Lein mehr Arten anzutreffen als in benachbarten Umgebungsf lächen. Alle drei Standorte wiesen in der Leinkultur mehr Individuen an der Ordnung Hymenoptera auf als die jeweilige Umgebung. Bei Vertretern der Gattung *Halictus* und der Art *Lasioglossum calceatum* konnte Leinpollen an den Sammelorganen nachgewiesen werden. Zudem wurde bei der Art *Syrphus ribesii* Leinpollen im Verdauungssystem gefunden. Außerdem zeigte sich, dass die Wildbienen *Halictus* sp. und *Lasioglossum calceatum* potentielle Bestäuber des Leins sind und dass der Lein als Nahrungsquelle von der Schwebfliege *Syrphus ribesii* intensiv genutzt wird.

Stichwörter: Pollen; Insekten; Bestäubung; Wildbienen; Schwebfliegen

Abstract

Flaxseed is the economically most important medicinal plant in Germany. It is cultivated on an area of over 2500 ha. Its pollen and/or nectar are a potential foodresource for insects in intensively used agricultural landscapes. To test this hypothesis insects on flowering flaxseed plants and the flowering environment were collected and the species and their abundance were determined. The study focused on taxa of Hymenoptera (except Formicidae) and Diptera. In addition, pollen samples were taken from wildbees and intestinal content of hoverflies was analyzed. On two out of three study sites we found higher species numbers in flaxseed than in the flowering environment. Further, more individuals of Hymenoptera were found in cultivated flaxseed compared to the neighboring environment on all three sites. Flaxseed pollen was found on *Halictus* sp. and *Lasioglossum calceatum*, indicating that these species may serve as pollinators of flax. Moreover, flaxseed pollen was found in the digestive system of *Syrphus ribesii* which suggests a potential role of flaxseed as a food source for this species.

Keywords: pollen; insects; pollination; wildbees; hoverflies

Einleitung

Lein gehört mit zu den wichtigsten Arznei- und Gewürzpflanzen, die in Deutschland kultiviert werden und wird auf einer Fläche von ca. 2585 ha angebaut [PLESCHER 2011]. Die Samen des Leins besitzen eine hohe biologische Wertigkeit auf Grund des günstigen Fettsäuremusters und weiterer sekundärer pflanzlicher Inhaltsstoffe [EL-BELTAGI et al. 2007]. Die Leinblüte stellt je nach Kultivierungszeitpunkt eine interessante Nahrungsressource für verschiedene Insekten dar. Dabei bietet sie sowohl Pollen als auch Nektar für phytophage Organismen. Die Bestäubung des Leins erfolgt dabei größtenteils autogam [WILLIAM 1991]. Um den Beitrag des Leins zur Förderung der Artenvielfalt in Agrarökosystemen erfassen zu können, ist es notwendig mittels Indikatororganismen die Vielfalt auf den Anbauflächen abschätzen zu können. Als Indikatoren eignen sich beispielsweise Wildbienen, die auch zum Monitoring der Auswirkungen von GVO-Pflanzen auf Ökosysteme herangezogen werden [VDI-RICHTLINIE 4332 Blatt 1 2016]. Studien belegen, dass die Artenvielfalt von Insekten über die letzten Jahrzehnte stark abgenommen hat [BIESMEIJER et al. 2006].

Daher ist es wichtig, konkrete Maßnahmen zum Insektenschutz zu ergreifen. Dazu gehört unter anderem die Bereitstellung von Nahrungsressourcen. Die Wirkung dieser Maßnahmen muss im Folgenden evaluiert werden, um den Effekt auf die Artenvielfalt abzuschätzen zu können. Dies ist gerade in Bezug auf die Förderung von Nahrungsressourcen und Nisthabitats verschiedener Insekten von entscheidender Bedeutung, da viele Kulturpflanzen auf die Fremdbestäubung durch Insekten angewiesen sind. Denn nur so kann die Ertragssicherheit und -qualität auf Dauer gewährleistet werden [MÜLLER und HEUBACH 2015]. Intensive Landwirtschaft mit wenigen Kulturen ist dabei prädestiniert für einen Verlust der Artenvielfalt in diesen Systemen [ALLAN et al. 2015]. Somit kommt es auch indirekt zu einem Verlust der Ökosystemfunktion und vom Ökosystem ausgehenden Leistungen [GRUNEWALD und BASTIAN 2015].

Die vorgestellte Untersuchung findet im Rahmen des Forschungsvorhabens „Entwicklung eines Bestäubermanagements im Arzneipflanzenanbau zur Steigerung der Erträge und gleichzeitiger Erhöhung der Ökosystemleistung“ statt und wird vom BMEL durch die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe gefördert (FKZ: 22001116). Ziel des Vorhabens ist, eine Steigerung der Erträge zu induzieren und gleichzeitig die Ökosystemleistung zu erhöhen. Innerhalb des Projektes wird unter anderem die Zielkultur Lein (*Linum usitatissimum*) untersucht und es werden die blütenbesuchenden Insekten erfasst und deren Ertragsrelevanz analysiert. Durch dieses Projekt wird zudem die ökonomische Relevanz der Sonderkultur Lein weiter gefördert, da dieser im Vergleich zu vielen Agrarumweltmaßnahmen eine produktionsorientierte Agrarfläche darstellt. Ziel ist es, basierend auf den Untersuchungen ein praxistaugliches Bestäubermanagement zu entwickeln, welches die wechselseitige Beziehung zwischen Bestäuberleistung und Ertragswirksamkeit umfasst.

Material und Methoden

Der Einfluss der Leinblüte auf das Arteninventar dreier verschiedener Standorte wurde mittels selektivem Kescherfang der blütenbesuchenden Insekten im Juni 2017 erfasst. Dabei wurden zu vier Terminen an je drei Standorten während der Vollblüte des Leins (*Linum usitatissimum* L. var Sorte 'Lirina'; Vollblüte Juni 2017) Versuchs- und Praxisflächen in drei Transekten beprobt. Zusätzlich wurde auch die dazugehörige nahliegende Umgebung mit Alternativtracht mit in die Erfassung des Arteninventars einbezogen um einen Vergleich beider Habitate zu ermöglichen. Die Begehung erfolgte für 30 Minuten Fangzeit je Transekt. Die gefangenen Insekten wurden darauffolgend mit Essigsäureethylester abgetötet und im Labor präpariert und bestimmt.

Die untersuchten Versuchsflächen liegen in Rheinbach, Hennef und in Orfgen-Hahn/Westerwald. Einer der untersuchten Standorte liegt in einem durch Obstbau geprägten Gebiet einer typischen Bördelandschaft der Niederrheinischen Bucht (Campus Klein-Altendorf, CKA; Versuchsstandort der

Universität Bonn). Ein weiterer Standort liegt in der Siegniederung, einer Flussaue, welche durch schwankende Grundwasserstände geprägt ist und sich ebenfalls in der Niederrheinischen Bucht befindet (Wiesengut, WG; Versuchsstandort der Universität Bonn). Der dritte Standort liegt in einem Grünland geprägten Gebiet (Anna Hof, AH).

Basierend auf diesen Daten wurde die Artenzahl sowie die mittlere Zahl Individuen pro vorgefundener Ordnung an den jeweiligen Standorten ermittelt. Außerdem wurde die Artidentität nach Sørensen für die verschiedenen Standorte und deren Umgebung berechnet [SØRENSEN 1948]. Des Weiteren wurden Pollenpräparate von Belegexemplaren der vorgefundenen Wildbienen durch Abtupfen angefertigt und der Mageninhalt von Belegexemplaren der Schwebfliege *Syrphus ribesii* auf das Vorhandensein von Leinpollen durch Mikroskopie untersucht.

Ergebnisse

Die Artenzahl der Insekten der untersuchten Habitate zeigt, dass im Leinbestand des Wiesenguts die höchste Zahl verschiedener Arten vorzufinden war. Die Artenzahlen in der Leinkultur am Standort Campus Klein-Altendorf und am Wiesengut war zudem höher als die Artenzahl der Umgebung der Standorte. Die höchste Artenzahl in der Umgebung des Standortes war am Anna Hof zu verzeichnen. Die geringste Anzahl Insektenarten wurde in der Umgebung des Campus Klein-Altendorfs beobachtet (Abb. 1).

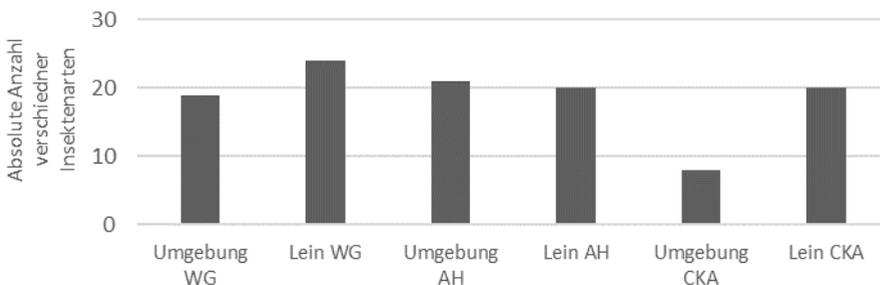


Abbildung 1: Absolute Artenzahl der Insektentaxa, die zu vier verschiedenen Beprobungsterminen im Untersuchungszeitraum 2017 auf den einzelnen Untersuchungsflächen gefunden wurden. (CKA: Campus Klein-Altendorf, AH: Anna Hof, WG: Wiesengut).

Die mittlere Individuenzahl der Ordnungen Hymenoptera war für alle Standorte im Leinbestand höher als in der Umgebung. Die Ordnung der Hymenoptera zeigte die höchste Individuenzahl für den Standort Anna Hof in der Leinkultur. Die geringste Anzahl konnte in der Umgebung des Campus Klein-Altendorf verzeichnet werden. Die Ordnung Diptera zeigte die höchste Individuenzahl in der Umgebung des Anna Hof, gefolgt von der Leinkultur des Campus Klein-Altendorfs. Bei den Standorten Campus Klein-Altendorf und Wiesengut waren mehr Insekten der Ordnung Diptera in der Leinkultur als in der Umgebung dieser Standorte zu finden (Abb. 2). Im Lein konnten dabei vor allem die Wildbienengattung *Halictus* sp. sowie die Schwebfliegenart *Sphaerophoria scripta* vorgefunden werden, die in der Umgebung nicht zu finden waren.

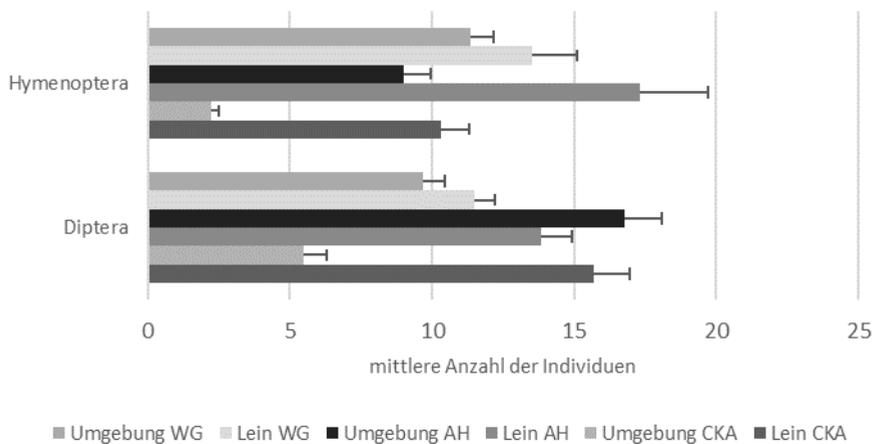


Abbildung 2: Mittlere Anzahl der Individuen verschiedener Insekten Ordnungen der einzelnen Standorte und deren Umgebung im Untersuchungszeitraum 2017. Fehlerbalken: Standardabweichung; $N_{\text{Umgebung}}: 4$, $N_{\text{Lein}}: 12$ (CKA: Campus Klein-Altendorf; AH: Anna Hof; WG: Wiesengut).

Die Artidentität nach Sørensen zeigt, dass die Leinbestände untereinander und mit der Umgebung des Wiesengutes die größte Ähnlichkeit aufwiesen mit je über 55 %. Dies ist nicht der Fall für die Umgebung des Campus Klein-Altendorfs, dieser Standort wies die geringste Artähnlichkeit mit allen Standorten und deren Umgebung auf. Eine mittlere Artähnlichkeit konnte für die Umgebung des Anna Hofes mit den Leinbeständen des Wiesengutes und des Campus Klein-Altendorf nachgewiesen werden (Tabelle 1).

Tabelle 1: Trellisdiagramm der Artähnlichkeit der vorgefundenen Insektentaxa nach Sørensen für die einzelnen Standorte und deren Umgebung in % im Untersuchungszeitraum 2017. (CKA: Campus Klein-Altendorf; AH: Anna Hof; WG: Wiesengut)

	Lein CKA	Lein WG	Lein AH	Umgebung CKA	Umgebung WG	Umgebung AH
Umgebung AH	43,9	44,4	58,5	20,7	45,0	x
Umgebung WG	56,4	60,5	56,4	29,6	x	
Umgebung CKA	7,1	12,5	21,4	x		
Lein AH	60,0	63,6	x			
Lein WG	60,5	x				
Lein CKA	x					

Legende

0-25%	keine Artidentität
25,1-35 %	sehr geringe Artidentität
35,1 - 45 %	geringe Artidentität
45,1 - 55 %	mittlere Artidentität
55,1- 65 %	hohe Artidentität
65 - 100 %	sehr hohe Artidentität

Die Analyse des Pollens von Belegexemplaren der Wildbienen *Halictus* sp. und *Lasioglossum calceatum* Scopoli zeigte, dass die Belegexemplare dieser Wildbienen Pollen des Leins mit sich führten. Zudem konnte die Gattung *Halictus* sp. nur in den Leinbeständen vorgefunden werden. Die Quetschpräparation des Abdomens der Schwebfliegenart *Syrphus ribesii* von Belegexemplaren des Standortes Klein-Altendorf zeigte, dass die dort vorgefundenen Exemplare Leinpollen konsumiert hatten (Abb. 3). Das Verhältnis des Leinpollens zu Pollen anderer Pflanzenarten war

bei den einzelnen Belegexemplaren unterschiedlich. Die Art *Syrphus ribesii* konnte auch hier in den Leinkulturen aber nicht in der Umgebung des Campus Klein-Altendorf und des Wiesenguts nachgewiesen werden.

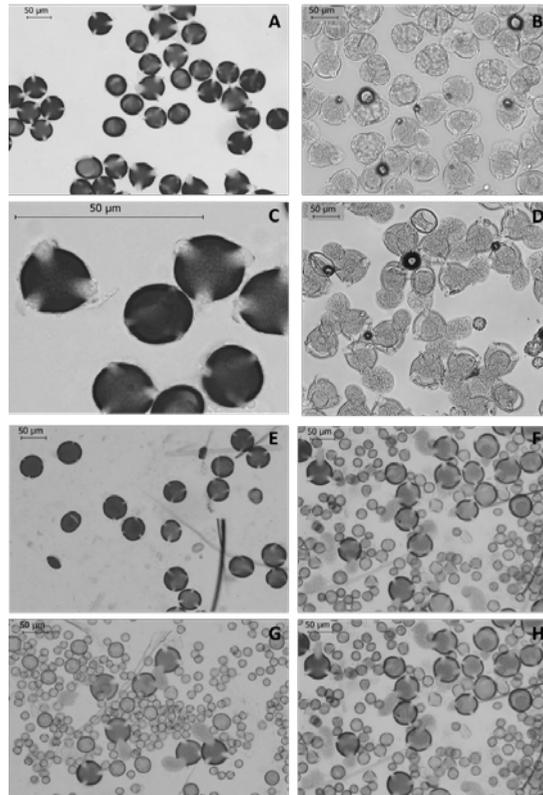


Abbildung 3: Pollenpräparate des Leins von Belegexemplaren der Erfassung 2017; alle Proben mit Fuchsin gefärbt, 20x Vergrößerung soweit nicht anders angegeben. **A** Referenzpräparat des Leinpollens; **B** Abklatschpräparat der Sammelapparatur von *Halictus* sp., Standort CKA (Campus Klein-Altendorf); **C** Referenzpräparat des Leinpollens, 40x Vergrößerung; **D** Abklatschpräparat der Sammelapparatur von *Lasioglossum calceatum*, CKA; **E, F, G, H** Quetschpräparate des Abdomens von *Syrphus ribesii*, CKA.

Diskussion

Die 2017 durchgeführte Fallstudie zeigt, dass die Leinblüte ein Potential hat, die Nahrungsressourcen von verschiedenen Insektenordnungen zu ergänzen. Die Blüte des Sommerleins kann je nach Witterung und Aussaatzeitpunkt möglicherweise eine Lücke in der Verfügbarkeit der Nahrung für Insekten schließen, wenn es sich um eine intensiv genutzte landwirtschaftliche Region handelt. Es konnte zudem gezeigt werden, dass die Artähnlichkeit der Leinbestände untereinander vergleichsweise groß ist und somit für eine spezielle Gruppe verschiedener Insektenarten charakteristisch ist.

Um diese Ergebnisse zu verifizieren, ist es allerdings notwendig die Untersuchungen über mehrere Jahre hinweg durchzuführen. Hier konnte bei dem Vergleich der beiden extensiv wirtschaftenden Betriebe Wiesengut und Anna Hof mit dem intensiv wirtschaftenden Betrieb Campus Klein-Altendorf herausgestellt werden, dass die Umgebung der Leinschläge beim intensiv wirtschaftenden Betrieb die geringste Artenzahl aufweist, dafür aber im Leinbestand eine doppelt

so große Anzahl Arten gefunden werden konnte im Vergleich zur Umgebung. Die hohe Artenzahl der Umgebung des Wiesengutes und des Anna Hofs hängt vermutlich mit der extensiven Bewirtschaftungsform sowie mit einer Reihe von insektenfördernden Strukturmaßnahmen zusammen. Dies ist auch am Vergleich der Artähnlichkeit der Umgebung des Campus Klein-Altendorf mit den Leinbeständen und der Umgebung der anderen Standorte zu erkennen, da dort nur eine geringe Artähnlichkeit zu beobachten ist.

Es konnte in dieser Fallstudie zudem gezeigt werden, dass Leinpollen eine potentielle Nahrungsquelle für die Brut der Wildbienen der Gattung *Halictus* sp. und der Art *Lasioglossum calceatum* darstellt. Dabei ist auch zu erwähnen, dass die Gattung *Halictus* sp. nur im Lein gefunden werden konnte, was darauf hinweist, dass die Leinblüte für diese Gattung im Untersuchungszeitraum besonders attraktiv ist und sich zur Versorgung der Larven in den Brutzellen eignet. Auch für die Schwebfliegenart *Syrphus ribesii* war der Leinpollen eine Nahrungsquelle, da er mehrfach in Quetschpräparaten des Abdomens nachgewiesen werden konnte.

In ausgeräumten Agrarkulturlandschaften stellt Lein somit eine potentielle Nahrungsquelle für Insekten dar und kann einen wertvollen Beitrag zur Erhaltung der Diversität leisten. Durch die Förderung der Insektengemeinschaft werden auch weitere Tiere und Pflanzen gefördert, da Insekten zum einen eine wichtige Nahrungsquelle für Vögel und einige Säugetiere darstellen und zum anderen auch für die Befruchtung von Wildpflanzen unerlässlich sind.

Danksagung

Das Projekt wird durch das BMEL durch die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe gefördert (FKZ: 22001116). Die Erfassung der Insekten im Untersuchungszeitraum 2017 wurde im Rahmen der graduierten Arbeit von Judith Lenzen durchgeführt (BSc - Bachelor of Science Agrarwissenschaften). Die Anlage der Kulturen erfolgte durch die Feldversuchstechniker des Wiesengutes für den Standort Wiesengut und durch die Feldversuchstechniker des Campus Klein-Altendorf für den Standort Campus Klein-Altendorf. Für die Erfassung der Insekten und die Anlage der Versuchsflächen sowie die Instandhaltung möchten wir uns gerne bedanken.

Literatur

- ALLAN E., MANNING P., ALT F., BINKENSTEIN J., BLASER S., BLÜTHGEN N., BÖHM S., GRASSEIN F., HÖLZEL N., KLAUS V. H., KLEINEBECKER T., MORRIS E. K., OELMANN Y., PRATI D., RENNER S. C., RILLIG M. C., SCHAEFER M., SCHLOTER M., SCHMITT B., SCHÖNING I., SCHRUMPF M., SOLLY E., SORKAU E., STECKEL J., STEFFEN-DEWENTER I., STEMPHUBER B., TSCHAPKA M., WEINER C. N., WEISSER W. W., WERNER M., WESTPHAL C., WILCKE W., FISCHER M. 2015: Land use intensification alters ecosystem multifunctionality via loss of biodiversity and changes to functional composition. *Ecology Letters* **18** (8), 834-843.
- BIESMEIJER, J.C., ROBERTS, S.P., REEMER, M., OHLEMÜLLER, R., EDWARDS, M., PEETERS, T., SCHAFFERS, A., POTTS, S.G., KLEUKERS, R., THOMAS, C., 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* **313**, 351-354.
- EL-BELTAGI H. S., SALAMA Z. A. & EL-HARIRI D. M. 2007: Evaluation of fatty acids profile and the content of some secondary metabolites in seeds of different flax cultivars (*Linum usitatissimum* L.). *Gen. Appl. Plant Physiology* **33** (3-4), 187-202.
- GRUNEWALD K. und BASTIAN O. 2015: *Ecosystem Services Concept, Methods and Case Studies*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg ISBN 978-3-662-44143-5.
- MÜLLER V. und HEUBACH K. 2015: Ohne sie läuft nichts: Bestäuber-Insekten und ihre Rolle für unsere Ernährung. *netzwerk forum zur biodiversitätsforschung deutschland*.
http://biodiversity.de/images/stories/startseite/KurzKnapp_Best%C3%A4bung.pdf [07.01.2016]
- PLESCHER A. 2013: Entwicklung der Anbaufläche und Kulturartenvielfalt von Arzneipflanzen in Deutschland; 2. Tagung Arzneipflanzen, Arzneipflanzen in Deutschland – Mit koordinierter Forschung zum Erfolg, Gülzower Fachgespräche Band 44 s. 31-43.
- Sørensen T. 1948: A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species and its application to analyses of the vegetation on Danish commons; *Kongelige Danske Videnskaberne Selskab* **5**(4), 1-34.
- VDI-RICHTLINIE 4332 BLATT 1 2016: Monitoring der Wirkung des Anbaus gentechnisch veränderter Organismen (GVO) – Erfassung der Wildbienen.
- WILLIAM I. 1991: The pollination of Linseed; *Acta Horticulturae* **288**, 6th Pollination Symposium

Posterbeitrag Themenkreis B: Biodiversität

P 2 Genetische Abgrenzung von Rooibos-Zuchtlinien zu Anbau- und Wildherkünften



*Genetic differentiation between breeding lines, commercial samples and wild populations of Rooibos (*Aspalathus linearis* (Burm f.) R. Dahlgren)*

Joana Ruzicka¹, Brigitte Lukas¹, Marcus Schefzig², Hans-Jürgen Hannig³, Johannes Novak^{1*}

¹Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, 1220 Wien, joana.ruzicka@vetmeduni.ac.at

²Institut für Medizinische Biochemie, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, A-1210 Wien, Österreich

³Martin Bauer Group MB-Holding GmbH & Co KG, Dutendorfer Straße 5-7, 91487 Vestenbergsgreuth, Deutschland

DOI 10.5073/jka.2018.460.027

Zusammenfassung

Rooibos (*Aspalathus linearis* (Burm.f.) R. Dahlgren, Fabaceae), ist eine weltweit beliebte Teepflanze, die bisher aus dem Anbau von Wildpflanzen und deren klonaler Vermehrung gewonnen wurde. Ziel dieser Arbeit war es, mit molekularen Markern neue Zuchtlinien von Rooibos zu charakterisieren und ihre genetische Verwandtschaft und ihre Positionierung gegenüber handelsüblichen Herkünften und Wildpopulationen zu bestimmen. Es wurden sequenzbasierte Marker entwickelt, die mit HRM (High-Resolution-Melting) ausgewertet wurden. Mit elf molekularen Markern wurden insgesamt 91 Proben aus fünf Zuchtlinien, zwei Herkünften aus kommerziellem Anbau und eine Wildsammlungsherkunft untersucht. Die statistische Auswertung mittels Diskriminanzanalyse ergab eine nahe Verwandtschaft der Zuchtlinien 16, 27 und 50, während die Selektion 48 genetisch am weitesten entfernt war. Die Linien 16 und 27 scheinen sogar genetisch ident zu sein. Die Selektionen waren von allen kommerziellen Proben und den Wildproben unterscheidbar, bei den Selektionen 32 und 50 war die Differenzierbarkeit allerdings mit einer größeren statistischen Unsicherheit behaftet, was durch die höhere Heterogenität dieser beiden Selektionen bedingt war. Eine statistisch besser abgesicherte Identifizierung wäre über zusätzliche Proben erreichbar. Die genetischen Analysen eignen sich gut für eine Identifizierung der Zuchtlinien bei vegetativer Vermehrung und lassen sich für eine weitere Zucht- und Vermehrungsplanung einsetzen.

Stichwörter: *Rooibos*, *Aspalathus linearis* (Burm f.) R. Dahlgren, Fabaceae, genetische Marker, SRAP, HRM

Abstract

Rooibos (*Aspalathus linearis* (Burm.f.) R. Dahlgren, Fabaceae) is a popular tea plant, so far produced by cultivating vegetatively propagated wild material. Aim of this work was the characterisation of newly derived breeding lines of Rooibos with molecular markers, the determination of their genetic relationships and the differentiation of breeding material to commercial samples and wild populations. Sequence-derived molecular markers were developed and analyzed with HRM (High-Resolution Melting). In total, 91 samples out of five breeding lines, two different accessions of commercial samples and one accession from the wild were analyzed with 11 molecular markers. Discriminant analysis showed a close relationship between breeding lines 16, 27 and 50, whereas the selection 48 was more distant. Lines 16 and 27 seem to be even genetically identical. All selections were distinguishable from the commercial samples and the wild accession. Anyhow, differentiation of lines 32 and 50 was statistically uncertain caused by the higher heterogeneity of these two lines. An improved statistical quality can be reached with additional samples. The genetical analysis is suitable for an identification of vegetatively propagated breeding lines and can be used for optimizing further breeding- and propagation planning.

Keywords: *Rooibos*, *Aspalathus linearis* (Burm f.) R. Dahlgren, Fabaceae, genetic marker, SRAP, HRM

Einleitung

Aspalathus linearis (Burm.f.) R. Dahlgren (Fabaceae) findet als Rooibostee weltweit breite Anwendung. Obwohl der Anbau aus klimatischen Gründen auf Südafrika beschränkt ist, lag das Produktionsvolumen dieses Tees 2007 bei 14.000 Tonnen (DIRECTORATE MARKETING, 2010), eine Menge, die in etwa 10 % des globalen Kräuterteemarktes entspricht. Mit einer gezielten Züchtung von Rooibos, um Ertrag, Ertragsstabilität und Inhaltsstoffgehalt positiv zu beeinflussen, wurde erst vor einigen Jahren begonnen. Die bisher im Handel erhältlichen Herkünfte stammen noch aus dem Anbau von Pflanzen, die wild gesammelt wurden, dementsprechend ist das für die Teedroge zur Verfügung stehende Material oft sehr uneinheitlich. Der Einsatz von genetischen Markern für eine weitere Selektion und Abschätzung der genetischen Distanz von Züchtungslinien und Sorten könnte die Züchtung weiter voran treiben. Die Verwendung solcher Marker ist bei Teepflanzen wie *Chamellia sinensis* (L.) Kuntze oder *Chamellia taliensis* (W. W. Smith) Melch. (SHARMA et al., 2014; ZHAO et al., 2014; ORI et al., 2017), aber auch bei anderen Fabaceae-Arten (CHAISAN et al., 2012) mittlerweile weit verbreitet. Neben der praktischen Anwendung für die Analyse genetischer Verwandtschaftsbeziehungen werden hier auch Marker eingesetzt, die mit bestimmten phänotypischen oder chemotypischen Merkmalen oder erhöhter Krankheitsresistenz korrelieren (KAUNDUN und MATSUMOTO, 2003; SUGANTHI et al., 2014). Da die Züchtungshistorie von Rooibos sehr kurz ist, existieren solche Methoden für Rooibos noch nicht. Es ist auch kaum Sequenzinformation über *Aspalathus linearis* (Burm.f.) R. Dahlgren publiziert, die die Entwicklung von sequenzbasierten molekularen Markern wie SNPs oder Mikrosatelliten ermöglichen würde. Neben Markern, die auf konkreter Sequenzinformation basieren, gibt es auch solche, die ohne genetische Vorinformation verwendet werden können, wie z. B. SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism). Diese Technik ist zwar günstig und leicht anwendbar, hat aber den Nachteil einer subjektiven und oftmals schlecht reproduzierbaren Auswertung komplexer Bandenmuster. Sie wurde hier angewandt, um Einzelbanden von Rooibos-Zuchtlinien und Handelsherkünften zu generieren und anschließend auf Basis von ermittelten Sequenzpolymorphismen dieser Einzelbanden HRM-Marker zu entwickeln. HRM (High-Resolution-Melting) ist eine stabile Methode, die rasch und relativ kostengünstig ist und sich besonders gut für die Identifizierung von Punktmutationen oder Indels eignet (SCHMIDERER et al., 2010). Sie basiert auf der Tatsache, dass Sequenzunterschiede zu unterschiedlichen Schmelzkurven führen, die durch Zugabe eines fluoreszierenden Farbstoffs gemessen werden können. Mit dieser Methode wurden genetische Marker zur Charakterisierung von Rooibos-Zuchtlinien analysiert und die Positionierung der Zuchtlinien gegenüber handelsüblichen Herkünften ermittelt.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Insgesamt wurden fünf Zuchtlinien und drei Herkünfte aus kommerziellem Anbau bzw. Wildsammlung untersucht. Mit Ausnahme der Zuchtlinie 32 (n=2) und 48 (n=14) wurden 10 Individuen pro Zuchtlinie untersucht. Die Wildsammlung (H3) bestand aus 20 Individuen, die kommerziellen Proben umfassten 16 (Handelsherkunft H2) respektive 9 (Handelsherkunft H1) Einzelproben pro Herkunft.

Alle Herkünfte wurden von der Fa. Martin Bauer (Vestenbergsgreuth, Deutschland) zur Verfügung gestellt.

DNA-Extraktion

Für die DNA-Extraktion wurden 8mg getrocknetes, verriebenes Blattmaterial eingesetzt. Die Extraktion erfolgte gemäß dem Protokoll von Schmiderer et al. (2013).

Bestimmung der DNA-Konzentration

Die DNA-Qualität und der DNA-Gehalt wurden mittels Gelelektrophorese auf einem 1,4 %igem Agarose-Gel nach Ethidiumbromidfärbung und mit dem Nanodrop (ThermoScientific, USA) gemäß Angaben des Herstellers bestimmt. Die Proben wurden auf eine einheitliche Konzentration von 2ng/µl gebracht.

PCR mit publizierten Primern (GAUR et al., 2012)

Die PCR Amplifikation wurde im Eppendorf MastercyclerGradient (Eppendorf, Österreich) in 15 µl Reaktionsvolumina durchgeführt, die 1x PCR-Puffer B (80 mM Tris-HCL pH 9,4 – 9,5 at 25 °C; 20 mM (NH₄)₂SO₄; 0,02 % w/v Tween-20), 2,5 mM MgCl₂, 0,1 mM dNTP, 600 nM F- und R-Primer, 0,6 U Taq Polymerase (HOT FIREPol[®]DNA Polymerase I, Solis Biodyne, Estland) und 2ng genomischer DNA enthielten.

Das PCR-Programm war wie folgt: 15 min bei 95°C für die Aktivierung der Polymerase, anschließend 35 Zyklen mit 45 s bei 95°C, 45 s bei 50°C und 90 s bei 72°C und einer Extensionzeit von 9 min bei 72°C. Die Überprüfung der Amplifikationsergebnisse (Vorhandensein und Anzahl der Banden, Längenpolymorphismen) erfolgte mittels Gelelektrophorese auf einem 1,4 %igem Agarosegel und durch Färbung mit Ethidiumbromid. Die Banden wurden mit einem DNA-Längenmarker verglichen.

SRAP

Die PCR Amplifikation wurde in 15 µl Reaktionsvolumina durchgeführt, die aus 1x PCR-Puffer B (80 mM Tris-HCL pH 9,4 – 9,5 at 25 °C; 20 mM (NH₄)₂SO₄; 0,02 % w/v Tween-20), 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 600 nM F- und R-Primer (Tab. 1), 0,6 U Taq Polymerase (HOT FIREPol[®]DNA Polymerase I, Solis Biodyne, Estland) und 1 µl genomischer DNA (2ng/µl) bestanden. Die PCR wurde nach Aktivierung der Polymerase für 15 min bei 95°C in 38 Zyklen mit 1 min bei 95°C, 1 min bei 50°C und 2 min bei 72°C und einer Extensionzeit von 5 min bei 72°C durchgeführt. Die Reaktion erfolgte auch hier im Eppendorf MastercyclerGradient (Eppendorf, Österreich). Die Überprüfung der Amplifikationsergebnisse (Vorhandensein und Anzahl der Banden, Längenpolymorphismen) erfolgte mittels Gelelektrophorese auf einem 1,4 %igem Agarosegel und durch Färbung mit Ethidiumbromid. Die Banden wurden mit einem DNA-Längenmarker verglichen.

Es wurden vier Proben (DNA von jeweils zwei Selektionen und zwei kommerziellen Proben) für ein erstes Screening verwendet. Monomorphe Banden wurden sequenziert und die Sequenzen der Selektionen mit Sequenzen der kommerziellen Proben verglichen. Anhand der Sequenzen wurden Primer für die HRM entwickelt.

Tab. 1 Primer, mit denen die SRAP durchgeführt wurde (Guo et al., 2014)

Tab. 1 Primers used for SRAP analysis (Guo et al., 2014)

Forward Primer 5'-3'	Reverse Primer 5'-3'
me1 TGAGTCCAAACCGGATA	em1 GACTGCGTACGAATTAAT
me2 TGAGTCCAAACCGGAGC	em2 GACTGCGTACGAATTTGC
me3 TGAGTCCAAACCGGAAT	em3 GACTGCGTACGAATTGAC
me4 TGAGTCCAAACCGGACC	em4 GACTGCGTACGAATTTGA
me5 TGAGTCCAAACCGGAAG	em5 GACTGCGTACGAATTAAC
me6 TGAGTCCAAACCGGTAG	em6 GACTGCGTACGAATTGCA
me7 TGAGTCCAAACCGGTTG	em7 GACTGCGTACGAATTATG
me8 TGAGTCCAAACCGGTGT	em8 GACTGCGTACGAATTAGC
me9 TGAGTCCAAACCGGTCA	em9 GACTGCGTACGAATTACG
me10 TGAGTCCAAACCGGAGG	em10 GACTGCGTACGAATTTAG
me11 TGAGTCCAAACCGGAGA'	em11 GACTGCGTACGAATTTCC

Forward Primer 5'-3'	Reverse Primer 5'-3'
me12 TGAGTCCAAACCGGAAA	em12 GACTGCGTACGAATTGTC
me13 TGAGTCCAAACCGAAC	em13 GACTGCGTACGAATTGGT
me14 TGAGTCCAAACCGACA	em14 GACTGCGTACGAATTCAG
me15 TGAGTCCAAACCGGACG	em15 GACTGCGTACGAATTCTG
me16 TGAGTCCAAACCGGACT	em16 GACTGCGTACGAATTCGG
me17 TGAGTCCAAACCGGCAT	em17 GACTGCGTACGAATTCCTA
me18 TGAGTCCAAACCGGGAC	em18 GACTGCGTACGAATTGAT
me19 TGAGTCCAAACCGGGTA	em19 GACTGCGTACGAATTCAT
me20 TGAGTCCAAACCGGGGT	em20 GACTGCGTACGAATTCAT
me21 TGAGTCCAAACCGGCAG	em21 GACTGCGTACGAATTCAT

Sequenzvorbereitung und Sequenzierung

Die Aufreinigung der PCR-Produkte erfolgte mittels Enzymverdau mit Exo I und FAP (Fermentas, USA). Die Sequenzierung wurde von einer externen Firma durchgeführt, dementsprechend wurden die Proben (Verdünnung der PCR-Amplifikationsprodukte, Primerkonzentration) nach Angaben der Sequenzierfirma (Microsynth, Schweiz) aufbereitet.

Primerentwicklung

Die Sequenzbearbeitung, Vergleich der Sequenzen in Alignments und Primerentwicklung wurden mit dem Programm Geneious Pro 5.3.4 (Biomatters, Neuseeland) durchgeführt.

HRM

Die HRM und vorgeschaltete PCR wurde mit dem Rotor-Gene™ 6000 (Qiagen, Deutschland) durchgeführt. Für eine 10 µl PCR Reaktion wurde 2ng genomischer DNA, 1x HRM Mastermix (Solis BioDyne, Estland) und je 0.1 µM Forward- und Reverseprimer (Sigma, Austria) verwendet. Das PCR-Programm entsprach 95°C 14min für die Aktivierung der Polymerase, gefolgt von jeweils 45 Zyklen mit 95°C für 10s Denaturation, 10-20s Annealing und 72°C 20s Elongation. Die Ermittlung der Schmelzkurven erfolgte in Schritten von 0,1°C im Anschluss an eine abermalige Erhitzung auf 95°C für 30s. Die Annealingtemperatur und -länge und der Messbereich für die Schmelzkurvenanalyse waren abhängig von der jeweiligen Primerkombination (Tab. 2). Das Primerannealing war standardmäßig 20s, wurde aber für einige Primerkombinationen auf 10s angepasst. Es wurden alle Primerkombinationen mit einem kleineren Probenet (8 Proben) angetestet. Primer, die keine variablen Kurventypen oder nicht auswertbare Kurven ergaben, wurden ausgeschlossen. Mit elf Primerkombinationen wurden alle Proben getestet. Die Analyse sämtlicher Proben erfolgte in Doppelbestimmungen. Die Qualität der PCR-Reaktion wurde anhand der Cq-Werte überprüft. Proben, bei denen die Einzelbestimmungen in Cq-Wert und/oder HRM-Kurve nicht übereinstimmten, wurden wiederholt. Die Vergleichbarkeit und Wiederholbarkeit der HRM-Kurven zwischen den Läufen wurde durch Festlegung von Referenzproben für bestimmte Kurventypen sichergestellt.

Software

Die HRM-Kurven wurden mit Hilfe der Rotor-Gene™ 6000 series software version 1.7.94. normalisiert und analysiert. Die statistische Auswertung erfolgte mit IBM SPSS 20 (SPSS Inc.).

Tab. 2 HRM-Primer, die in dieser Arbeit verwendet wurden. Die Primer sind auf Basis der ermittelten Sequenzen von SRAP-Einzelbanden respektive auf Basis publizierter Sequenzen einer nahe verwandten Fabaceae (*Cicer arietinum* L., GAUR et al, 2012) generiert worden. Angegeben sind die Temperaturen für Annealing und den Messbereich der HRM.

Tab. 2 HRM primers used in this study. The primers were designed based on sequence information achieved by sequencing of single SRAP bands or based on sequence information of a close relative (*Cicer arietinum* L., GAUR et al, 2012). Given are the temperatures for annealing and HRM ramp.

Primername	Sequenz (5'-3')	Tm in °C	Ramp in °C
Me12-Em7_1F	TCGATCAGTTAAGGAAGACTACTGAAGGG	55	73-82
Me12-Em7_1R	ACTGCGTACGAATTCAGCTTGC		
Me14-Em14_3F	TGGGCTTCGCGTTAATCACGCAT	57	68-89
Me14-Em14_3R	AGGCTGGTTGGTGCAGACCAT		
Me20-Em19_1F	AGGATGACNGCCTTGACGGT	57	77-86
Me20-Em19_1R	ACGGAGAATTACAGAAACCCTATGCT		
Me20-Em19_2F	AGCATAGGGTTTCTGTAATTCTCCGT	57	74-84
Me20-Em19_2R	AGCGTAGTGTCTTTTGTGACRA		
Me20-Em19_3F	CCTCTAGTGTCTGTACAAAACCCCC	59	73-83
Me20-Em19_3R	TCACTGTTGCTTCATGCTGTCTGT		
Me20-Em19_4FSSR	ACGACAGCATGAAGCAACAGTG	59	71-84
Me20-Em19_4RSSR	GCGCAATCGCAAAACCTGCCT		
Me21-Em2_3F	TGTTTCACGTACAGCTACTCCAGGT	57	77-90
Me21-Em2_3R	TGCAGCAGCACAAAGTCCCAGC		
Me2-EM20_2F	TGTKGGGACGGTTCATCCTG	56	73-85
Me2-Em20_2R	AGGCCTARCACTCATGGAGCGAA		
Me2-Em20_3F	TGGTTTCAGAGGACATTCGCTCCA	58	76-88
Me2-Em20_3R	CCTCGCCCTCCACCACCGAT		
Me11-Em16_2F	TCACCTCTCCCTCTCCGGC	59	74-87
Me11-Em16_2Ra	GCGACTTTGAAGAGGAATTGCAGGC		
Cic_ari_SNP7F	TGTTTCAGCGCGGAGCCAGG	55	78-87
Cic_ari_SNP7R	TGGACTGGAGACATGGGCGACT		

Ergebnisse

Ein erster Vergleich der genetischen Diversität der Zuchtlinien zu den Wildproben erfolgte mittels SRAP (sequence related amplified polymorphism). Es wurden vier Proben (DNA von jeweils zwei Selektionen und zwei kommerziellen Proben) und 441 SRAP-Primerkombinationen für ein erstes Screening verwendet. Es wurden aber nicht wie üblich polymorphe Bandenmuster ausgewertet, sondern Einzelbanden direkt sequenziert und die Sequenzen der Selektionen mit Sequenzen der kommerziellen Proben verglichen. Anhand gefundener Sequenzunterschiede wurden 63 Primersets für die HRM entwickelt. Diese Vorgangsweise hat den Vorteil, die zeitaufwendige und oft subjektive Auswertung der Bandenmuster zu umgehen und die Ergebnisse in ein stabileres System zu überführen. Zusätzlich wurde publizierte Sequenzinformation anderer Fabaceae-Arten (z.B. *Cicer arietinum*, GAUR et al., 2012) genutzt, um weitere HRM-Primer zu entwickeln, sodass in Summe 80 Kombinationen getestet wurden, von denen sich elf als polymorph und gut auswertbar erwiesen.

Mit diesen elf molekularen Markern wurden insgesamt 91 Proben aus fünf Zuchtlinien, zwei Herkunftsn kommerziellen Anbaus bzw. aus Wildsammlungsmaterial untersucht. Anhand der in der HRM-Analyse ermittelten Unterschiede wurden mittels kanonischer Diskriminanzanalyse (IBM SPSS Vs20) Diskriminanzfunktionen und eine Gruppenzugehörigkeit errechnet. Die ersten zwei Diskriminanzfunktionen wurden in einem Scatterplot dargestellt (Abb. 1).

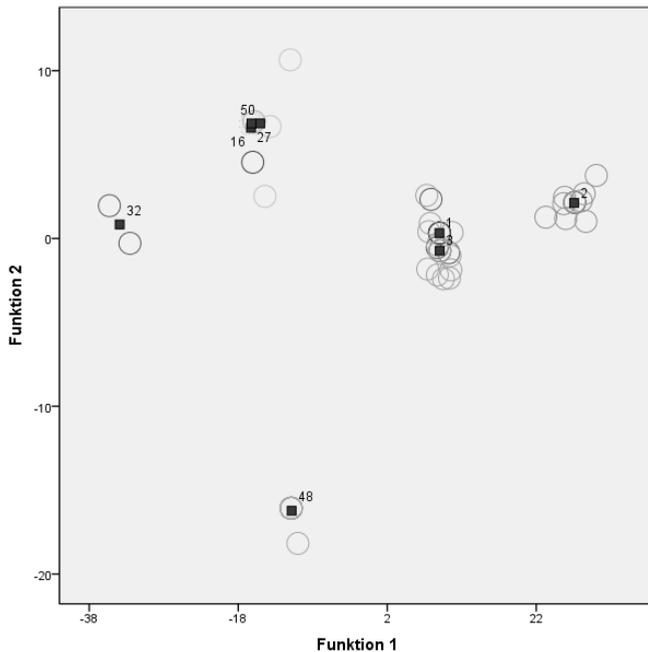


Abb. 1 Darstellung der ersten beiden Diskriminanzfunktionen von elf Primerkombinationen in Form eines 2D-Scatterplots. Die Herkünfte 1 bis 3 stammen aus Anbau bzw. Wildsammlung, alle anderen Bezeichnungen sind Zuchtlinien. Dargestellt sind Einzelproben mit Gruppenzentroiden, wobei genetisch idente Proben überlappen.

Fig. 1 2D scatterplot using the data of the first two functions of a discriminant analysis of eleven primer combinations. Genotypes 1, 2 and 3 originate from commercial samples and from wild collections, the other numbers (16, 27, 32, 48, 50) belong to different breeding lines. The circles correspond to single samples with overlapping circles for identical samples. The group's centroids are given in blue rectangles.

Die Diskriminanzfunktion 1 (75 % Varianzanteil) unterschied deutlich vier Gruppen, (1) Selektion 32, (2) Selektionen 16, 27, 48 und 50, (3) Handelsherkunft 1 und die Wildherkunft, (4) Handelsherkunft 2. Die Diskriminanzfunktion 2 (15 % Varianzanteil) führte zu einer zusätzlichen Abtrennung der Selektion 48 von der Gruppe 2. Damit sind drei von den fünf Züchtungslinien nicht eindeutig unterscheidbar. Die Linien 16 und 27 scheinen sogar genetisch ident zu sein. Die Selektion 48 war genetisch am weitesten entfernt.

Die aus den Diskriminanzfunktionen errechnete Gruppenzugehörigkeit der Einzelproben ist in Tab. 3 dargestellt. Dementsprechend wurden alle Proben zu 100 % dem korrekten Genotyp zugeordnet mit Ausnahme der Selektion 27, bei der 80 % der Proben als Selektion 16 und 20% als Selektion 50 klassifiziert wurden.

Tab.3 Vorhergesagte Gruppenzugehörigkeit und kreuzvalidierte (strikt berechnete) Gruppenzugehörigkeit der Genotypen in Prozent. Genotyp H1 und H2 sind Handelsherkünfte, Genotyp H3 stammt aus Wildsammlungen (n ... Anzahl der Individuen).

Tab. 3 Classification results and crossvalidated grouped cases of the genotypes given in percentages. Genotype H1 and H2 are commercial samples, genotype H3 originates from wild collections (n ... number of individuals).

Klassifizierungsergebnisse	Genotyp	H1	H2	H3	Sel16	Sel27	Sel32	Sel48	Sel50	Total %	Total n
Original %	H1	100	0	0	0	0	0	0	0	100	9
	H2	0	100	0	0	0	0	0	0	100	16
	H3	0	0	100	0	0	0	0	0	100	20
	Sel16	0	0	0	100	0	0	0	0	100	10
	Sel27	0	0	0	80	0	0	0	20	100	10
	Sel32	0	0	0	0	0	100	0	0	100	2
	Sel48	0	0	0	0	0	0	100	0	100	14
	Sel50	0	0	0	0	0	0	0	100	100	10
Kreuzvalidiert %	H1	88,9	0	11,1	0	0	0	0	0	100	9
	H2	0	43,8	6,3	0	6,3	18,8	18,8	6,3	100	16
	H3	10	25	35	0	0	15	10	5	100	20
	Sel16	0	0	0	90	0	0	10	0	100	10
	Sel27	0	0	0	80	0	0	0	20	100	10
	Sel32	0	0	50	0	0	0	0	50	100	2
	Sel48	0	0	0	0	0	0	100	0	100	14
	Sel50	0	20	10	0	0	0	0	70	100	10

Zwischen der Darstellung als Scatterplot (Abb. 1) und der Tabelle der Gruppenzugehörigkeit (Tab. 3) gibt es Unterschiede, die dadurch bedingt sind, dass die Abbildung nur die ersten beiden Dimensionen (Diskriminanzfunktionen) darstellen kann, während bei der Berechnung der Gruppenzugehörigkeit alle Diskriminanzfunktionen (in diesem Fall sechs Dimensionen) berücksichtigt werden. Deswegen ist die Gruppenzugehörigkeit in Tab. 3 verlässlicher als eine eigene visuelle Abschätzung aus dem Scatterplot in Abb. 1.

Bei der Kreuzvalidierung wird jede Probe, die gerade klassifiziert werden soll, aus dem Probensatz genommen und mit dem verbleibenden Probensatz die Diskriminanzfunktionen neu berechnet. Die Probe ist daher eine wirkliche Unbekannte. Dementsprechend ist eine Kreuzvalidierung immer wesentlich strikter als die normale Berechnung der Gruppenzugehörigkeit. Nach Kreuzvalidierung waren die Sicherheiten einer korrekten Klassifikation nur mehr 57 % im Gegensatz zu 89 % bei normaler Klassifizierung (Tab. 3). Der hohe Überlappungsgrad einiger Herkünfte war unter anderem ein Grund dafür. Ein weiterer Grund war, dass die Handelsproben und die Wildprobe sehr heterogen waren, aber auch die Individuen der Selektionen zum Teil variabel waren, obwohl sie durch ihre klonale Vermehrung eigentlich genetisch ident sein sollten. Dies könnte auf die Verwendung mehrerer Mutterpflanzen für die Verklonung der Linien oder auf einen Saatgutausfall innerhalb des Mutterquartiers hinweisen. Zusätzlich zu diesen Argumenten deutet die deutliche Verschlechterung der Gruppenzugehörigkeit bei der Kreuzvalidierung darauf hin, dass noch nicht genügend Analysen in die Erstellung des Diskriminanzmodells eingeflossen sind.

Trotzdem waren die Selektionen 16 und 27 gut von allen kommerziellen Proben und den Wildproben unterscheidbar, bei den Selektionen 32 und 50 war die Differenzierbarkeit mit einer größeren statistischen Unsicherheit behaftet. Anhand der Klassifizierungsergebnisse wäre eine gemeinsame Herkunft der Linien 16, 27 und 50 sowie der beiden Linien 32 und 48 denkbar.

Obwohl für eine statistisch gut abgesicherte Identifizierung mittels Kreuzvalidierung die Zuchtlinien wirklich klonal sein sollten und noch mehr Proben für die Erstellung des Diskriminanzmodells notwendig sein dürften, eignet sich die bestehende Methode bereits gut für eine Identifizierung der Zuchtlinien und lässt sich für eine weitere Zucht- und Vermehrungsplanung effizient einsetzen.

Danksagung

Wir danken der Fa. Martin Bauer (Vestenbergsreuth, Deutschland) für die finanzielle Unterstützung dieser interessanten Fragestellung.

Literatur

- Chaisan, T., Van, K., Kim, M.Y., Kim, K.D., Choi, B.S. und S.H. Lee, 2012: In silico single nucleotide polymorphism discovery and application to marker-assisted selection in soybean. *Mol Breeding* 29,221–233.
- Directorate Marketing, 2010: A Profile of the South African Rooibos Tea Market Value Chain. Department Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of South Africa. www.daff.gov.za letzter Besuch: 29.5.2018.
- Gaur, R., Azam, S., Jeena, G., Khan, A.W., Choudhary, S., Jain, M., Yadav, G., Tyagi, A.K., Chattopadhyay, D. und S. Bhatia, 2012: High-Throughput SNP discovery and genotyping for constructing a saturated linkage map of chickpea (*Cicer Arietinum* L.). *DNA Res* 19, 357–373.
- Guo, Y., Lin, H., Liu, Z., Zhao, Y., Guo, X. und K. Li, 2014: SSR and SRAP marker-based linkage map of *Vitis vinifera* L.. *Biotechnol Biotec Eq* 28 (2), 221-229.
- Kaundun, S.S. und S. Matsumoto, 2003: Development of CAPS markers based on three key genes of the phenylpropanoid pathway in Tea, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze, and differentiation between assamica and sinensis varieties. *Theor Appl Genet* 106, 375 - 383.
- Ori, F., Ma, J.Q., Gori, M., Lenzi, A., Chen, L. und E. Giordani, 2017: DNA-based diversity of tea plants grown in Italy. *Genet Resour Crop Evol* 64(8), 1905-1915.
- Schmiderer, C., Lukas, B. und J. Novak, 2013: Effect of different DNA extraction methods and DNA dilutions on the amplification success in the PCR of different medicinal and aromatic plants. *Z Arznei- Gewürzpfl* 18, 65-72.
- Schmiderer, C., Mader, E. und J. Novak, 2010: DNA-based identification of *Helleborus niger* by High-Resolution-Melting Analysis (HRM). *Planta Med* 76, 1-4.
- Sharma, R.K., Bhardwaj, P., Negi, R., Mohapatra, T. und P.S. Ahuja, 2014: Identification, characterization and utilization of unigene derived microsatellite markers in tea (*Camellia sinensis* L.). *BMC Plant Biol* 9: 53.
- Suganthi, M., Senthilkumar, P., Arvinth, S., Rajkumar, R. und K.N. Chandrashekhara, 2014: RAPD and SCAR Markers Linked to Tea-Mosquito Resistance in Tea. *Journal of Crop Improvement*, 28 (6), 795-803.
- Zhao, D.W., Yang, J.B., Yang, S.X., Kato, K. und J.P. Luo, 2014: Genetic diversity and domestication origin of tea plant *Camellia taliensis* (Theaceae) as revealed by microsatellite markers. *BMC Plant Biol* 14: 14.

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 3 Bestimmung des ätherischen Ölgehalts von Kümmelfrüchten (*Carum carvi* L.) mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS). - Genauigkeit der Methode in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern der Probenqualität und Probenbehandlung. -



D. Becker^a, C. Beleites^b, A. Krähmer^b, B. Zeiger^a, M. Marthe^a

^aInstitut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen (ZG) des Julius Kühn-Institutes (JKI), Erwin-Baur-Str. 27, D-06484 Quedlinburg

^bInstitut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz (ÖPV) des Julius Kühn-Institutes (JKI), Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin

DOI 10.5073/jka.2018.460.028

Die Samen des Kümmels (*Carum carvi* L.) werden pharmazeutisch zur Linderung von Beschwerden im Bereich des Magen-Darmtraktes verwendet. Die Wirkung basiert auf dem enthaltenen ätherischen Öl. Dessen Hauptbestandteile sind Carvon (> 50 %) und Limonen (35 – 45 %). Der Mindestgehalt liegt nach Europäischem Arzneibuch (Ph.Eur.) bei ≥ 3 %. Die Bestimmung des ätherischen Ölgehalts spielt daher in der Anbaupraxis, wie auch in der Neuzüchtung eine wichtige Rolle. Da für die Selektion häufig große Anzahlen von Prüfgliedern bei jeweils nur geringen Probenmengen vorliegen, wurde eine Messmethode mittels nicht invasiver Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) entwickelt (Schulz *et al.* 1998). Aktuell wurde untersucht, inwieweit verschiedene Parameter der Probenqualität (Probenmasse, Tausendkorngewicht (TKG), Stielchenbesatz) und des Probenzuges (Anzahl der Proben, Technik des Probenzuges) Einfluss auf die Genauigkeit der Methode nehmen können. Betrachtet werden die Destillation nach Ph.Eur. und die Extraktion als unterschiedliche Methoden zur Isolation der volatilen Substanzen.

Schulz, H.; Steuer, B.; Krüger, H.; Drews, H.-H.: Bestimmung der ätherischen Ölinhaltsstoffe bei Arznei- und Gewürzpflanzen mittels NIRS. Lebensmittelchemie 52 (1998); S.156-158

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 4 Bedeutung einer effizienten Charakterisierung pflanzlicher Extrakte für die Züchtung und den Übergang von der Wildsammlung zum kontrollierten Anbau

The role of an efficient characterization of plant extracts for breeding and the transition from wild collection to controlled cultivation

Roland Geyer^a, Fred Eickmeyer^b, Michael Rettig^a, Steffen Heelemann^a, Renate Kirchhöfer^a

^alifespın GmbH, Am Biopark 13, 93053 Regensburg, roland.geyer@lifespın.de

^bESKUSA GmbH, Bogener Str. 24, 94365 Parkstetten, eickmeyer@t-online.de

Siehe auch Vortrag **ESL 20**

Zusammenfassung

Die Inkulturnahme noch nicht fest etablierter Heil- und Gewürzpflanzen steht vor folgendem Dilemma: Einerseits ist eine steigende Nachfrage nach Ware aus kontrolliertem, dokumentiertem, überprüfbarem, heimischem Anbau zu verzeichnen und eine Erhöhung der Anbauflächen dieser Arten politisch gewünscht. Andererseits wird die Anbauware im Preis, je nach Versorgungslage, mit dem Preis der Ware aus Wildsammlungen verglichen. Bei vergleichbaren Qualitäten erhält dann in der Regel die preiswertere Wildsammelware den Vorzug im Einkauf.

Dies führt dazu, dass eine kontinuierliche Versorgung der Verarbeitungsbetriebe mit Ware aus kontrolliertem Anbau immer wieder zusammenbricht, da die Anbauer sich nicht auf Preise und Abnahme verlassen können. Auswege aus diesem Dilemma bestehen darin, entweder mit dem Anbau zu warten, bis die Wildsammlungen versagen oder das anzubauende Material qualitativ deutlich von der Wildsammelware abzugrenzen.

An den Beispielen Echte Arnika (*Arnica montana* L.) und Russischer Löwenzahn (*Taraxacum kok-saghyz* L.E.Rodin) wird gezeigt, dass - vom Wildmaterial ausgehend - in den ersten Selektionszyklen enorm große Zuchtfortschritte erzielt werden können; vorausgesetzt die Ziele sind klar definiert und es steht eine ausreichende Analytik-Kapazität zur Verfügung. Eine solche kann beispielweise mittels moderner Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) mit entsprechender software-basierter Datenanalyse realisiert werden und wird im Folgenden, im oben genannten Kontext, diskutiert.

Stichwörter: Inkulturnahme, Elitenselektion, NMR, Hochdurchsatzphänotypisierung

Abstract

The cultivation of not yet well-established medicinal and herbal plants faces the following dilemma: On the one hand there is an increasing demand for goods from controlled, documented, verifiable, domestic cultivation and an increase in the acreage of these species is politically desired. On the other hand, the cultivated product is compared in price, depending on the supply situation, with the price of the product from wild collections. Usually, this results in the use of the cheaper wild collected goods.

As a result, the continuous supply of raw material from controlled cultivation to the processing plants collapses time and again as growers can not rely on prices and acceptance. The solution to this dilemma is either to wait with the cultivation until the wild collections fail or the quality of the material to be grown is clearly differentiated from the wild collection.

Based on two examples, Arnica (*Arnica montana* L.) and Russian Dandelion (*Taraxacum kok-saghyz* L.E.Rodin), is demonstrated that - starting from the wild material - high breeding progress can be achieved in the first selection cycles. A necessary precondition is, that the goals are clearly defined and that there is sufficient capacity available to analyze output traits and lead ingredients. Such can be realized for example by means of modern nuclear magnetic resonance (NMR) analysis techniques with appropriate software-based data analysis and will be discussed below.

Keywords: Domestication, elite selection, NMR, high-throughput phenotyping

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 5 Identifizierung und Charakterisierung bioaktiver Inhaltsstoffe in Thymian



Identification and characterisation of bioactive compounds in thyme

Thomas Havelt, Michaela Schmitz

Hochschule Bonn-Rhein-Sieg, Fachbereich Angewandte Naturwissenschaften, von-Liebig-Str. 20, 53359 Rheinbach, Mail: thomas.havelt@h-brs.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.030

Zusammenfassung

Bei Thymian (*Thymus vulgaris*) handelt es sich um eine sehr varietätenreiche Art, die aufgrund ihres Gehaltes an therapeutisch wirksamen Inhaltsstoffen als Arzneipflanze monographiert ist. Insbesondere das ätherische Öl mit dem Hauptbestandteil Thymol (ca. 50%) hat eine hohe antioxidative Wirkung. Ziel ist es, dieses Potential als nachhaltig produzierte Additive zu nutzen. Hierfür eignen sich antioxidativ bzw. antimikrobiell wirksame sowie UV-absorbierende Substanzen, die das Produkt bei Zusatz vor oxidativem Stress, mikrobiellem Abbau und Qualitätsverlust schützen.

Hierzu werden zunächst sechs Varianten auf verschiedene Parameter analysiert, um die potenteste Variante auszuwählen. Auf diese Variante wird sich die weitere Forschung konzentrieren.

Daher wird das ätherische Öl durch azeotrope Destillation extrahiert und mittels GCMS analysiert. In Extrakten werden zudem das AP und Absorptionsverhalten bestimmt. Auch die chemische Zusammensetzung des Extrakts sowie die flüchtigen Stoffe des Thymians werden untersucht. Generell gibt es wenig qualitative, teilweise jedoch quantitative Unterschiede: Eine Variante weist u.a. einen deutlich höheren Thymolgehalt im Öl (ca. 65 %) und ein hohes hydrophiles AP auf. Somit ist eine vielversprechende Variante für die weitere Entwicklung und Optimierung bioaktiver Additive gefunden.

Stichwörter: Thymian / Bioaktiv / Additiv / UV-Absorption / Antioxidatives Potential

Abstract

Thyme (*Thymus vulgaris*) is a very diverse species that is known and used as a medical plant due to its high amount of therapeutic compounds. Its essential oil contains substances with antioxidative properties as thymol (about 50%). The objective is to take advantage of that potential by incorporating sustainably produced additives based on thyme e.g. in food packaging. Compounds with antioxidative, antimicrobial and UV absorbing effects are of special interest as those substances protect the product from oxidative stress, microbial degradation and loss of quality.

Therefore, six variants of thyme are analysed with regard to different parameters to choose a superior variant to conduct further research on.

The essential oil is extracted by steam distillation and analysed via GC-MS. Additionally, solvent extracts are analysed with regard to total antioxidant capacity (TAC), UV absorption and chemical composition. The volatile compounds are determined as well. In general, there are little differences in quality but in quantity as one variant's oil contains a considerably higher amount of thymol (about 65 %); the same variant's methanol extract proves to have a high TAC. Thus, a promising variant for further development and optimisation of bio-based, bioactive additives is identified in this study.

Keywords: Thyme / Bioactive / Additive / UV Absorption / Antioxidative Capacity

Einleitung

Die moderne Gesellschaft stellt die Menschheit vor viele wachsende Herausforderungen. Dabei ist es wichtig, das Konzept der Nachhaltigkeit als Basis möglichst vieler Lebensbereiche zu etablieren.

Nur ein auf diesem Konzept basierendes Produkt erfüllt die notwendigen moralischen und zukunftsorientierten Standards. In diversen Untersuchungen, u.a. durchgeführt von Wissenschaftlern der Hochschule Bonn-Rhein-Sieg und der Universität Bonn, wird bzw. wurde daher an der Entwicklung biobasierter Verpackungen und Baustoffe geforscht.

Diese zu entwickelnden biobasierten Produkte sind in ihrer Rohform in aller Regel nicht praxistauglich, sondern erfordern den Zusatz von Additiven, um sie für ihren Einsatz jeweils praktikabel zu gestalten. Als Additive zu biobasierten Produkten eignen sich insbesondere antioxidativ bzw. antimikrobiell wirksame sowie UV-absorbierende, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe. Diese Substanzen schützen das biobasierte Produkt u.a. vor oxidativem Stress und mikrobiellem Abbau und bewahren die Eigenschaften des Produkts. (HON et al., 1982; HON und CHANG, 1984)

Um dem nachhaltigen Ansatz dieser biobasierten Produkte gerecht zu werden, sollen diese benötigten Additive im Gegensatz zu den marktüblichen Additiven aus nachwachsenden Rohstoffen gewonnen werden und somit jene industriell synthetisierte Additive substituieren. Ziel des aktuell laufenden Forschungsprojektes ist es daher, nachhaltig produzierbare Additive in Form von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen zu identifizieren und Verpackungsmaterialien und Baustoffen als Stabilisatoren hinzuzufügen. Dies soll die Lebensdauer, die Qualität und die Praxistauglichkeit der biobasierten Produkte maßgeblich verbessern.

Eine Hauptgruppe der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe sind die Terpenoide. So besteht beispielsweise das ätherische Öl aus Thymian zum großen Teil aus den phenolischen Terpenoiden Thymol und Carvacrol (COSENTINO et al., 1999; vgl. Abb. 1), welche eine hohe antioxidative Wirkung besitzen. Daher wurde Thymian als mögliche Basis von bioaktiven Additiven ausgewählt. Um sich bei der weiteren Forschung auf die jeweils beste Variante im Hinblick auf die Menge der aktiven Inhaltsstoffe konzentrieren zu können, wurde zunächst ein Screening verschiedener Thymianvarianten durchgeführt.

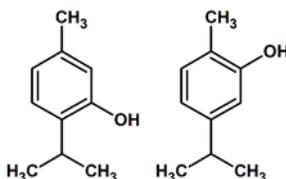


Abb. 1 Strukturformeln von Thymol (links) und Carvacrol (rechts).

Fig. 1 Structural formulas of Thymol (left) and Carvacrol (right).

Ergebnisse und Diskussion

Im Rahmen des Thymian-Variantenscreenings wurden sechs Varianten hinsichtlich verschiedener Parameter analysiert, um einen Favoriten auszuwählen.

Zunächst wurde aus allen sechs Varianten eine azeotrope Destillation zur Gewinnung des ätherischen Öls durchgeführt. Hier zeigt sich, dass Variante 6 eine etwa 80 % höhere Ausbeute an ätherischem Öl pro g Trockenmasse als Variante 1 aufweist. Die Varianten 2-4 zeigen eine mit Variante 1 vergleichbare Ausbeute an ätherischem Öl, die Ausbeute von Variante 5 ist etwas höher, jedoch noch deutlich unter der Ausbeute von Variante 6.

Eine Analyse des ätherischen Öls aller Varianten mittels Gaschromatographie in Kopplung mit Massenspektrometrie (GCMS) zeigt eine sehr vergleichbare Zusammensetzung der Varianten, die sich zwar quantitativ, jedoch nicht qualitativ ändert. So sind neben dem antioxidativ wirksamen Hauptinhaltsstoff Thymol auch Terpinene, Cymol und das ebenfalls antioxidativ wirksame Carvacrol (AESCHBACH et al., 1994) zu finden. Dabei besteht das ätherische Öl aller Varianten durchschnittlich zu 4% aus Carvacrol und zu 59% aus Thymol. Variante 6 zeigt abweichend

hiervon einen leicht erhöhten Gehalt an Thymol und Carvacrol, sodass diese Variante auch unter Berücksichtigung der relativen Ausbeute an ätherischem Öl mit einem deutlichen Vorsprung und einer zudem recht geringen Streuung vorerst als potenteste Variante ausgewählt wurde.

Für die Durchführung weiterer Untersuchungen wurden Hexan- und Methanolextrakte der verschiedenen Thymianvarianten angefertigt. Aus diesen Extrakten wurden z.B. das antioxidative Potential sowie das Absorptionsverhalten bestimmt. Aus der Bestimmung des hydrophilen antioxidativen Potentials geht zwar eine deutliche antioxidative Wirkung, aber zunächst kein statistisch signifikanter Favorit hervor. Grundlage der antioxidativen Wirkung des Extrakts sind vermutlich die im Methanolextrakt hauptsächlich enthaltenen phenolischen Terpenoide Thymol und Carvacrol. Die Bestimmung der UV-Absorption der methanolischen Extrakte resultiert, wie erwartet, in einem über alle Varianten qualitativ sehr ähnlichen UV-Spektrum. Die Varianten 4 und 6 weisen jedoch eine deutlich intensivere Absorption im UV-Bereich auf.

Analog zur inhaltsstofflichen Analyse des ätherischen Öls wird auch für die erhaltenen Hexan- und Methanolextrakte eine chemische Charakterisierung durchgeführt und die Identifizierung der Bestandteile erreicht. Hierbei zeigt sich variantenübergreifend grundsätzlich eine sehr ähnliche Zusammensetzung. Im Falle des Hexanextrakts ist die Zusammensetzung der des ätherischen Öls sehr ähnlich, während die Zusammensetzung des methanolischen Extrakts sich deutlich unterscheidet: Aufgrund der Polarität des Lösemittels sind dort insbesondere phenolische Substanzen wie Thymol und Carvacrol zu finden, signifikant unpolare Terpenoide (wie sie im Hexanextrakt und im ätherischen Öl zu finden sind) sind nicht enthalten. In allen Fällen sind die Inhaltsstoffe im Extrakt im Vergleich zum ätherischen Öl deutlich geringer konzentriert.

Die Analyse der Gasphase über getrockneten Thymianblättern mittels Festphasen-Mikroextraktions-GCMS (Solid Phase Microextraction, SPME) ergibt ein Chromatogramm, welches in weiten Teilen vergleichbar mit dem des ätherischen Öls ist. Jedoch verändern sich insbesondere bei höheren Retentionszeiten die Mengen der detektierten Stoffe. Wie erwartet, finden sich höher siedende Stoffe wie Thymol oder größere bzw. polare Substanzen nur wenig oder gar nicht in der Gasphase wieder.

Danksagung

Besonderer Dank gilt Maren Maruhn und Prof. Dr. Ralf Pude (INRES, Universität Bonn) für die Bereitstellung des Pflanzenmaterials sowie der Europäischen Union, welche dieses Forschungsprojekt im Rahmen des Europäischen Fonds für Regionale Entwicklung (EFRE.NRW) finanziell fördert.

Literatur

- Aeschbach, R., Löliger, J., Scott, B. C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B., Aruoma, O. I. (1994). Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology* 32/1, 31–36.
- Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., Palmas, F. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Lett Appl Microbiol* 29/2, 130–135.
- Hon, D. N.-S., Chang, S.-T., Feist, W. C., 1982. Participation of singlet oxygen in the photodegradation of wood surfaces. *Wood Science and Technology* 16, 193–201.
- Hon, D. N.-S. und Chang, S.-T., 1984. Surface degradation of wood by ultraviolet light. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 22/9, 2227–2241.

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 6 Nährstoffgehalte und N-Bedarfswerte für die bedarfs- und umweltgerechte Düngung (neue Düngeverordnung) – Beurteilung der Datengrundlage



Nutrient contents and N demand data to fertilize meeting the crop's and environment's demand (new fertilization regulation) – Evaluation of the data base

Heidi Heuberger

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), IPZ 3d, Vöttinger Str. 38, 85354 Freising,
Heidi.Heuberger@LfL.bayern.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.031

Zusammenfassung

Seit 02.06.2017 gilt in Deutschland die neue Düngeverordnung, die unter anderem die Ermittlung des Stickstoff (N)- und Phosphor(P)-Düngebedarfs neu regelt. Die dazu erforderlichen Angaben zum N-Bedarfswert, Gehalte von N und P und Frischmasseertrag von Arznei- und Gewürzpflanzenkulturen wurden an der LfL auf der Basis von Literatur- und Praxisdaten zusammengestellt. Nicht für alle im Anbau befindlichen Kulturen liegen diese Daten aus gesicherter oder repräsentativer Quelle vor, bei einigen Kulturen fehlen die Daten völlig und mussten abgeschätzt werden. Mit den publizierten Basisdaten und begleitenden Hinweisen zur Umsetzung der DüV bei Arznei- und gewürzpflanzen ist ein Anfang gemacht. Die Ergänzung und Konsolidierung der Bedarfs- und Entzugszahlen ist dringend erforderlich.

Stichwörter: Düngung, N-Bedarf, Nährstoffgehalt

Abstract

The new fertilization regulation for Germany came into force on 02.06.2017 regulating the calculation of required nitrogen (N) and phosphorus (P) fertilization. For this, data on N-demand, N- and P-content and fresh matter yield of medicinal and aromatic plant crops were gathered from literature and practical sources and were tabulated by the Bavarian State Research Center for Agriculture (LfL). Many data were available, but for a high number of cultivated MAP crops data were lacking from reliable or representative sources or were not available at all and had to be estimated. A start has been made with the published basic data and the accompanying notes. Further data and more consolidated data on nutrient demand and uptake are highly needed.

Keywords: Fertilization, N-demand, nutrient content

Einleitung

Die Kulturen der Arznei-, Tee-, Gewürz- und Kosmetikpflanzen (kurz: Arznei- und Gewürzpflanzen) müssen wie alle anderen Feldfrüchte gedüngt werden – und zwar bedarfsgerecht und umweltgerecht. Seit 02.06.2017 gilt in Deutschland die neue Düngeverordnung, die unter anderem die Ermittlung des Stickstoff- und Phosphor-Düngebedarfs sowie die N- und P-Nährstoffbilanzierung vor allem in der Form, im Umfang und in den Konsequenzen neu regelt (ANONYM, 2017). Insbesondere sind Verstöße, nach Verwarnung, bußgeldbewehrt. Die N- bzw. N_{\min} -Sollwerte wurden ersetzt durch N-Bedarfswerte, die sich auf einen kulturspezifischen mittleren Frischmasseertrag beziehen. Neu ist ebenfalls, dass von Seiten der Behörden N-Bedarfszahlen und Nährstoffentzüge, die sog. Basisdaten, für alle bekannten Kulturen bereitgestellt werden müssen.

Material und Methoden

Die N-Bedarfswerte von Arznei- und Gewürzpflanzenkulturen wurden berechnet aus den N-Entzügen des Ernteorgans und möglicher Ernterückstände (Stroh, Kraut) zuzügliche eines N-Puffers für Arten, die bis zur Ernte eine hohe N-Aufnahmerate erwarten lassen (Ernte während des vegetativen Wachstums, Blattfarbe ist Qualitätsmerkmal). Der P-Bedarf entspricht dem P-Entzug bei der Ernte. Lagen Düngeempfehlungen vor, musste der Hintergrund der Empfehlung und die zugrunde gelegten Ertragsersparungen berücksichtigt werden.

Die Grundlage zur Berechnung der neuen Basisdaten bildeten die in der Praxis bereits genutzten Daten:

Entzugszahlen von BOMME und NAST 1998 bzw. HOLZ 2010,
aktuelle Daten aus der Literatur, v.a. Saluplanta-Handbuch Band 4 und 5 (HOPPE 2012;
HOPPE, 2013), und
veröffentlichte und nichtveröffentlichte Daten aus der Beratungspraxis in Bayern und
anderen Bundesländern

Diese wurden gesammelt, gesichtet, die Daten hinsichtlich ihrer Aussagekraft bewertet und für die Erstellung der Basisdaten für Arznei- und Gewürzpflanzen herangezogen.

Ergebnisse

In der Literatur sind Ergebnisse mehrjähriger Düngungsversuche nur selten zu finden. Die Entzugszahlen für N, P, K und Mg von Bomme beruhen auf 2 bis 9 Mustern aus Versuchen mit diversen Fragestellungen, selten der Düngung. Die Grundlage der Düngungsempfehlungen ist in den kulturspezifischen Kapiteln des Saluplanta-Handbuchs nicht beschrieben. Die Grundlage für die praktische Düngeberatung ist nicht immer bekannt. Dadurch war nicht immer eine objektive Berechnung des N-Bedarfswerts oder des P-Entzugs möglich. Für 15 Kulturen konnten im Rahmen der Recherche keine Nährstoffgehaltsdaten gefunden werden, daher mussten die Gehaltsdaten vergleichbarer Kulturen herangezogen werden. Da zur Berechnung der Bedarfswerte ein Frischmasse-Ertrag benötigt wird, musste dieser auf Grund des Pflanzenhabitus und des Erntestadiums abgeschätzt werden. Bei der betrieblichen Düngeplanung sollte dieser möglichst durch eigene Ertragswerte angepasst werden.

Da den meisten Produzenten nur die Drogenerträge bekannt sind, wurde das Eintrocknungsverhältnis für die Ermittlung des Frischmasseertrags in die Basisdaten-Liste aufgenommen. Dazu wurde die von EUROPAM abgestimmte Liste der Eintrocknungsverhältnisse verwendet. Sie ist eine neutrale Grundlage zur Berechnung der Frischmasse, jedoch wäre in einigen Fällen eine weitere Differenzierung zwischen EV 5 und EV 10 wünschenswert, um die Frischmasseerträge und damit den Nährstoffbedarf nicht zu unterschätzen.

Die Basisdaten-Listen mit den Entzügen, Frischmasseerträgen, Eintrocknungsverhältnissen und N-Bedarfswerten für 90 Arten wurden von der LfL publiziert und an die Officialberatung in Bayern, im Bund und in anderen Bundesländern weitergereicht. Für die Umsetzung der DüV in Bayern wurde zudem ein Leitfaden für die Arznei- und Gewürzpflanzen publiziert, in dem die Nmin-Probenahmen und die Anwendung bei mehrschnittigen oder mehrjährigen Kulturen u.a. beschrieben werden (LfL, 2018). Dort werden auch laufend Angaben zu Kulturen ergänzt, die in den Basisdaten-Listen nicht enthalten sind. Eine online verfügbare, Excel-basierte Rechenhilfe erleichtert die betriebliche N- und P-Düngebedarfsermittlung für die 90 gelisteten Kulturen.

In Summe waren die bisherigen Daten zur Düngeplanung zwar prinzipiell geeignet, um die Basisdaten nach neuer Düngeverordnung zusammenzustellen. Für eine bußgeldbewehrte Vorschrift ist die Datengrundlage jedoch viel zu lückenhaft und erzeugt hohen Beratungsbedarf. Die praxisnahe Ermittlung weiterer Nährstoffgehalte im Erntegut und in Ernterückständen, sowie die N-Mineralisierung aus großen Rückstandsmengen sind für eine solide Beratung, Kontrolle und eine fachgerechte Düngung dringend erforderlich.

Literatur

- ANONYM, 2017: Verordnung über die Anwendung von Düngemitteln, Bodenhilfsstoffen, Kultursubstraten und Pflanzenhilfsmitteln, nach den Grundsätzen der guten fachlichen Praxis beim Düngen (Düngeverordnung - DüV) - "Düngeverordnung vom 26. Mai 2017 (BGBl. I S. 1305)" BGBl. I S. 1305
- BOMME, U. UND NAST, D. (1998): Nährstoffentzug und ordnungsgemäße Düngung im Feldanbau von Heil- und Gewürzpflanzen. - Z. Arzn. Gew.pfl. 3, 2, 82-90.
- HOLZ, (2010): Düngung. In: Hoppe, B. (Hrsg.) (2010): Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus. Band 2 Grundlagen des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus II. Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen SALUPLANTA e.V. Bernburg, 768 S.
- HOPPE, B. (Hrsg.) (2012): Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus. Band 4 Arznei- und Gewürzpflanzen A – K. Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen SALUPLANTA e.V. Bernburg, 800 S.
- HOPPE, B. (Hrsg.) (2013): Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus. Band 5 Arznei- und Gewürzpflanzen L - Z. Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen SALUPLANTA e.V. Bernburg, 800 S.
- LFL – BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT, 2018: Pflanzen- und umweltgerechte Düngung von Arznei- und Gewürzpflanzen in Bayern. <http://www.lfl.bayern.de/ipz/heilpflanzen/188161/index.php> [Abruf: 02.07.2018]

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 7 Cluster analysis of component composition of essential oil taken from plants of *Filipendula* genus



Die Clusteranalyse der Zusammensetzung der Öle, die in den Pflanzen der Gattung Filipendula vorkommen

¹Dmitriy Kruglov ; ¹Mariya Kruglova; ²Daniil Olennikov

¹ Novosibirsk State Med Univ, Dept Pharmacognosy & Bot, Novosibirsk, Russia, dskruglov@gmail.com

²Inst Gen & Expt Biol, Siberian Branch Russian Acad Sci, Ulan-Ude, Russia

DOI 10.5073/jka.2018.460.032

Zusammenfassung

Die verschiedenen Pflanzen der Gattung von *Filipendula* sind Quellen von ätherisches Öl und werden im wissenschaftlichen oder der Volksmedizin sehr häufig verwendet. Infolge der geführten Forschung wurde gegründet die Zusammensetzung von im ätherisches Öl ist methylsalicylate und salicylic Aldehyd und mono- und sesquiterpenes hauptsächlich. Zur gleichen Zeit wurde der quantitative Inhalt von getrennten Bestandteilen von ätherisches Öl bedeutsam unterschieden. Weiter sind die Mittel des Clusteranalyse angewandt worden, der erlaubt hat, den Satz aller experimentellen Angaben gleichzeitig zu analysieren. Die Analyse des gebauten hierarchischen Baums hat gezeigt, dass die erforschten Pflanzen in 3 Gruppen in Übereinstimmung mit dem Grad des Unterschieds integriert werden können: 1 - *F. camtschatica*, *F. glaberrima*, *F. palmata*; 2 - *F. ulmaria*, *F. denudata*, *F. picbaueri*; 3 - *F. vulgaris*. Solcher Vertrieb entspricht Taxonomiepositionen dieser Pflanzen der Gattung von *Filipendula*. So, der vorgeschlagene Ansatz zur Analyse der Teilzusammensetzung des Öl, als ein zusätzliches Zeichen im Lösen von Taxonomieaufgaben verwendet werden, um verschiedene Spezies zu teilen. Außer der Clusteranalyse der Zusammensetzung von ätherisches Ölen kann als eine methodische Grundlage der Durchführung eine "Fingerabdruck"-Technologie sein, die für die Identifizierung nicht qualitative Kräutrohstoffe verwendet werden kann, die andere Pflanzen enthalten.

Stichwörter: *Filipendula*, ätherisches Öl, Clusteranalyse, Fingerabdruck

Abstract

The different plants of *Filipendula* genus are sources of essential oil and are used in scientific or folk medicine very often. As a result of conducted research, it was established that the component composition of essentially oil are methylsalicylate and salicylic aldehyde and mono- and sesquiterpenes mainly. At the same time the quantitative content of separate components of essential oil were significantly differed. Further the means of data clustering have been applied which allowed to analyze the set of all experimental data simultaneously. Analysis of built hierarchical tree showed the researched plants can be integrated into 3 groups in accordance with degree of difference: 1 - *F. camtschatica*, *F. glaberrima*, *F. palmata*; 2 - *F. ulmaria*, *F. denudata*, *F. picbaueri*; 3 - *F. vulgaris*. Such distribution corresponds to taxonomy positions of these spesies of *Filipendula* genus. Thus, the proposed approach to analysis of the components composition of essential oil can be used as an additional sign in solving taxonomy tasks for dividing various species. Besides the cluster analysis of component composition of essential oils can be as a methodical basis of implementation of technology a "fingerprint" technology, which can be used for identification of not qualitative herb raw materials containing other plants.

Keywords: *Filipendula*, essential oil, cluster analysis, fingerprint

Introduction

Essential oils which can be taken from herbs are used in scientific or folk medicine very often. They are complex chemical compounds which include a lot of different terpenoid substances. We should note that the pharmacological activity of such remedies depends on not only the main

compound which prevails but also on that can be determined by minor compounds often enough. The complexity of such mixes allows to enter a concept of a component spectrum or profile of essential oil. Naturally, quality of the phytomedicines made by using such essential oils will depend on its component spectrum. Due to this the goal of this work is that it's necessary to provide constancy of component spectrum of essential oil taken from herb raw material.

In this case we must determine the component spectrum of essential oil contained in herb as a "fingerprint" and then compare this spectrum with reference-standard using any procedure.

At the same time biosynthesis of the individual chemical compounds which are a part of essential oil is species-specific and is defined by a gene pool of the plant. Nowadays, separate chemical compounds of essential oil composition are used as a species-specific marker for solving taxonomical tasks. However, such approach can be realized if it is possible to determine a dominant chemical compound. Most often this is impossible to do, and the prevailed compound is unknown, so the ways for analysis of such multicomponent mixes aren't available in a chemotaxonomy.

Approaching formal positions, a problem of comparison of objects which have a lot of parameters is a typical problem of one of sections of mathematical statistics—the multiple-factor analysis. One of methods to solve similar tasks is the method of the cluster analysis. In this case we use a concept of a certain multidimensional space the ordinates of which are the content of each component in essential oil. Each studied sample of the essential oil emitted from the analyzed herb raw materials is characterized by a certain situation in this space or the cluster depending on a component spectrum of oil.

Comparing distances between clusters in this space which concerns a certain standard it is possible to make a conclusion about the importance of differences in a component range of the research samples.

The very interesting plant from this point of view is the different plants of *Filipendula* genus. The unique feature of these plants – the ability to accumulate volatile derivatives of salicylic acid – is the reason of it [Lindeman,1983]. Systematic researches of this group of chemical compounds and comparative researches of essential oils taken from different species of the *Filipendula* genus weren't conducted.

The aim of this work was a comparative research of component spectrum of various plants of *Filipendula* species with using cluster analysis.

Materials and Methods

The inflorescences of following plants - *F. camtschatica* Maxim., *F. glaberrima* Nakai, *F. palmata* Maxim., *F. ulmaria* Maxim., *F. denudata* Fritsch., *F. picbaueri* Smejkal. and *F. vulgaris* Moench. - which were collected in stage of flowering, were used as the research objects. The collected inflorescences were dried up and crushed. The essential oil was taken by using solid state extraction. The ingredient composition of essential oil taken from researched raw material was defined by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy with using Agilent Technologies. Identification of components is determined by using comparison of the measured retention time with appropriate retention time for standard sample.

Results

As a result, 19 components were defined in essential oil composition taken from every herb and their total content accounts for significant fraction (more than 96%) in all volume researched oil.

The existence of phenolic compounds was established with methylsalicylate and salicylic aldehyde were the dominant ingredients. The terpenoids were the second main group with mono- and sesquiterpenes prevailed.

Further the means of data clustering have been applied which allowed to analyze the set of all experimental data simultaneously [Kruglov,2012]. The chosen method of cluster analysis involves hierarchical agglomerative clustering, in which two groups, chosen to optimize some criterion, are merged at each stage of the algorithm. The Ward's criterion was taken as a rule for association or communication of two groups into one cluster. The sum of root-mean-square deviations for any two (hypothetical) clusters which can be generated on each step must be minimized by this method. The distance between different clusters must be not less than a limit of variability of amount of the component spectrum of essential oil, the value of which was taken as 20%.

The hierarchical tree which was built because of such analysis is presented on fig 1.

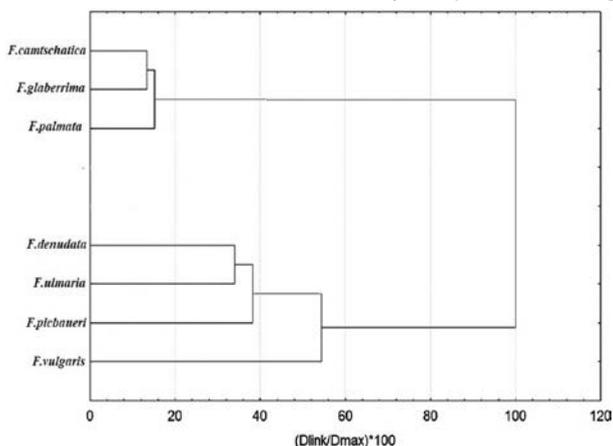


Fig 1 The hierarchical tree of different species of *Filipendula* genus

It is visible from the presented data that there are practically no crossed clusters except two close species *F. camtschatica* and *F. glaberrima* which are sometimes rating as varieties. At the same time, the researched plants can be integrated into 3 groups in accordance with degree of difference: 1 - *F. camtschatica*, *F. glaberrima*, *F. palmata*;

2 - *F. ulmaria*, *F. denudata*, *F. picbaueri*;

3 - *F. vulgaris*.

Such distribution on above described groups corresponds to distribution of these species of *Filipendula* genus according to their taxonomy positions. The obtained data demonstrates that the researched species on proximity can be divided into 3 groups: group 1 – the subgenus *Aceraria*, group 2 – subgenus *Ulmaria* and group 3 - subgenus *Filipendula*. In groups accurate division of species is observed according to taxonomical positions. These results correlate with taxonomical picture which is based on morphological features.

It is known that components of essential oil are secondary metabolites which are necessary for adaptation to growth conditions of plants. In this case the position of created cluster in space of the components of essential must depend on the species position of each plant. Thus, the proposed approach which is based on using cluster analysis can be used in solving taxonomy tasks for dividing various species.

On the other hand, herb raw materials can contain other plants. Such raw materials can't be used, and they must be identified and isolated. In this connection the application of cluster analysis of component composition of essential oils can be a methodical basis of implementation of a "fingerprint" technology, which can solve similar tasks enough successfully.

References

- Lindeman A. The aroma composition of the flower of meadowsweet (*Filipendula ulmaria* L. (Maxim.)) / A. Lindeman // Lebensmitt. – Wiss. Technol. – 1983. – Vol. 15. – P. 286-289.
 Kruglov D.S. The approach to an analysis of trace element structure of plants, 2012: Obz.klin.farmacol. lek. ter. **10 (2)**, 70-71

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 9 Polyphenol-Variabilität von zypriotischem *Cistus creticus* L.

Polyphenol-Variability of Cypriot Cistus creticus L.



Brigitte Lukas, Laura Bragagna, Katharina Starzyk, Klaudia Labedz, Klaus Stolze, Johannes Novak

Veterinärmedizinische Universität Wien, Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe,
Veterinärplatz 1, 1210 Wien

Brigitte.Lukas@vetmeduni.ac.at

DOI 10.5073/jka.2018.460.033

Zusammenfassung

30 Populationen (235 Einzelpflanzen) von zypriotischem *Cistus creticus* L. wurden hinsichtlich ihrer Polyphenol-Variabilität analysiert. Zu den wichtigsten identifizierten Verbindungen zählten Punicalagin und Punicalagingallat sowie verschiedene Glykoside von Myricetin (mit der Hauptverbindung Myricetin-3-O-Rhamnosid) und Quercetin (mit der Hauptverbindung Quercetin-3-O-Rhamnosid). Die Variabilität, sowohl zwischen als auch innerhalb der Populationen war erwartungsgemäß hoch. Die Summe des Gehaltes an Punicalagin und Punicalagingallat variierte zwischen 6,3 und 159,9 mg/g Trockenmasse. Der Gehalt an Myricetin Glykosiden lag zwischen 8,8 und 33,5 mg/g TM, bei den Quercetin Glykosiden lagen die summierten Werte zwischen 1,1 und 12,1 mg/g TM. Bezüglich der Myricetin und Quercetin Glykoside ließ sich ein leichter geografischer Gradient feststellen – mit vergleichsweise geringeren Gehalten in den nord-westlichen Populationen und höheren Werten in den eher östlich gelegenen Populationen des Sammelgebietes.

Stichwörter: *Cistus creticus* L., Polyphenole, Flavonole, Ellagitannine, intraspezifische Variabilität

Abstract

30 populations (235 individual plants) of Cypriot *Cistus creticus* L. were analysed to learn more about intra-specific polyphenol variability. The most important compounds were punicalagin and punicalagin gallate as well as myricetin glycosides (with myricetin-3-O-rhamnosid as main myricetin glycoside) and quercetin glycosides (with quercetin-3-O-rhamnosid as main quercetin glycoside). The variability observed was high between as well as within populations. The content of punicalagin and punicalagin gallate ranged between 6.3 and 159.9 mg/g dry mass. The content of the most important myricetin glycosides ranged between 8.8 and 33.5 mg/g dry mass and that of the quercetin glycosides was between 1.1 and 12.1 mg/g dry mass. Concerning myricetin and quercetin glycosides a geographical gradient was obvious, with slightly lesser contents of these compounds in the north-western populations and slightly higher amounts in more eastern populations of the sampled area.

Keywords: *Cistus creticus* L., polyphenols, flavonols, ellagitannins, intra-specific variability

Einleitung

Cistus creticus L. (syn. *C. incanus*, *C. villosus*) ist ein attraktiver, rosa blühender Strauch der im Mittelmeerraum weit verbreitet ist. Gemeinsam mit anderen *Cistus* Arten ist *C. creticus* ein wichtiger Bestandteil der Volksheilkunde im mediterranen Raum. Aktuelle Studien zeigen positive Effekte von *Cistus* Extrakten bei verschiedenen entzündlichen und infektiösen Erkrankungen. Antibakterielle, antivirale, antifungale, antioxidative und cytotoxische Aktivitäten verschiedener Extrakte wurden dokumentiert (e. g. DIMAS et al., 2006; HUTSCHENREUTHER et al., 2010; REBENBURG et al., 2016). Die verschiedenen Wirkungsweisen werden zum einen den Labdan-Diterpenen, zum anderen den Polyphenolen zugeschrieben. Über die innerartliche Variabilität dieser Inhaltsstoffe ist bisher nur wenig bekannt.

Ziel dieser Studie war die Analyse der intra-spezifischen Polyphenol-Variabilität von zypriotischem *C. creticus*. Blätter von 235 Pflanzen aus 30 Populationen wurden mit Wasser extrahiert und vergleichend via HPLC untersucht.

Material und Methoden

Das analysierte Pflanzenmaterial stammt von 235 Einzelpflanzen von *Cistus creticus* L. (30 Wildpopulationen, Abbildung 1), gesammelt zur Blütezeit im April 2017. Herbarbelege der einzelnen Populationen liegen im institutseigenen Herbar auf. Der kleinere Teil der Populationen (3, 4, 9, 10 und 12; in Richtung nord-westliche Grenze des Sammelgebietes) wurden der Varietät *C. creticus* var. *tauricus* zugeordnet, die anderen Populationen der Varietät *C. creticus* var. *creticus* (MEIKLE, 1977).



Abb. 1 Geographische Verteilung der 30 besammelten Wildpopulationen im griechischen Teil Zyperns. Ausgewählte Populationen sind mit entsprechender Nummer gekennzeichnet.

Fig. 1 Geographic localization of the 30 wild populations sampled. Selected populations are numbered accordingly.

Je etwa 0,15 g luft-getrocknetes, fein gemahlenes Pflanzenmaterial wurden in 8 ml Milli-Q Wasser bei 60 °C für 120 min im Schüttelwasserbad extrahiert. Die filtrierten Extrakte wurden bis zur zeitnahen Analyse bei – 20 °C aufbewahrt.

Die filtrierten Extrakte wurden an der HPLC (Shimadzu Nexera XR, ausgestattet mit CBM-20A Steuereinheit, DGU-20A5R Entgaser, LC-20ADXR Pumpe, SIL-20AXR Autosampler, CTO-20AC Säulenofen und SPD-M20A UV-Detektor) vermessen. Die Datenaufnahme und –verarbeitung erfolgte mit dem Softwarepaket LabSolutions 5.82 (Shimadzu). Die Trennung der Komponenten erfolgte über eine XBridge™ Shield RP18 Säule (3,5 µm, 4,6 x 150 mm; Waters) mit vorgeschalteter C18 Vorsäule (ODS Octadecyl, 4 mm x 0,3 mm, Phenomenex), mit einem Gradient aus Acetonitril (LM A) und 2 %iger Essigsäure (LM B), beginnend mit 94 % LM B zu 83 % LM B (Minute 38), 80 % LM B (Minute 53), 0 % LM B (Minuten 53 – 58) und 94 % LM B (Minute 58 bis zum Laufende bei 65 Minuten). Die Flußrate betrug 1 mL/min bei einer Ofentemperatur von 25 °C.

Die Datenaufnahme erfolgte durchgehend bei 354 nm. Nach Durchsicht von ersten ausgewählten Chromatogrammen wurden insgesamt 40 Peaks definiert und in Folge ausgewertet. Die Peak-Identifizierung erfolgte zum Einen mittels Vergleich von Retentionszeiten bzw. UV-Spektren von Referenzsubstanzen (Punicalagin, M-3-O-Rhamnosid, Q-3-O-Rutinosid, Q-3-O-Galaktosid, Q-3-O-Glukosid Q-3-O-Rhamnosid) sowie mittels vergleichender Läufe ausgewählter Proben an der HPLC-MS (Elektrospray, negativer Modus).

Die Quantifizierung der Verbindungen der Punicalagin und Punicalagingallate, Myricetin- und Quercetinglykoside erfolgte mittels Referenzsubstanzen von Punicalagin (die Quantifizierung der Punicalagingallate erfolgte relativ zu Punicalagin), Myricetin-3-O-Rhamnosid (die Quantifizierung von Myricetin-3-O-Galactosid, Myricetin-3-O-Glukosid und Myricetin-O-Xylosid erfolgte dann relativ zu Myricetin-3-O-Rhamnosid) und Quercetin-3-O-Rhamnosid (die Quantifizierung von

Quercetin-3-O-Rutinosid, Quercetin-3-O-Galactosid, Quercetin-3-O-Glucosid und Quercetin-O-xylosid erfolgte dann relativ zu Quercetin-3-O-Rhamnosid).

Statistische Analysen wurden mit IBM SPSS Statistics 24 durchgeführt. Populationen 6, 12 und 24 werden durch Einzelindividuen repräsentiert und scheinen in der grafischen Analyse nicht auf.

Ergebnisse und Diskussion

Zweihundertfünfundreißig *C. creticus* Pflanzen aus 30 zyprischen Wild-Populationen (Abbildung 1) wurden hinsichtlich ihrer Polyphenol-Zusammensetzung untersucht. Zur Auswertung kamen insgesamt 40 Peaks (Abbildung 2.) deren Flächensummen je 94 bis 100 % der gesamten Peakfläche repräsentierten.

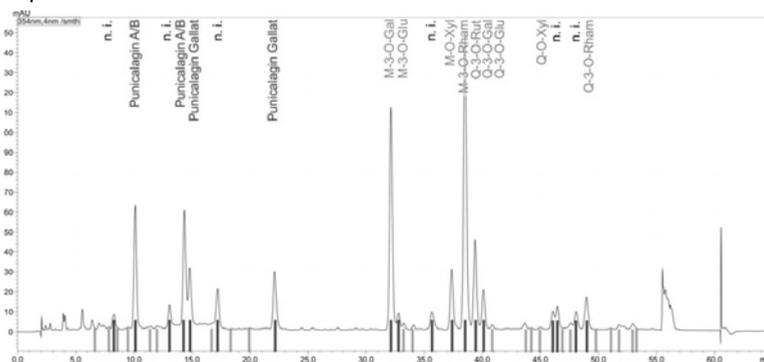


Abb. 2 Beispiel-Chromatogramm eines Individuums aus Population 2. Rote Markierungen verweisen auf die Retentionszeiten der 40 aufgenommenen Peaks (hellrote Markierungen beziehen sich auf Peaks mit geringem Flächen-Anteil, dunkelrote Markierungen beziehen sich auf die Haupt-Peaks).

Fig. 2 Example Chromatogramm of an individual plant sampled in population 2. Red marks refer to retention times of the 40 analyzed peaks (light red marks refer to peaks with small percentages, dark red marks refer to the main peaks).

Zu den bisher identifizierten Hauptverbindungen zählten Ellagitannine (jeweils zwei Punicalagin Isomere und Punicalagingallat Isomere) und verschiedene Flavonole (Myricetin- und Quercetinglykoside). In zyprischem *C. creticus* umfasste die Gruppe der Myricetinglykoside hauptsächlich Myricetin-3-O-Galactosid (ev. ein Myricetin-O-Rhamnosid-O-Hexosid überlagernd), Myricetin-3-O-Glucosid, Myricetin-O-Xylosid und Myricetin-3-O-Rhamnosid. Die wichtigsten Quercetinglykoside waren Quercetin-3-O-Rutinosid, Quercetin-3-O-Galactosid, Quercetin-3-O-Glucosid, Quercetin-O-xylosid und Quercetin-3-O-Rhamnosid (Abbildung 2). Einzelnen der noch nicht identifizierten Peaks bei längerer Retentionszeit könnten weitere Myricetin- und Quercetinglykoside sowie eventuell auch Kaempferglykoside zugrunde liegen (Absicherung der Identifizierung in Arbeit). Punicalagin (aber nicht Punicalagingallat) sowie diverse Myricetin- und Quercetinglykoside wurden auch von MAGGI et al. (2016) in italienischem *C. creticus* subsp. *eriocephalus* identifiziert. In einer Analyse von spanischem *C. incanus* fehlten die Ellagitannine Punicalagin und Punicalagingallat in einer ansonsten an Flavonolen (v. a. Myricetin- und Quercetinderivaten) reichen Probe (BARRAJÓN-CATALÁN, 2010). Die in zyprischem *C. creticus* identifizierten Myricetin- und Quercetinglykoside decken sich weitgehend mit jenen Flavonolderivaten die bei der Analyse diverser kommerzieller *C. incanus* Tees detektiert wurden (RIEHLE, 2014).

Abbildung 3 gibt einen Überblick über die Variabilität der drei hervorgehobenen Substanzgruppen innerhalb und zwischen den zyprischen *C. creticus* Populationen. Die Summe des Gehaltes an Punicalagin und Punicalagingallat variierte zwischen 6,3 und 159,9 mg/g

Trockenmasse. Die größte Variationsbreite ergab sich in Population 11 mit Werten zwischen 21,2 und 159,9 mg/g TM. Population 11 war auch jene mit dem höchsten aufgenommenen Gehalt an Punicalagin und Punicalagingallat. Der Gehalt an Myricetinglykosiden variierte zwischen 8,8 und 33,5 mg/g TM. Die größte Variationsbreite wurde in Population 30 mit Werten zwischen 14,2 und 33,5 mg/g TM detektiert, Population 30 war somit auch jene Population mit dem höchsten aufgenommenen Gehalt. Zu den bedeutendsten Myricetinglykosiden zählten durchgehend Myricetin-3-O-Galactosid und Myricetin-3-O-Rhamnosid (Abbildung 2). Bei den Quercetinglykosiden lagen die Werte zwischen 1,1 und 12,1 mg/g TM. Die höchste Variationsbreite ergab sich in Population 9 mit einem Gehalt an Quercetinglykosiden zwischen 1,2 und 9,7 mg/g TM, der höchste Wert wurde wieder in Population 30 gemessen. Die bedeutendsten Quercetinglykoside waren durchgehend Quercetin-3-O-Rutinosid und Quercetin-3-O-Rhamnosid.

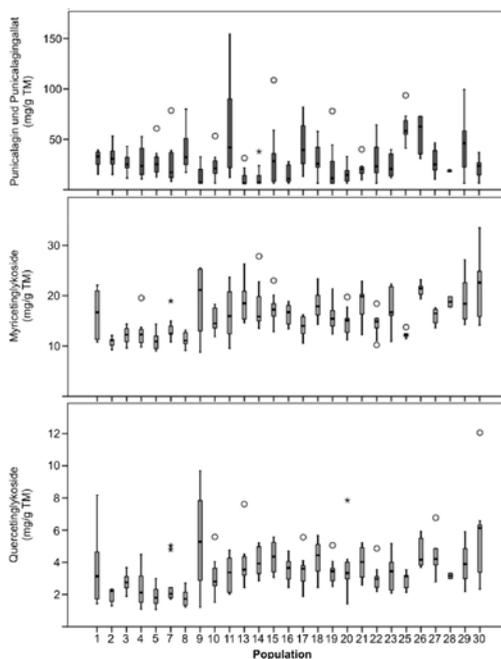


Abb. 3 Variabilität der Ellagitannine Punicalagin und Punicalagingallat sowie der wichtigsten Myricetinglykoside (Summe von M-3-O-Gal, M-3-O-glu, M-O-Xyl, M-3-O-Rham) und Quercetinglykoside (Summe von Q-3-O-Rut, Q-3-O-Gal, Q-3-O-Glu, Q-O-Xyl, Q-3-O-Rham) in den besammelten zypriotischen Populationen. Die nur durch ein Individuum repräsentierten Populationen 6, 12 und 24 scheinen in der Grafik nicht auf.

Fig. 3 Boxplots representing contents of punicalagin and punicalagin gallate as well as the most important myricetin glycosides (sum of M-3-O-gal, M-3-O-glu, M-O-xyl, M-3-O-rham) and quercetin glycosides (sum of Q-3-O-rut, Q-3-O-gal, Q-3-O-glu, Q-O-xyl, Q-3-O-rham) in the Cypriot populations sampled. Populations 6, 12 and 24 were excluded as they were represented by one individual plant only.

Bei den Myricetin- und Quercetinglykosiden lies sich ein klares geografisches Muster erkennen. Die vergleichsweise Flavonol-armen Populationen 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8 stammten vom nord-westlichen Rand des besammelten Gebietes (Abbildung 1), in Richtung östliche Grenze des Sammelgebietes lies sich eine leichte Tendenz zu höheren Flavonol-Gehalten erkennen. Im Falle von Punicalagin und Punicalagingallat lies sich keine geografische Strukturierung erkennen. Ein Zusammenhang mit der Klassifizierung der taxonomischen Varietät war nicht festzustellen.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich herzlich für die Mithilfe von Dr. Corinna Schmiderer bei der Aufsammlung des Probenmaterials sowie für die Mithilfe von Ing. Martin Finsterböck bei der Extrakt-Analyse an der HPLC.

Literatur

- BARRAJÓN-CATALÁN, E., FERNÁNDEZ-ARROYO, S., ROLDÁN, C., GUILLÉN, E., SAURA, D., SUEGURA-CARRETERO, A. UND V. MICOL, 2011: A Systematic Study of the Polyphenolic Composition of Aqueous Extracts Deriving from Several *Cistus* Genus Species: Evolutionary Relationship. – *Phytochemical Analysis* **22**: 303–312.
- DIMAS, K., PAPADAKI, M., TSIMPLOULI, C., HATZIANTONIOU, S., ALEVIZOPOULOS, K., PANTAZIS, P. UND C. DEMETZOS, 2006: Labd-14-ene-8,13-diol (sclareol) induces cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells and enhances the activity of anticancer drugs. – *Biomedicine & Pharmacotherapy* **60**: 127–133.
- HUTSCHENREUTHER, A., BIRKEMEYER, C., GRÖTZINGER, K., STRAUBINGER, R.K., UND H.W. RAUWALD, 2010: Growth inhibiting activity of volatile oil from *Cistus creticus* L. against *Borrelia burgdorferi* s.s. in vitro. – *Pharmazie* **65**: 290–295.
- MAGGI, F., LUCARINI, D., PAPA, F., PERON, G. UND S. DALL'ACQUA, 2016: Phytochemical analysis of the labdanum-poor *Cistus creticus* subsp. *eriocephalus* (Viv.) Greuter et Burdet growing in central Italy. – *Biochemical Systematics and Ecology* **66**: 50–57.
- MEIKLE, R. D., 1977: Flora of Cyprus, Volume 1. S 183–187. The Bentham-Moxon Trust, Royal Botanic Gardens, Kew.
- REBENBURG, S., HELFER, M., SCHNEIDER, M., KOPPENSTEINER, H., EBERLE, J., SCHINDLER, M., GÜRTLER, L., UND R. BRACK-WERNER, 2016: Potent in vitro antiviral activity of *Cistus incanus* extract against HIV and Filoviruses targets viral envelope proteins. – *Scientific Reports* **6**: 20394.
- RIEHLE, P., 2014: Phenolische Inhaltsstoffe in *C. incanus* Tee – Charakterisierung und Stabilität innerhalb der Teezubereitung. Dissertation Universität Hamburg

Posterbeitrag Themenkreis D: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

P 10 Scientific evaluation of medicinal plants used for the treatment of cervicitis (Qorohe- Rahem) in Iranian Traditional Medicine



Razieh Nabimeybodi¹, Rahele Zareshahi², Mojgan Tansaz^{1*}, Marzieh Vahid Dastjerdi³, Homa Hajimehdipoor⁴, Zahra Ghalamkari⁵

¹Department of Traditional Medicine, School of Traditional Medicine, Traditional Medicine and Materia Medica Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Traditional medicine, Tehran, Iran.

²School of Traditional Medicine, Kerman Medical University, Kerman, Iran.

³Department of Obstetrics and Gynecology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴Department of Traditional Pharmacy, School of Traditional Medicine, Traditional Medicine and Materia Medica Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

⁵Department Life Science, Biology Institute, Applied Botany, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin, Germany

DOI 10.5073/jka.2018.460.034

Abstract

Cervicitis is an inflammatory condition of the cervix associated with upper genital tract infection and reproductive complications. Therapy for cervicitis in conventional system is the use of antibiotics and antifungal therapies and surgical interventions, none of these treatments provides the definite efficacy in spite of high cost and side effect. So there is a need for alternate therapy which is safe, effective, easily available and free from side effects. Our study focuses on medicinal plants mentioned in main Iranian Traditional Medicine reference books.

Medicinal plants mentioned in Iranian Traditional Medicine for treatment of Cervicitis were elicited and searched in electronic databases including PubMed, Scopus, Science direct and Google Scholar to find studies that confirmed their efficacy. The findings included 311 plants (Which are mentioned below) belonging to 21 families, research findings showed that these plants that have mentioned in the Iranian Traditional Medicine resources can contribute to the recovery and treatment of cervicitis through anti- inflammatory, anti- oxidant, anti- bacterial and anti- fungal, wound healing and analgesic effects. Finding the medicinal plants effective on cervicitis based on ITM could suggest a better strategy for relieving and management cervicitis symptoms especially in recurrent or persistent condition. In following step effect of selected plants were investigated. Results are confirmed the effect of *Lawsonia inermis* on treating Cervicitis which is currently in progress (Zareshahi et al. 2018).

Key words: *Myrtus communis*, *Juniperus Sabina*, *Peucedanum officinale*, *Commiphora opobalsamum*, *Hyoscyamus sp.*, *Artemisia vulgaris*, *Polyporus officinalis*, *Lawsonia inermis*, *Trigonella foenum-graecum*, *Prangos ferulaceae*, *Apium graveolens*, *Malva sylvestris*, *Descurainia Sophia*, *Allium porrum*, *Boswellia carteri*, *Fraxinus excelsior*, *Plantago major*, *Phaseolus vulgaris*, *Pistacia lentiscus*, *Commiphora myrrha*, *Trachyspermum copticum*, *Narcissus tazetta*, *Verbena officinalis*, *Foeniculum vulgare*, *Cydonia oblonga*, *Anethum graveolens*, *Ficus carica*, *Rosa damascena*, *Crocus sativus*, *Aristolochia longa*, *Olea europaea*.

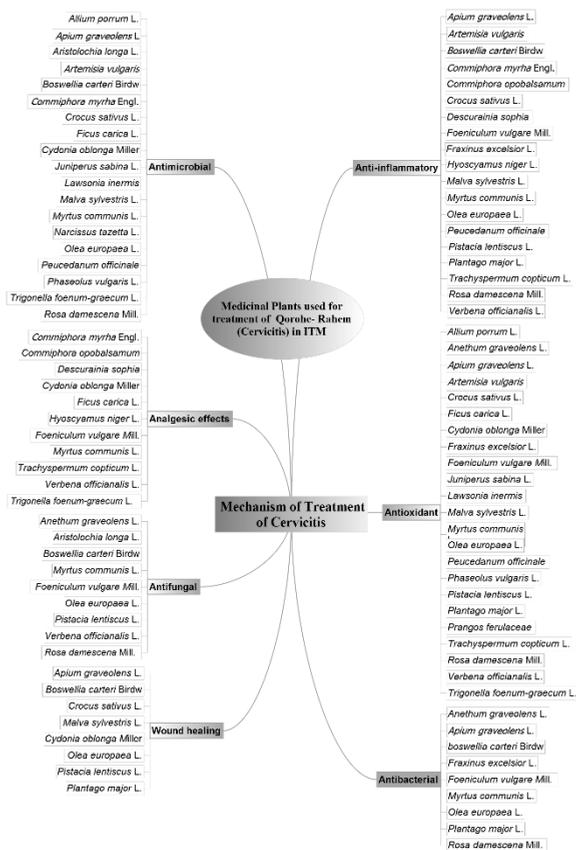
Introduction

Cervicitis is an inflammatory condition of the cervix associated with upper genital tract infection and reproductive complications (1). Therapy for cervicitis in conventional system is the use of antibiotics and antifungal therapies and surgical interventions, none of these treatments provides the definite efficacy in spite of high cost and side effect (2). So there is a need for alternate therapy

which is safe, effective, easily available and free from side effects. This review focuses on medicinal plants mentioned in main Iranian Traditional Medicine reference books.

Methods

In this study Medicinal herbs used for the treatment of Cervicitis were with keywords of Qoruh-e-Rahem or Qarhah searched and extracted from 7 main traditional medicine reference books and others from various historical eras during 10th-18th centuries including Canon of Medicine of Avicenna (3), *Liber Continent* of Rhazes, Tohfah-ol-Momenin by Hakim Momen Hussein (4), Storehouse of Medicaments and AghiliKhorasani (5), *Exir Azam* of Azam Khan (6), Zakhireh Kharazmshahi of Jorjani (7), and Sharh-ol- Asbab of Nafis-ibn- Evas-e Kermani (8). Medicinal herbs were categorized in Mofradat's (simple ingredient) and Qarabadin's (3), Then simple herb drugs were selected from extracted treatments.



Graph 1-Medicinal plants used for treatment of cervicitis in ITM

Results

The findings included 31 plants belonging to 21 families(graph1). Research findings showed that these plants have mentioned in the Iranian Traditional Medicine resources can contribute to the recovery and treatment of cervicitis through anti- inflammatory, anti- oxidant, anti- bacterial and anti- fungal, wound healing and analgesic effects.

Discussion

Finding the medicinal plants effective on cervicitis based on ITM could suggest a better strategy for relieving and management cervicitis symptoms especially in recurrent or persistent condition.

Acknowledgments

We thank Ms. Zahra Ghalamkari (Humboldt-Universität zu Berlin, Germany) for valuable suggestions, critical comments and presenting the poster in 8 Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung.

Einleitung

Zervizitis ist eine entzündliche Erkrankung des Gebärmutterhalses, die mit Infektionen des oberen Genitaltrakts und reproduktiven Komplikationen einhergeht (1). Therapie für Zervizitis in konventionellen Systemen ist die Verwendung von Antibiotika und antimykotische Therapien und chirurgische Eingriffe, keine dieser Behandlungen bietet die endgültige Wirksamkeit trotz hoher Kosten und Nebenwirkungen (2). Daher besteht ein Bedarf für eine alternative Therapie, die sicher, wirksam, leicht verfügbar und frei von Nebenwirkungen ist. Diese Übersicht konzentriert sich auf Heilpflanzen, die in den wichtigsten Nachschlagewerken der Iranischen Traditionellen Medizin erwähnt werden.

Methoden

In dieser Studie wurden Heilkräuter zur Behandlung von Zervizitis mit Stichwörtern von Qoruh-e-Rahem oder Qarhah durchsucht und aus 7 Haupttraditionellen Medizin-Nachschlagewerken und anderen aus verschiedenen historischen Epochen im 10.-18. Jahrhundert, einschließlich des Kanons der Medizin, extrahiert Avicenna (3), Liber Continent von Rhazes, Tohfath-ol-Momenin von Hakim Momen Husseini (4), Lagerhaus von Medikamenten von Aghili Khorasani (5), Exir Azam von Azam Khan (6), Zakhireh Kharazmshahi von Jorjani (7), und Sharh-ol-Asbab von Nafis-ibn-Evas-e Kermani (8). Medizinische Kräuter wurden in Mofradat (einfache Zutat) und Qarabadin (3) kategorisiert. Dann wurden einfache Kräuterdrogen aus extrahierten Behandlungen ausgewählt.

Ergebnisse

Die Befunde umfassten 31 Pflanzen aus 21 Familien. Forschungsergebnisse zeigten, dass diese Pflanzen in der iranischen Traditionsmedizin erwähnt werden können, um durch entzündungshemmende, antioxidative, antibakterielle und anti-bakterielle Mittel zur Genesung und Behandlung von Zervizitis beizutragen. Pilz-, Wundheilungs- und analgetische Wirkungen.

Diskussion

Das Auffinden der auf Zervizitis beruhenden Heilpflanzen basierend auf ITM könnte eine bessere Strategie zur Linderung und Behandlung von Zervizitissymptomen vor allem in wiederkehrenden oder anhaltenden Zuständen nahelegen.

Danksagungen

Wir danken Frau Zahra Ghalamkari (Humboldt-Universität zu Berlin) für wertvolle Anregungen, kritische Kommentare und die Präsentation des Posters in 8 Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung.

References

1. Chiou, J.-F. and M.-L. Hu, Elevated lipid peroxidation and disturbed antioxidant enzyme activities in plasma and erythrocytes of patients with uterine cervicitis and myoma. *Clinical biochemistry*, 1999. 32(3): p. 189-192.

- 2.Zahid Shabnam, Rehman Hina, Raza Aysha, Kousar Fahmida. Effect of Unani Formulation in Cervicitis (Warne-unqur-rahm): A Single-blind Randomized Placebo-controlled Trial. *Altern Integr Med.*5(1):213-9.
- 3.A Ibn-e-sina. *Al-Qanun fit-teb* (The Canon of Medicine). Beirut: Alamlé- al- Matboat institute; 2005.
- 4.MM Tonkaboni. In: *Tohfat-ol-Momenin* (The Momens' Gift). In: MR SA, R R, F F, editors. Tehran: Tehran Shahid Beheshti University of Medical Sciences; 2007.
- 5.MH Aghili Khorasani. In: *Makhzan- Al'Advieh*. In: R R, MR SA, F F, editors. Tehran: Tehran University of Medical Sciences; 2009.
- 6.Chashti Mohammad. *Exir-e Aazam*. Tehran: Research Institute for Islamic and Complementary Medicine; 2007. Vol.2 P.307. Vol.3 P.674, 81,83, 85-61, 93 (Persian) p.
- 7.Jorjani Smael. *Zakhire Kharazmshahi*. Qom: Jalal al- Din; 2012. Vol.1 P.654. Vol.2 P.267,962. Vol.3 P.56 (Persian) p.
- 8.N Kermani. *Sharh-ol-Asbab val Alamat*: Tehran Research Institute for Islamic and Complementary Medicine publication; 2008.
9. M A, ed. *Ghazvini T, Favaed -ol-Ttafie..* . Almai, Tehran (2009) 118 [Persian].
10. Arzani M. *Tibb-e-Akbari*. Jalal al- Din, Qom (2008) 120- 1330 [Persian].
11. Naseri M, Mojab F, Khodadoost M, Kamalinejad M, Davati A, Choopani R, Hasheminejad A, Bararpour Z, Shariatpanahi S, and Emtiazy M. The study of anti-inflammatory activity of oil-based dill (*Anethum graveolens* L.) extract used topically in formalin-induced inflammation male rat paw. *Iran. J. Pharm. Res.* (2012) 11: 1169-74.
- (12) Atta A and Alkofahi A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *J. Ethnopharmacol.* (1998) 60: 117-24.
- (13) Pires JM, Mendes FR, Negri G, Duarte-Almeida JM, and Carlini EA. Antinociceptive peripheral effect of *Achillea millefolium* L. and *Artemisia vulgaris* L.: both plants known popularly by brand names of analgesic drugs. *Phytother. Res.* (2009) 23: 212-9.
- (14) Su S, Hua Y, Wang Y, Gu W, Zhou W, Duan J-a, Jiang H, Chen T, and Tang Y. Evaluation of the anti-inflammatory and analgesic properties of individual and combined extracts from *Commiphora myrrha* and *Boswellia carterii*. *J. Ethnopharmacol.* (2012) 139: 649-56.
- (15) Al-Salmi AA, Sattar MA, Khan LM, and Al-Harthi SE. Comparative study of analgesic and anti-inflammatory effects of *Commiphora opobalsamum* with diclofenac in rodents. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* (2015) 9: 806-17.
- (16) Hosseinzadeh H and Younesi HM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol.* (2002) 2: 7.
- (17) Essafi-Benkhadir K, Refai A, Riahi I, Fattouch S, Karoui H, and Essafi M. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) peel polyphenols modulate LPS-induced inflammation in human THP-1-derived macrophages through NF- κ B, p38MAPK and Akt inhibition. *BBRC.* (2012) 418: 180-5.
- (18) Mohamed NH and Mahrous AE. Chemical constituents of *Descurainia sophia* L. and its biological activity. *Rec Nat Prod.* (2009) 3: 58-67.
- (19) Rahimi R and Ardekani MRS. Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill. in traditional Iranian medicine and modern phytotherapy. *Chin. J. Integr. Med.* (2013) 19: 73-9.
- (20) Middleton P, Stewart F, Al-Qahtani S, Egan P, O'Rourke C, Abdulrahman A, Byres M, Middleton M, Kumarasamy Y, and Shoeb M. Antioxidant, antibacterial activities and general toxicity of *Alnus glutinosa*, *Fraxinus excelsior* and *Papaver rhoeas*. *Iran. J. Pharm. Res.* (2010) 101-3.
- (21) Begum S, Saxena B, Goyal M, Ranjan R, Joshi VB, Rao CV, Krishnamurthy S, and Sahai M. Study of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of seeds of *Hyoscyamus niger* and isolation of a new coumarinolignan. *Fitoterapia.* (2010) 81: 178-84.
- (22) Liou J-R, El-Shazly M, Du Y-C, Tseng C-N, Hwang T-L, Chuang Y-L, Hsu Y-M, Hsieh P-W, Wu C-C, Chen S-L, Hou M-F, Chang F-R, and Wu Y-C. 1,5-Diphenylpent-3-en-1-ynes and methyl naphthalene carboxylates from *Lawsonia inermis* and their anti-inflammatory activity. *Phytochemistry.* (2013) 88: 67- 73.
- (23) Prudente AS, Loddi AM, Duarte MR, Santos AR, Pochapski MT, Pizzolatti MG, Hayashi SS, Campos FR, Pontarolo R, and Santos FA. Pre-clinical anti-inflammatory aspects of a cuisine and medicinal millennial herb: *Malva sylvestris* L. *Food Chem. Toxicol.* (2013) 58: 324-31.
- (24) Aleksic V and Knezevic P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiol. Res.* (2014) 169: 240-54.
- (25) R C, M K, M D, M D, A B, and F K. Chloroformic and Methanolic Extracts of *Olea europaea* L. Leaves Present Anti-Inflammatory and Analgesic Activities. *ISRN Pharmacology.* (2011) Article ID 564972: 5.
- (26) Sevastre B, Vostinaru O, Mogosan C, Marcus I, and Deliu C. Antiinflammatory activity of *Peucedanum officinale* on rats. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine.* (2008) 64: 295-8.
- (27) Mahmoudi M, Ebrahimzadeh M, Nabavi S, Hafezi S, Nabavi S, and Eslami S. Antiinflammatory and antioxidant activities of gum mastic. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* (2010) 14: 765-9.
- (28) Stanisavljević IT, Stojičević SS, Veličković DT, Lazić ML, and Veljković VB. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the extracts from plantain (*Plantago major* L.) leaves. *SS&T.* (2008) 43: 3652-62.
- (29) Zubair M, Nybom H, Lindholm C, Brandner JM, and Rumpunen K. Promotion of wound healing by *Plantago major* L. leaf extracts-ex-vivo experiments confirm experiences from traditional medicine. *Nat. Prod. Res.* (2016) 30: 622-4.
- (30) Hajhashemi V, Ghannadi A, and Hajiloo M. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Rosa damascena* hydroalcoholic extract and its essential oil in animal models. *Iran. J. Pharm. Res.* (2010) 163-8.

- (31) Thangam C and Dhananjayan R. Antiinflammatory potential of the seeds of *Carum copticum* Linn. *Indian J Pharmacol.* (2003) 35: 388-91.
- (32) Shariffar F, Khazaeli P, Alli N, Talebian E, Zarehshahi R, and Amiri S. Study of antinociceptive and anti-inflammatory activities of certain Iranian medicinal plants. *J. Intericult. Ethnopharmacol.* (2012) 1: 19-24.
- (33) Casanova E, García-Mina J, and Calvo M. Antioxidant and antifungal activity of *Verbena officinalis* L. leaves. *Plant Foods Hum. Nutr.* (2008) 63: 93-7.
- (34) Mnayer D, Fabiano-Tixier A-S, Petitcolas E, Hamieh T, Nehme N, Ferrant C, Fernandez X, and Chemat F. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the Alliaceae family. *Molecules (Basel, Switzerland).* (2014) 19: 20034-53.
- (35) Tian J, Ban X, Zeng H, Huang B, He J, and Wang Y. In vitro and in vivo activity of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) against fungal spoilage of cherry tomatoes. *Food Control.* (2011) 22: 1992-9.
- (36) Shyu Y-S, Lin J-T, Chang Y-T, Chiang C-J, and Yang D-J. Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower. *Food Chem.* (2009) 115: 515-21.
- (37) Baananou S, Bouftira I, Mahmoud A, Boukef K, Marongiu B, and Boughattas NA. Antitumorogenic and antibacterial activities of *Apium graveolens* essential oil and extract. *Nat Prod Res.* (2013) 27: 1075-83.
- (38) Benarba B and Meddah B. Ethnobotanical study, antifungal activity, phytochemical screening and total phenolic content of Algerian *Aristolochia longa*. *J. Intericult. Ethnopharmacol.* (2014) 3: 150.
- (39) Karabegović I, Nikolova M, Veličković D, Stojčević S, Veljković V, and Lazić M. Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extracts of the *Artemisia* sp. Recovered by Different Extraction Techniques. *Chin. J. Chem. Eng.* (2011) 19: 504-11.
- (40) Camarda L, Dayton T, Di Stefano V, Pitonzo R, and Schillaci D. Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oils from *Boswellia* spp.(Burseraceae). *Anal. Chim.* (2007) 97: 837-44.
- (41) Shen T, Li G-H, Wang X-N, and Lou H-X. The genus *Commiphora*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* (2012) 142: 319-30.
- (42) Omer S, Adam S, and Mohammed O. Antimicrobial activity of *Commiphora myrrha* against some bacteria and *Candida albicans* isolated from gazelles at King Khalid Wildlife Research Centre. *J. Med. Plant.* (2011) 5: 65-71.
- (43) Abbas FA, Al-Massarany SM, Khan S, Al-Howiriny TA, Mossa JS, and Abourashed EA. Phytochemical and biological studies on Saudi *Commiphora opobalsamum* L. *Nat Prod Res.* (2007) 21: 383-91.
- (44) Sengul M, Yildiz H, Gungor N, Cetin B, Eser Z, and Ercisli S. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences.* (2009) 22: 102-6.
- (45) Shahidi Bonjar G, Aghighi S, and Karimi Nik A. Antibacterial and antifungal survey in plants used in indigenous herbal-medicine of south east regions of Iran. *J Biol Sci.* (2004) 4: 405-12.
- (46) Joseph B and Raj SJ. Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn--An overview. *International Journal of PharmTech Research.* (2011) 3: 8-12.
- (47) Kaur GJ and Arora DS. Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi*. *BMC complementary and alternative medicine.* (2009) 9:
- (48) Kostova I and Iossifova T. Chemical components of *Fraxinus* species. *Fitoterapia.* (2007) 78: 85-106.
- (49) Kadi K, Yahia A, Hamli S, Auidane L, Khabthane H, and Ali WK. In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of White Henbane treated by phytohormones. *Pak J Biol Sci.* (2013) 16: 984.
- (50) Asili J, Emami S, Rahimizadeh M, Fazly-Bazzaz B, and Hassanzadeh M. Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus sabina* L. and *Juniperus foetidissima* Willd. essential oils. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* (2010) 13: 25-36.
- (51) Babu PD and Subhasree R. Antimicrobial activities of *Lawsonia inermis*-a review. *Acad J Plant Sci.* (2009) 2: 231-2.
- (52) Talib WH and Mahasneh AM. Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. *Molecules (Basel, Switzerland).* (2010) 15: 1811-24.
- (53) Pereira AP, Ferreira IC, Marcelino F, Valentão P, Andrade PB, Seabra R, Estevinho L, Bento A, and Pereira JA. Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules (Basel, Switzerland).* (2007) 12: 1153-62.
- (54) MATEJIĆ JS, DŽAMIĆ AM, ĆIRIĆ AD, KRIVOŠEJ Z, RANĐELOVIĆ LN, and MARIN PD. Antioxidant and antimicrobial activities of extracts of four *Peucedanum* L. species. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures.* (2013) 8: 655-65.
- (55) Amarowicz R, Dykes GA, and Pegg RB. Antibacterial activity of tannin constituents from *Phaseolus vulgaris*, *Fagopyrum esculentum*, *Corylus avellana* and *Juglans nigra*. *Fitoterapia.* (2008) 79: 217-9.
- (56) Paraschos S, Mitakou S, and L Skaltsounis A. Chios gum mastic: a review of its biological activities. *Curr. Med. Chem.* (2012) 19: 2292-302.
- (57) Coruh N, Celep AS, and Özgökçe F. Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food Chem.* (2007) 100: 1237-42.
- (58) Shohayeb M, Abdel-Hameed S, Bazaid SA, and Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. *GJP.* (2014) 8: 01-7.
- (59) Mahboubi M and Kazempour N. Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* and *Trachyspermum copticum* essential oil. *IJM.* (2011) 3: 194-200.

- (60) Ud Din Z, Shad AA, Bakht J, Ullah I, and Jan S. In vitro antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical screening of *Apium graveolens*. *Pak. J. Pharm. Sci.* (2015) 28: 1699-704.
- (61) Prakash B, Mishra PK, Kedia A, and Dubey N. Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant potential of chemically characterized *Boswellia carterii* Birdw essential oil and its in vivo practical applicability in preservation of *Piper nigrum* L. fruits. *LWT-Food Science and Technology*. (2014) 56: 240-7.
- (62) Silva BM, Andrade PB, Valentão P, Ferreres F, Seabra RM, and Ferreira MA. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* (2004) 52: 4705-12.
- (63) Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, and Mirzaei M. The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. *JFUMS*. (2011) 1: 160-7.
- (64) Emami S, Asili J, Mohagheghi Z, and Hassanzadeh M. Antioxidant activity of leaves and fruits of Iranian conifers. *J. Evidence-Based Complementary Altern. Med.* (2007) 4: 313-9.
- (65) Hsouna AB, Trigui M, Culioli G, Blache Y, and Jaoua S. Antioxidant constituents from *Lawsonia inermis* leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. *Food Chem.* (2011) 125: 193-200.
- (66) Luna-Vital DA, Mojica L, de Mejía EG, Mendoza S, and Loarca-Piña G. Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A review. *Food Res. Int.* (2015) 76: 39-50.
- (67) Cardador-Martínez A, Loarca-Piña G, and Oomah BD. Antioxidant Activity in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *S. J. Agric. Food Chem.* (2002) 50: 6975-80.
- (68) Boskabady MH, Shafei MN, Saberi Z, and Amini S. Pharmacological effects of *Rosa damascena*. *Iran. J. Basic Med. Sci.* (2011) 14: 295-307.
- (69) Nickavar B and Abolhasani F. Screening of antioxidant properties of seven Umbelliferae fruits from Iran. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. (2009) 22: 30-5.
- (70) Srinivasan K. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A review of health beneficial physiological effects. *Food Rev. Int.* (2006) 22: 203-24.

Posterbeitrag Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

P 12 Innerartliche Variabilität bei der Gaterslebener Genbankkollektion von Rosmarin (*Rosmarinus officinalis* L.)

*Infraspecific variability of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in the Gatersleben genebank collection*



Ulrike Lohwasser¹, Andreas Börner¹, Remigius Chizzola², Johannes Novak²

¹Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Corrensstrasse 3, 06466 Seeland/OT Gatersleben, Deutschland, E-Mail: lohwasse@ipk-gatersleben.de

²Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich

DOI 10.5073/jka.2018.460.035

Zusammenfassung

Rosmarin (*Rosmarinus officinalis* L.) ist ein im Mittelmeergebiet vorkommender immergrüner Strauch aus der Familie der Lippenblütler (Lamiaceae). Überwiegend als Gewürz bekannt, ist Rosmarin aber auch eine Heilpflanze. Anwendungsgebiete sind Verdauungsstörungen, Blähungen, Völlegefühl und Magen-Darm-Galle-Störungen. Auch eine äußerliche Anwendung bei Muskel- und Gelenkrheumatismus ist beschrieben. In der Genbank des Leibniz-Institutes für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) lagern 41 Akzessionen von *R. officinalis*. Es handelt sich sowohl um Wildaufsammlungen wie auch um Landsorten, Zuchtlinien und Kultursorten aus sieben verschiedenen Ländern. Die innerartliche Variabilität dieser Muster soll morphologisch, molekular und biochemisch beschrieben werden. Die morphologische Charakterisierung erfolgt mittels eines standardisierenden Deskriptors über zwei Jahre. Für die molekulare Untersuchung werden mehr als 30 kodominante SNP-Marker verwendet, die Analyse der Inhaltsstoffe umfasst die qualitative und quantitative Zusammensetzung der ätherischen Öle. Bei den morphologischen Charakterisierungen lassen sich am Beispiel Drüsenhaare pro Blatt deutliche Unterschiede zwischen den Akzessionen aber auch zwischen den Jahren erkennen, die Variabilität ist insgesamt sehr hoch. Mehr als 30 polymorphe Marker zeigen erste Ergebnisse zu den Verwandtschaftsverhältnissen der Akzessionen. Es lassen sich potentielle Duplikate wie auch geographische Cluster aufzeigen. Eine Übereinstimmung mit morphologischen Merkmalen wie der Anzahl der Drüsenhaare oder Blattmorphologie konnte nicht gefunden werden. Die Auswertung der Inhaltsstoffanalysen steht noch aus. Allgemein lässt sich sagen, dass das Screening von genetischen Ressourcen die Grundlage bildet für eine weitere Verwendung in Züchtung und Nutzung.

Stichwörter: *Rosmarinus officinalis* L., Genetische Ressourcen, Innerartliche Variabilität, Verwandtschaftsverhältnis

Abstract

Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L., Lamiaceae), is an evergreen shrub in the Mediterranean area. Well known as spice plant, it is also used as medicinal plant. Applications are dyspepsia, flatulence, feeling of fullness and gastro-intestinal diseases. In addition, an external application for rheumatism is described. Forty one accessions of *R. officinalis* are stored in the genebank of the Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK). The material comes from collecting missions of wild samples but also landraces, breeding lines and advanced cultivars from seven countries are maintained. The infraspecific variability of all these accessions will be characterized morphologically, with molecular markers and chemically. The morphological characterization was done with a standardized descriptor over two years. For the molecular studies more than 30 codominant SNP marker were used. The analysis of the chemical compounds shows the qualitative and quantitative composition of the essential oils. Giving one example from the morphological characterizations, the number of glandular trichoms per leaf indicates clear differences between the accessions but also between the years. In general, the variability is very high. More than 30 polymorphic markers show first results of relationship between the accessions. Potential duplicates can be seen as well as geographic clusters. Correlation between molecular and morphological data like number of glandular trichoms or leaf morphology

could not be found. The analysis of the essential oils needs final evaluation. In conclusion, screening of genetic resources is the base for further use in research and breeding.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L., Genetic Resources, Intraspecific Variability, Relationship

Einleitung

Rosmarin (*Rosmarinus officinalis* L., Lamiaceae) ist eine schon seit dem Altertum verwendete Heil- und Gewürzpflanze. Sie stammt aus dem Mittelmeergebiet und gedeiht an sonnigen, trockenen Plätzen; die Blütezeit ist zwischen Mai und September, teilweise auch ganzjährig. Rosmarin ist ein wüzig riechender, immergrüner Strauch, der bis zu zwei Meter hoch wird, mit schmal-lanzettlichen Blättern, die an den Rändern leicht eingerollt sind. Ihre Oberseite glänzt und ist dunkelgrün gefärbt, die Unterseite ist filzig behaart. Zwischen den dichten Blättern befinden sich kleine, blassblau bis blauviolett gefärbte Blüten (APOTHEKEN-UMSCHAU, 2017; LAUX et al., 1993; LAUX und TODE, 1990).

Rosmarin ist in erster Linie als Gewürz bekannt. Es passt zu Fleisch und Fisch, verfeinert aber auch Beilagen wie Kartoffeln. Was viele Menschen nicht wissen: Rosmarin ist ein Symbol für Treue und Liebe. Schon im antiken Griechenland wurde das wüziges Gewächs der Liebesgöttin Aphrodite geweiht. Früher trugen Hochzeitspaare ein Sträußchen oder Kränzchen mit Rosmarinzweigen. Und selbst bei Bestattungen legten die Trauernden einst einen Rosmarinzweig auf den Sarg. Als Heilkraut spielt die aromatische Pflanze erst seit dem Mittelalter eine Rolle, er hilft gegen Verdauungsstörungen, Blähungen, Völlegefühl und leichten krampfartigen Magen-Darm-Galle-Störungen. Äußerlich wird er in Form von Salben, Einreibungen, Ölen und Bädern bei Muskel- und Gelenkrheumatismus genutzt (APOTHEKEN-UMSCHAU, 2017; LAUX et al., 1993; LAUX und TODE, 1990).

Die Gattung *Rosmarinus* ist eine artenarme Gattung, in Europa kommen drei Arten vor, *R. eriocalyx* Jord. & Fourr., *R. officinalis* L. und *R. tomentosus* Hub.-Mor. & Maire (HEYWOOD und RICHARDSON, 1972). Die Gaterslebener Rosmarin-Kollektion umfasst 41 Akzessionen der Art *Rosmarinus officinalis* aus sieben Ländern (Chile, Frankreich, Italien, Portugal, Schweiz, Spanien, Tunesien). Es sind sowohl Wildaufsammlungen wie auch Landsorten, Zuchtlinien und Kultursorten in der Sammlung. Ziel der Arbeit war es nun, die innerartliche Variabilität von *R. officinalis* in der Gaterslebener Genbankkollektion morphologisch, molekular und biochemisch zu untersuchen, um eine Grundlage für die weitere Nutzung des Materials zu schaffen.

Material und Methoden

Alle Akzessionen wurden morphologisch nach einem standardisierten Boniturschema in 2014 und 2015 beschrieben. Folgende Merkmale wurden erfasst: Habitus (buschig-gedrungen bis aufrecht-gestreckt), Blütenfarbe (weiß, violett geadert bis violett, dunkelblau geadert), Blattbehaarung (wenig behaart bis stark behaart), Blattrandwölbung (nicht vorhanden, vorhanden), Blattbreite (gemessen in cm) und Blattlänge (gemessen in cm). Des Weiteren wurden die Anzahl Drüsenhaare pro mm² und pro Blatt und der Durchmesser der Drüsenhaare ermittelt. Für die molekularen Untersuchungen wurden mehr als 30 kodominante, polymorphe SNP-Marker verwendet. Die Analyse der ätherischen Öle erfolgte mittels Gaschromatographie.

Ergebnisse und Diskussion

Die morphologische Charakterisierung der Akzessionen erwies sich als schwierig. Da die Pflanzen im Topf kultiviert werden, ist eine Beschreibung des Habitus oft nicht eindeutig, das Merkmal wurde nicht weiterverfolgt. Die Blütenfarbe war innerhalb der Akzessionen weitgehend konstant, sie ließ sich aber nicht für alle Akzessionen ermitteln, da unter Gewächshausbedingungen nicht alle Muster zur Blüte kommen. Die Blattbehaarung speziell auf der Blattunterseite konnte sehr gut charakterisiert werden, sie variiert von sehr wenig oder nur auf der Mittelrippe behaart bis hin zu extrem stark behaart. Die Drüsenhaare lassen sich bei stark behaarten Blättern nur schlecht zählen;

es wurden nur die kugelförmigen (peltaten) Drüsenhaare gezählt, die kopfigen (capitaten) wurden nicht berücksichtigt. Abbildung 1 zeigt die Anzahl der Drüsenhaare in den beiden Untersuchungsjahren für die einzelnen Akzessionen, die Ergebnisse sind sehr variabel. Eine Korrelation zwischen der Behaarung und der Anzahl der Drüsenhaare ließ sich nicht nachweisen. Auch zu Blattlänge oder Blattbreite gab es keine Korrelationen. Die Blattlänge und Blattbreite schwankt in ähnlichem Umfang wie die anderen Merkmale. Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Merkmale über die beiden Jahre sehr variabel waren, sowohl zwischen als auch innerhalb der Akzessionen.

Mittels SNP-Markern wurde die Kollektion molekular untersucht. Mehr als 30 kodominante, polymorphe Marker zeigen erste Ergebnisse zu den Verwandtschaftsverhältnissen der Akzessionen. Da die Pflanzen vegetativ erhalten werden, wurde vor der Verrechnung auf Klonalität geprüft und Klone ausgeschlossen. Es lassen sich potentielle Duplikate (100% Übereinstimmung) wie auch geographische Cluster aufzeigen. Eine Übereinstimmung mit morphologischen Merkmalen wie der Anzahl der Drüsenhaare oder Blattmorphologie konnte nicht gefunden werden.

Außerdem werden noch phytochemische Untersuchungen durchgeführt, um die qualitativen wie auch quantitativen Unterschiede bei den Inhaltsstoffen, speziell den ätherischen Ölen zu ermitteln. Diese werden dann mit den morphologischen und molekularen Daten korreliert. Die Analyse der biochemischen Daten ist noch nicht abgeschlossen.

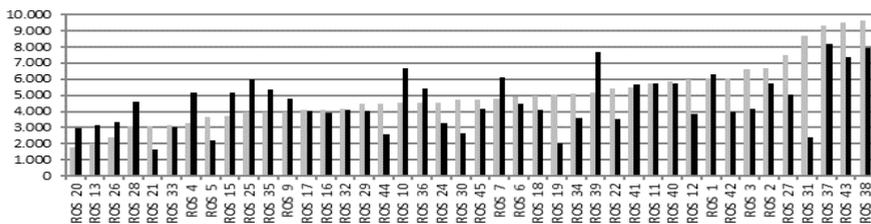


Abb. 1 Anzahl (Mittelwert) peltate Drüsenhaare pro Blatt für die Jahre 2014 (grau) und 2015 (schwarz)

Fig. 1 Number (average) of peltate glandular trichomes per leaf in the years 2014 (grey) and 2015 (black)

Danksagung

Besonderer Dank gilt den Mitarbeiterinnen der Sortimentsgruppe Arznei- und Gewürzpflanzen der Genbank des IPK für den Anbau des Rosmarins und die Bonitur der morphologischen Merkmale sowie Twan Kranenburg, Student der Uni Wageningen. Literatur

Apotheken-Umschau, 2017: <http://www.apotheken-umschau.de/heilpflanzen/rosmarin>; Download 12.09.17.

Heywood, V. H., Richardson, I. B. K, 1972: Labiatae. In: Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M. and D. A. Webb (eds.): Flora Europaea, Vol. 3. Cambridge University Press 1972.

Laux, H. E., Laux, H. und A. Tode 1993: Gewürzpflanzen: anbauen, ernten, verwenden. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., Stuttgart, 1993, 158 S.

Laux, H. E. und A. Tode, 1990: Heilpflanzen: wie sie wachsen, blühen, wirken. Umschau-Verlag Breidenstein GmbH, Frankfurt / M., 1990, 160 S.

Posterbeitrag Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

P 13 Sortenabhängige Variabilität von sekundären Pflanzenstoffgehalt im Quendel (*Thymus Serpyllum* L.)

Intervarietal differences in the accumulation of secondary metabolites in thyme creeping (Thymus serpyllum L.)



Elena Malankina, Elena Tkatschova, Lamara Kozlovskaja

Landwirtschaftliche Universität zu Moskau, Russland, 127550, Moskau, Timiryasevskaja, 49, Lehrstuhl für Gemüseanbau, gandurina@mail.ru

DOI 10.5073/jka.2018.460.036

Zusammenfassung

Die Qualität der Arzneipflanzen wird durch den Inhalt der pharmakologisch signifikanten Verbindungen bestimmt. Einige Arten der Arzneipflanzen haben eine relativ stabile chemische Zusammensetzung und einige wie z.B. Quendel (*Thymus serpyllum* L.), sind für ihre starke chemische Diversität bekannt. Das ätherische Öl von Quendel variiert stark innerhalb der Akzession. Derzeit sammelt man Quendel in der Natur in Russland und das stellt die Frage nach Identität, Qualität und Homogenität der pflanzlichen Rohstoffe. Heutzutage gibt es viele Sorten, die man nicht nur als Küchenkräuter, sondern auch als Arzneipflanzen verwenden kann. Dieser Artikel stellt die Ergebnisse einer Vergleichsstudie mit dem Inhalt des ätherischen Öls und seiner Komponenten-Zusammensetzung, sowie dem Gesamtgehalt der Polyphenole, Gerbstoffe und Flavonoide in 4 Akzessionen von *Thymus serpyllum* L. dar. Die Ergebnisse der Studie von der Komponenten-Zusammensetzung des ätherischen Öls deuten darauf hin, dass die Akzession von VILAR, die Sorten ‚Purpurnovioletowij‘ und ‚Variegata‘ eindeutig zu der Art *Thymus serpyllum* L. gehören, während die Sorte ‚Pikantnij‘ wahrscheinlich hybrider Herkunft ist.

Abstract

The quality of medicinal raw materials is determined by the content of pharmacologically significant compounds. Chemical composition of some medicinal plant species is relatively constant. However, some species, in particular, creeping thyme are characterized by great chemical polymorphism. Nowadays creeping thyme is collected from nature in Russia. There are many varieties that can be used not only in cookery, but also as a medicine. The article presents the comparative study of the essential oil content and component composition, the total content of polyphenols, tannins and flavonoids in the raw materials of three varieties and one wild population of *Thymus serpyllum* L. The results of the essential oil composition study suggest that the wild population from VILAR and varieties ‚Purpurnovioletovij‘ and ‚Variegata‘ belong to the species *Thymus serpyllum* L., while the variety ‚Pikantny‘ probably is a hybrid.

Stichwörter: *Thymus serpyllum* L., ätherisches Öl, Thymol, Flavonoide, Gerbstoffe

Keywords: *Thymus serpyllum* L., essential oil, component composition, polyphenols, flavonoids, tannins.

Einleitung

Die Qualität der Arzneipflanzen ist durch den Inhalt der pharmakologisch signifikante Verbindungen bestimmt. Einige Arten der Arzneipflanzen, wie z.B. Zitronenmelisse, haben eine relativ stabile chemische Zusammensetzung, die andere, wie z.B. Vertreter von Pflanzengattung *Thymus* L. aus der Familie Lamiaceae, sind für ihre starke chemische Diversität bekannt (Lohwasser U. et al., 2013, Schimmel et al., 2014). In der Europäische Union wird *Thymus vulgaris* als Arzneipflanze gegen Erkältungen und Husten verwendet (Hänsel R., Sticher O., 2007). In Russland hingegen ist andere Art von Thymus in Staatliche Pharmakopöe aufgenommen. Der Quendel oder Sand-Thymian (*Thymus serpyllum* L.) ist eine beliebte und gebräuchliche Arzneipflanze und

Küchenkraut in Russland. Aufgrund seiner starken antibakteriellen Wirkung hat er vielfältige Anwendungen in der Pharmazie und Lebensmittelindustrie gefunden. Die oberirdischen Teile von Quendel enthalten viele Verbindungen mit vielseitigen Wirkung, daneben sind ätherische Öl, Phenolderivate, Ursol- und Oleanolsäuren, Gerbstoffe und andere Stoffe (Vabkova J., Neugebauerova J., 2012; Malankina et al., 2018). Carvacrol und Thymol sind die wertvollste antibakterielle Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von Quendel. Außer ätherischem Öl gewinnen verschiedene phenolische Verbindungen, darunter auch Flavonoide, mehr an Bedeutung. Die getrockneten oberirdischen Teile von Quendel sollen mehr als 18 % wasserlösliche, 30% ethanollösliche Stoffe und mindestens 0,9% Flavonoide enthalten (Pharmakopöe der Russische Föderation, XIII Verlag, 2017).

Die Zusammensetzung des ätherischen Öls kann stark variieren. Bei den wilden Populationen von Thymian finden sich oft mehrere Chemotypen. Diese Chemotypen können morphologisch ähnlich aussehen, aber ihre ätherischen Öle haben unterschiedliche Zusammensetzung ihrer Inhaltsstoffe. Das ätherische Öl von der natur gesammelten Quendel variiert stark innerhalb der Akzession.

Zugleich werden ausschließlich diejenige Sorten von Quendel gezüchtet, die sich durch ihr starkes Aroma und einen hohen Ernteertrag auszeichnen. Sie werden nur als Küchenkräuter verwendet, da der Inhalt ihrer pharmakologischbedeutsamen Substanzen ist bis jetzt nicht geprüft.

In unserer Arbeit wurde die komparative Studie von 4 Akzessionen von Quendel durchgeführt und der Gehalt an wichtigsten biochemischen Stoffgruppen bestätigt.

Material und Methoden

Der Anbau der Pflanzen wurde auf dem Prüfungsfeld der Landwirtschaftlichen Universität zu Moskau durchgeführt. Vier Akzessionen von Quendel, darunter drei Sorten und eine wilde Akzession aus dem Botanischen Garten des Institutes für Arznei- und Aromatischen Pflanzen – VILAR (Moskau) wurden für den Versuch ausgewählt. Die Sorten 'Purpurnvioletoiwij' und 'Pikantnij' ordnet man den Küchenkräutern zu, während man die Sorte 'Variegata' als Zierpflanze bezeichnet. Die überirdischen Teile von zwei- bis vierjährigen Pflanzen wurden während der Blütezeit geschnitten und getrocknet. Für die chemische Analyse wurden nur Blätter genutzt.

Der Mengenanteil an ätherischen Öl wurde durch Distillation bestimmt sowie es im Russischen Arzneibuch vorgeschrieben ist (Pharmakopöe der Russischen Föderation, XIII Verlag, 2017). Die Muster der ätherischen Öle wurden in Hexan (1:300) gelöst. Zusammensetzung des Öls wurde unter Einsatz von Gaschromatographen Shimadzu GC-2010 mit Massspektrometer GCMS-QP 2010 geprüft und mit Hilfe von NIST 11 identifiziert.

Für die Bestimmung der in Proben enthaltenen Polyphenole- und Flavonode wurden 500 mg getrocknetes und gemahlene Thymian-Blattmaterial in 100 ml 50% Ethanol auf Wasserbad extrahiert. Der Gesamtphenolen Gehalt wurde nach Folin-Ciocalteu-Methode untersucht, während der Flavonoidegehalt mittels Aluminium- Chlorid - Methode ermittelt wurde. (Pharmakopöe der Russische Föderation, XIII Verlag, 2017).

Diskussion

Als Ergebnisse dieses Studiums zeigen, dass die Akzessionen signifikante Abweichungen im Gehalt an ätherischem Öl haben. Das höchste und stabilste Ölgehalt wurde in den Sorten 'Purpurnvioletoiwij' und 'Variegata' beobachtet – mehr als 0,5% ('Purpurnvioletoiwij' -0,55, 0,56 und 0,65 %, 'Variegata' – 0,5, 0,58 und 0,55 %).

Sowohl die Sorte 'Pikantnij' als auch Akzession aus VILAR haben starke wetterabhängige Veränderungen an Ölgehalt von Jahr zu Jahr gezeigt. (Abb.1)

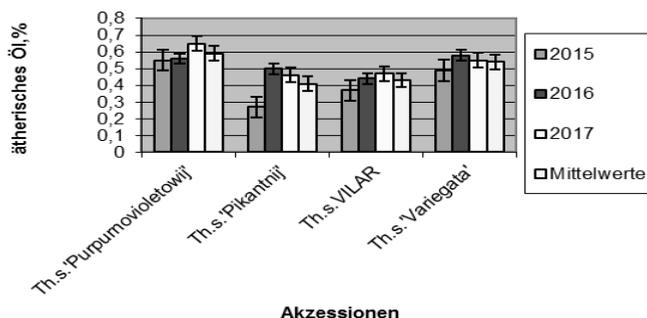


Abb. 1 Gehalt an ätherischem Öl in 4 Akzessionen von Quendel (*Th. serpillum* L.), %.

Fig. 1 The content of essential oil in creeping thyme (*Th. serpillum* L.) raw material.

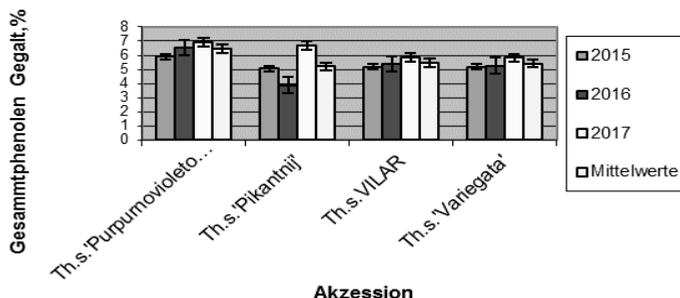


Abb. 2 Der Gehalt an Gesamtphenole in 4 Akzessionen von Quendel (*Th. serpillum* L.).

Fig. 2 The content of phenolic compounds in creeping thyme (*Th. serpillum* L.) raw material.

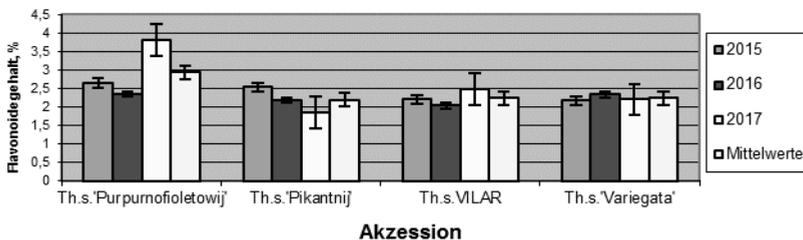


Abb. 3 Der Gehalt an Flavonoide in 4 Akzessionen von Quendel (*Th. serpillum* L.) .

Fig. 4 The content of flavonoids in creeping thyme (*Th. serpillum* L.) raw material.

Unsere Experimente zeigten unterschiedlichen Gehalt an Phenolderivaten – von 3,89 % ('Pikantnij') bis 6,56 % ('Purpurnviolettowij'); dabei wiesen sich die Gerbstoffe nur in kleinen Mengen auf. Bei der Sorte 'Pikantnij' je nach den Bedingungen des Jahres wurde die starke Variabilität des Gehaltes von phenolischen Stoffe (von 3,89 bis zu 6,68%) bemerkt. Bei den anderen Akzessionen waren diese Werte relativ stabil.

Der Anteil an Flavonoide war von ¼ bis ½ der Gesamtphenole. Der Gehalt an Flavonoide warierte von 2,25 bei 'Pikantnij' bis 3% bei 'Purpurnviolettowij' (Malankina E.L. et al., 2018).

Nachr GC-MS-Analysen von ätherischen Öl wurden insgesamt 32 Komponenten (am meisten Mono- und Sesquiterpenen) identifiziert, darunter befanden sich 18 Komponenten mit einer Konzentration von > 0,05 % (Tab.1). Unter den Akzessionen bestanden hinsichtlich der Zusammensetzung des ätherischen Öls signifikante Unterschiede. Als Leitverbindungen wurden Thymol und Carvacrol bei Akzession von VILAR und bei alle Sorten detektiert. Bei Akzession von VILAR wurden die Monoterpenkohlenwasserstoffe p-Cymen und γ -Terpinen (Präkursoren der Terpenphenole) identifiziert. Die Sorte 'Variegata' enthielt Isobornil propionat (12,92 %), der in anderen Akzessionen nicht gefunden war. Die Sorte 'Pikantnij' enthält im ätherischen Öl mehr als 20% von trans-Citral, cis-Citral und trans-Geraniol gesamt.

Tab. 1 Der Gehalt der Hauptkomponenten des ätherischen Öls in den Akzessionen von *Thymus serpyllum* L., 2016

Tab. 1 The content of the main components of essential oil in varieties of creeping Thyme

	'Pikantnij'	'Purpurno-Violetowij'	'Variegata'	VILAR
2-Octen-1-ol	0,56	1,84	1,02	1,23
3-Octanol		0,31	0,91	1,97
β -Myrcene	0,29			
p-Cymen	5,78	4,82		18,25
Eucalyptol	3,63	1,21	0,66	0,1
α -Terpineol			3,44	
γ -Terpinen	3,67	2,05		23,79
Borneol	1,92	8,95	2,57	0,67
Trans-Citral	6,03	10,71		0,78
Carvon			1,25	
Methylthymol	1,96	6,08		0,45
Trans-Geraniol *	11,06		1,5	0,39
cis-Citral	3,27			
Thymol	21,46	41,14	53,46	37,6
Karvakrol	22,43	9,77	6,05	2,49
Caryophyllen oxide			2,61	
β -Caryophyllen			1,99	
Isobornyl propionate			12,92	
Gesamtgehalt von Thymol und Karvakrol	43,89	50,91	59,51	40,09

Die unter Feldbedingungen angebauten Pflanzen von 4 Akzessionen zeigten eine deutliche Diversität der pharmakologisch signifikanten Verbindungen. Der Gehalt am ätherischen Öl, Flavonoide und Phenolderivate von Quendel-Pflanzen ist nicht nur genetisch determiniert, sondern auch stark von Umweltbedingungen abhängt. Die Ergebnisse der Studie von der Komponenten-Zusammensetzung des ätherischen Öls deuten darauf hin, dass die Akzession von VILAR, die Sorten 'Purpurnovioletowij' und 'Variegata' eindeutig zu der Art *Thymus serpyllum* L. gehören, während die Sorte 'Pikantnij' wahrscheinlich hybrider Herkunft ist

Literatur

- Hänsel R., Sticher O., 2007: Pharmakognosie-Phytopharmazie. 8., Überarbeitete und aktualisierte Auflage. – Heidelberg, Springer, 2007.- S. 1151-1155
- Lohwasser U., Bollman K., Boerner A., 2013: Morphologische Untersuchungen der Gaterslebener Thymian-Kollektion // 23. Bernburger Winterseminar Arznei- und Gewürzpflanzen, 19.02 – 20.02.2013. Bernburg. 2013. S. 23 –
- Malankina E.L. et al., 2018: Medicinal plants of the Lamiaceae family as flavonoids sources//Voprosy biologitscheskoj, medicinskoj i farmacavtitscheskoj chimii. 2018. V. 21. № 1. P. 30 – 35.
- Pharmakopoe der Russischen Föderation, XIII-e Verlag, 2017. - FS.2.5.0047.15.
- Schimmel J., Krause S., Arndt N., Degenhardt J., 2014: Regulationsmechanismen der Ausprägung von Chemotypen in Thymian (*Thymus vulgaris*). Julius-Kühn-Archiv, 446, 2014, 67-69.
- Vabkova J., Neugebauerova J., 2012: Determination of total phenolic content, total flavonoid content and frap in culinary herbs in relation to harvest time // Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis. V. LX 20, N. 1, 2012. P.167- 172.

Posterbeitrag Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

P 14 Wildsammlung von Arzneipflanzen – Situation in Polen

Commercial wild collection of medicinal plants – the situation in Poland



Joanna Sucholas , Anja zur Loye, Rainer Luick

¹University of Applied Forest Sciences Rottenburg, Schadenweilerhof, 72108 Rottenburg am Neckar; j.sucholas@gmail.com

DOI 10.5073/jka.2018.460.037

Zusammenfassung

In Europa ist Polen der zweit größte Exporteur von Arzneipflanzen. 25% des Pflanzenmaterials wird durch Wildsammlungen am natürlichen Standort bezogen. Dabei handelt es sich um fast 140 wildgesammelte Arten - zweimal mehr Arten als aus dem Anbau stammen. Generell ist das Potential zur nachhaltigen Sammlung von Pflanzenmaterial an ihren natürlichen Standorten noch weitaus größer. Viele der Arten sind sehr begehrt auf dem europäischen Arzneipflanzenmarkt und nur schwer zu kultivieren, wie die typischen Marschlandarten *Menyanthes trifoliata* und *Acorus calamus*. Die meisten Wildsammlungen finden im Nord-Osten Polens statt, in einer Region in der sich extensiv bewirtschaftete Grünländer konzentrieren. In einigen Fällen ist die Wildsammlung die Haupteinnahmequelle der lokalen Bevölkerung oder ein zusätzliches Einkommen für die ansässigen Bauern. Die vorliegende Studie zeigt, dass Monitoring und Dokumentation der Wildsammlungspraxis auf Waldarten und geschützte Arten reduziert ist. Eine bessere Beurteilung der Orte, Mengen und Wildsammelmethoden ist aus ökonomischer, sozialer und ökologischer Sicht relevant.

Abstract

Poland is the second biggest exporter of medicinal plant material in Europe. What is important 25% of it is collected in nature. Twice more species (nearly 140) are coming from wild collection then from cultivation. Among them are highly desired on the European phytopharmaceutical market but hardly cultivated species like typical for fen meadows *Menyanthes trifoliata* or *Acorus calamus*. Generally, the potential of collection plant material from habitats and ecosystems, kept in well conditions, is even bigger. The great amount of collection is realized in North-Eastern Poland, region with the significant concentration of extensively used grasslands. Sometimes the activity is the main occupation for local people or additional, important source of income for farmers. The study shows that monitoring and documentation of the wild collection practice is limited for example to forest or protected species. Better assessment of place, volumes and way of collection could profit from economic, social as well as environmental side.

Stichworte: Arzneipflanzen, Wildsammlung, Polens Arzneipflanzenmarkt, Handelswege, Naturschutz

Keywords: medicinal plants, wild collection, Polish phytopharmaceutical market, value chain, nature conservation

Introduction

Poland belongs to the Eastern European countries with tradition of the medicinal plants wild collection. It was and currently is common to collect plants in nature for domestic use and for sale. Especially, in North-Eastern part of the country commercial collection has been giving prominent income for local people. Moreover it is region with concertation of National Parks (E.g. Białowieża NP), high nature value farmlands and extensive hay meadows, preserved in the good, natural conditions. These biodiverse, rural and semi-natural areas provide many diverse ecosystem services, among them high quality, various medicinal plants species. According to MAPs classification (2013) Poland is among 20 biggest importers of MAPs (Medicinal and Aromatic Plants) in the world. What is more important plays significant role in providing plant material,

being a second biggest exporter of MAPs in Europe, just after Germany (Lange, 2006, update in 2014). In opposition to Germany, in Poland significant part of material is sourced in nature. Worth to mention is that, there are 450 medicinal plants among Polish flora (ca. 16% of 4750 vascular plants in total). Not even the half of this potential is utilized on phytopharmaceutical market. During the survey of the situation of wild collection the following research questions were stated. Firstly, which plant species are collected in the biggest amount? What is the scale of their collection? What problems are recognized regarding the wild collection? Secondly, what is the situation of monitoring and control of wild collection? Moreover, how is organized the value chain of wild collection? Finally, is it possible to assess how this practice influences natural populations and ecosystems?

Material and methods

To answers the research questions few diverse methods were applied. Firstly the 16 Regional Directorates for Environmental Protection from all of the voivodships were contacted. Additionally meetings, visits and interviews with different stakeholders were organized: eight collectors, tree intermediary persons responsible for acquiring from collectors and storing plant material for companies, four phytopharmaceutical companies. The available literature was surveyed.

Results

In Poland, around 140 species are collected for commercial purposes from nature. Much less are cultivated - 70 medicinal plants (IRiPZ, 2012), but this number is increasing according to intensive research run by independent Institutions like Institute of Natural Fibers and Medicinal Plants in Poznań. Annually, there are collected 20.000-22.000 tons of dried plant material from wild and cultivation in total (Jambor, 2007). In table 1 we can see that 25% of medicinal plant material is coming from nature (Majewska 2014).

Tab. 1: The volumes of medicinal plants collection in Poland (tons of DW)

Part of collection	Annual volume of collection
total volume	20.000-22.000
wild collection	3-5.000
e.g. total volume by one company	375
wild collection of one species	0,1-1.000

One species can be harvested from cultivation even in ten time bigger amount then species collected in nature (table 2). The most desired trees and shrubs species collected from nature are: *Tilia cordata*, *Frangula alnus* or *Sambucus nigra*; from common Eurasian species *Urtica dioica* or *Equisetum arvense* and pasture species like *Euphrasia rostkoviana*. The other species worth to mention relating to amount of collection (ca. 15 tons/year) are: *Epilobium parviflorum*, *Filipendula ulmaria* and *Menyanthes trifolia*.

Tab. 2: Profile of the highest collection of MAPs from wild and cultivation in Poland (2011-2015) [tons of DW]

Wild	Volume	Cultivation	Volume
<i>Tiliae flos</i>	120-200	<i>Menthae piperitae folium</i>	1.400-2.200
<i>Urticae folium</i>	100-200	<i>Matricariae flos</i>	1.500-2.000
<i>Frangulae cortex</i>	100-200	<i>Valerianae radix</i>	800-1.200
<i>Equiseti herba</i>	100-200	<i>Hyperici herba</i>	400-600
<i>Euphrasiae herba</i>	10-20	<i>Arnicae anthodium</i>	10-20

Sometimes phytopharmaceutical entrepreneurs mention that regarding wildly sourced plant material there are problems with good quality and safety of it. It concerns: bad physical conditions (brown parts of material), contamination with pesticides, unstable content of active ingredients and mistakes in species recognition. They occur mainly in case of companies not controlling the

whole chain of supply (localized in the higher level of value chain). Then the most crucial moments stay out of supervision like right and checked place of collection or the drying out process. The confusion regarding proper species collection is related to such species like e.g. *Equisetum arvense* unconsciously replaces with *Equisteum palustre* or *E. limosum*. All of the mentioned difficulties connected with wild collection seem to be present quite often on European market (Wolfgang et al., 2003). The other mentioned problems concern the national law and permission procedure, especially if they face the refusal for collection of demanded species or whole process takes too much time in effect retarding collection. Collectors underline unsatisfying and discouraging payment unequal to borne effort (hard physical work and unfriendly natural, working conditions).

MONITORING AND COTROL OF WILD COLLECTION

The wild collection of herbs is regulated by law, but no institution is obligated to control and document the whole collection: volume, medicinal plants populations in nature, place of collection etc. There are some exceptions. To collect for commercial purpose medicinal plants in the forest there is the need of permission from the managing forester which indicates the place and the volume of collection. The collection of strictly protected plants is forbidden like: *Arnica montana* or *Adonis vernalis*. Species being under "the partly protected" protection category can be collected if the local mentioned RDEP will give the permission. The request from collecting company should include: place and the planned volume of collection. Permission can be given even for the next five years. The number of protected medicinal plants is changing according to new law (last actualization 2014). Currently under protection there are 35 medicinal plants. Among them seven species can be collected but with special permission and these are: *Allium ursinum*, *Helichrysum arenarium*, *Hierochloe odorata*, *H. australis*, *Hippophae rhamnoides*, *Menyanthes trifoliata* and lichen *Cetraria islandica*. Summarizing, as long as species is under protection the information about collection are available. Before 2014 more species were protected, consequently volumes of collection were known for more species (Fig. 1). Surprisingly, the most demanded protected species *Frangula alnus* (10-40 tons/year) is not any more under protection, so data about collection are unavailable. The collection of still protected species *Menyanthes trifoliata* is increasing.

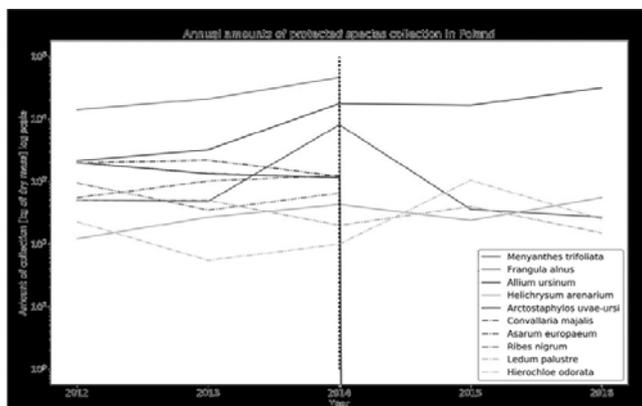


Fig. 1: Commercial wild collection of protected medicinal plants in the last five years [kg of DW in log scale]

Companies specialized in wild collection should respect common and mandatory Good Agricultural and Collection Practices which ensures among others that the collection is sustainable. Additionally, some collecting companies have ecological certificate for all species collected from nature. It means that collection combines best environmental practise, high biodiversity level with protection of natural resources. The place of collection should be well known by company, free from pollution, pesticides and herbicides. This certificate is not so common and the attitude of companies towards it is rather sceptic. What is interesting, one

company has FairWild Certificate. Currently, it is implemented only in 10 countries in the world. This formula guarantees the continued use and long-term existence of wild plant species and populations in their habitats. Moreover is focused on the respect for traditions and cultures, supports the livelihoods of all stakeholders, especially collectors and workers.

Value Chain of Medicinal Plants wild Collection

All collection of medicinal plants is generally organized by the companies specialized in wild collection. These enterprises are concentrated in North-Eastern Poland (Fig. 2). Companies announce the demand on plant material and the prices. The plant material is provided to the company by independent collectors who are not connected with a company by any contract or by employees hired with permanent contract. The plant material is obtained fresh (e.g. *Vaccinium oxycoccus* fruits, *Menyanthes trifoliata* leaves) or mainly dried, depending on market's needs. Collectors are the first step in value chain of wild collection. They are local people from the villages. Collection is the "life occupation" for old people or additional source of income for middle aged women and active farmers. The botanical knowledge collectors gain from families, books or the internet. To learn GACP rules they can participate in meeting organized by company owners in the beginning of the season (April). It is not obligatory for independent collectors to join such meetings. For some of them, especially older collectors, it is impossible to join it regarding logistic difficulties connected with too long distance. Plant material is dried out under controlled conditions in company buildings or traditionally by collectors in specially adapted, their own attics and stables. Ready material is provided directly to the company, sometimes if the collectors are more scattered it is picked up from them or they provide it to the organized by company purchase centres, which are open during the vegetation season (April-November) and localized in the villages far away from company. The companies produce wide range of products from teas, spices, juices and oils to semi-processed dried plant material which is sold further. In the next step, from of this material are produced phytopharmaceuticals, natural cosmetics or dietary supplements. According to data from 2012 (IRiPZ) 70% of dried material coming from cultivation and nature stays in Polish market. The rest is sold abroad to: US, Canada, Germany and Croatia.

Discussion

Poland plays significant role in Europe in providing MAPS. Relevant part (25% - ca. 5 tons/year) of the dried material is coming from wild collection. The activity of collection of nearly 140 species is partly controlled by forest administration or RDEP. Additionally should be controlled by certificates like ECO Certificate, FairWild Certificate if the companies carrying them. The common GACP should be realized by all of them, ensuring sustainability of practices. Generally, companies specialized in wild collection are satisfied with the plant quality. The difficulties are rather recognized by enterprises located in higher level of value chain, characterized by less control. The most of the medicinal plants collected in nature belong to common, moderate climate species. Nevertheless, facing existing scale of collection, sustainability should be ensured. Better tools for assessment of environmental influences should need more attention. The good examples exist in other European countries like Croatia, where for example cooperation with academic institution was organized. Undoubtedly, wild collection carries lot of advantages in comparison to cultivation. Firstly, support biodiversity by no need of monoculture establishment. Do not require use of very often environmental unfriendly crop protection products. Medicinal plants belong to ecosystem services which can be obtain in totally sustainable way, especially from extensive grasslands where the overground parts have to be removed to stop the succession. Finally, wild collectors never will be replaced by machines what give the job opportunity in the villages, in less developed areas and possibility of work in real nature. What is more it supports local traditions. Citing one of the interviewed entrepreneur who raised in the tradition of herbs' wild collection: "There is also surely

the magic and power of such activity like wild collection realized in heart of nature and appreciation of its goods".



Fig. 2: The localization of the main companies sourcing in nature.

References

- IriPZ, 2012: Rynek ziół w Polsce i w Uni Europejskiej. In: Stan i perspektywy rozwoju upraw zielarskich oraz kierunki ich wykorzystania. www.zodr.pl/download/technologie/rynekziol.pdf, access: 20.11.2017
- Jambor, J., 2007: Zielarstwo w Polsce – stan obecny i perspektywy rozwoju. *Postępy Fitoterapii*. 2 (2007), 78-82.
- Lange, D., 2006: International trade in medicinal and aromatic plants. Actors, volumes and commodities. In: *Medicinal and Aromatic Plants*. Bogers, R.J., Craker, L.E., Lange, D. Springer, Netherlands, updated from UN (2014); UN COMTRADE Database commodity group HS 1211.
- Majewska, E. 2014: "O Marnotrawstwie i Śkapstwie, Lasom szkodliwych..." – a współczesne dylematy dotyczące racjonalnego użytkowania leśnych surowców niedrzewnych. *Studia i Materiały CEPL, Rogowo*, 38 (1), 31-39.
- Schippmann, U., Leaman, D & A.B. Cunningham, 2006: A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects. In: *Medicinal and Aromatic Plants: Agricultural, Commercial, Ecological, Legal, Pharmacological and Social Aspects*. Borges, R.J, Craker, L.E. & D. Lange, Springer, Dordrecht, 75- 95.
- Wolfgang, K., Honnef, S. & A. Heim, 2003: Medicinal and Aromatic Plants in Albania, Bosnia-Herzegovina, Bulgaria, Croatia and Romania. A study of the collection of and trade in medicinal and aromatic plants (MAPs), relevant legislation and the potential of MAP use for financing natureconservation and protected areas. WWF Deutschland/TRAFFIC Europe-Germany, Bonn.

Posterbeitrag Themenkreis E: Wildsammlung, Inkulturnahme, Züchtung

P 15 *Clinopodium nepeta* und *Clinopodium menthifolium*: agronomisches und phytochemisches Potenzial von zwei Arten von Kalaminth



Clinopodium nepeta and *Clinopodium menthifolium*: agronomical and phytochemical potential of two species of calamint

José Frédéric Vouillamoz¹, Claude-Alain Carron¹, Evelyn Wolfram²

¹Agroscope IPV, Centre de Recherche Conthey, Conthey, Switzerland

²Zurich University of Applied Sciences, Department of Life Sciences and Facility, Wädenswil, Switzerland

Corresponding author: jose.vouillamoz@agroscope.admin.ch

DOI 10.5073/jka.2018.460.040

Zusammenfassung

Ein möglicher kommerzieller Anbau von «Kalaminth», auch bekannt als Bergminzen, wurde hinsichtlich des agronomischen und phytochemischen Potentials in den Vegetationsperioden 2014 und 2016 näher untersucht. Verschiedene Herkünfte der Arten *Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze (kleinblütige Bergminze) und *Clinopodium menthifolium* (Host) Stace (Wald-Bergminze) wurden unter alpinen Vegetationsbedingungen in den Schweizer Alpen angebaut und anschliessend phytochemisch analysiert. Die Ausbeute von getrocknetem Pflanzenmaterial betrug 4 Tonnen/Ha ab dem zweiten Jahr. Für beide Arten schwankte der Gehalt an ätherischem Öl zwischen 1 und 1.5% (v/m) in Abhängigkeit von Erntejahr und der Phänologie zum Erntezeitpunkt. Der Hauptbestandteil (>80%) des ätherischen Öls von *C. nepeta* war Pulegon, und von *C. menthifolium* war Carvon (33-38%). Im Falle einer Industriekollaboration wäre eine Studie zur Variabilität von Phänotyp und den Sekundärmetaboliten der Schweizerischen Herkünfte angebracht.

Schlüsselwörter: Calamintha, Kultur, Ätherisches Öl, Pulegon, Carvon

Abstract

From 2014 to 2016, the agronomic and phytochemical potential of two commercial accessions of calamint, one of Lesser Calamint (*Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze) and one of Woodland Calamint (*Clinopodium menthifolium* (Host) Stace) was evaluated in the mountainous climatic conditions of the Swiss Alps. The production of dry whole plants has reached 4 tons/ha from the second year of cultivation. For both species, the essential oil content fluctuated between 1 and 1.5%, depending on the season and on the phenological stage of harvest. The major component of *C. nepeta* is pulegone (> 80%), and of *C. menthifolium* is carvone (33 to 38%). In collaboration with the industry, a study of the phenotypic and phytochemical variability of Swiss ecotypes of calamints would be desirable.

Keywords: Calamintha, Cultivation, Essential oil, Pulegone, Carvone

Introduction

Lesser Calamint (*Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze; syn. *Calamintha nepeta*) and Woodland Calamint (*Clinopodium menthifolium* (Host) Stace; syn. *Calamintha sylvatica*) are two species of the Lamiaceae family, the former reminding the scent of pennyroyal, the latter a hypothetical cross between mint and marjoram (Eggenberg and Möhl, 2008). Their natural distribution areas cover Europe, with the exception of the northernmost areas, as well as Central and Minor Asia and North Africa. They are naturalized in North America.

In Herbal Medicine, *C. nepeta* is known for its antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, anti-ulcer and insecticidal activities. Its main therapeutic indications are insomnia, depression, cramps,

convulsions and the treatment of respiratory and gastroenteric diseases (Božović and Ragno, 2017; Bruneton 2009).

In Mediterranean countries, calamints are used as spices, for herbal tea, and in ethnopharmacology, having digestive, sedative, antispasmodic, carminative and tonic properties (Karousou *et al.*, 2012). However, none of these species has ever been cultivated under the Swiss Alpine pedoclimatic conditions. The aim of the present study is to evaluate the agronomic and phytochemical potential of *C. nepeta* and *C. menthifolium* in the mountainous climatic conditions of the Swiss Alps in order to provide local food and beverage industries with innovative plant material.

Materials and Methods

Field trials following organic practices were carried out between 2014 and 2016 in Bruson, Valais Alps (1050 m), from seeds of *C. nepeta* CA 021 and *C. menthifolium* CA 019 obtained from Jelitto Staudensamen GmbH. Plantation of four replicates was done on June 25th 2014 with a density of 9.4 plant/m². Harvests were done with portable Supercut NT 2000 on 29.10.2014, 16.7.2015, 29.9.2015 and 23.08.2016. Yields in dry matter, leaves and essential oil (hydrodistillation 2h with 2-3 ml/min) were analyzed with XLSTAT. The essential oil composition was analyzed on a mix of replicates by UHPLC and GC-FID.

Results and Discussion

For both species, yields in dry matter reached a maximum of 4 tons/ha from the second year of cultivation, with an average of 22.1 to 23.9, and the essential oil content fluctuated between 1.0 and 1.5% (Table 1). The major component of Lesser Calamint is pulegone (> 80%), a ketone that has many antimicrobial, antibacterial, insecticidal, and allelopathic properties, but has demonstrated hepatic toxicity to mammals (Božović and Ragno, 2017; Bruneton 2009). Those of Woodland Calamint are dominated by carvone (21 to 32%), another ketone used as a flavor since thousands of years (Bruneton 2009). The essential content and composition is similar to those observed in wild populations in Greece (Hanlidou *et al.* 1991; Karousou *et al.*, 2012). Rosmarinic acid content was higher in *C. nepeta*, while chlorogenic acid and rutin were higher in *C. menthifolium* (Figure 1). However, due to the absence of standard, a few peaks in the chromatogram of *C. nepeta* and *C. menthifolium* could not be identified (Figure 1).

Conclusions

Both calamints have been successfully cultivated in the climatic conditions of the Swiss Alps following organic practices, with potential yields of 4 tons/ha. *C. nepeta* is dominated by pulegone and *C. menthifolium* by carvone. Given their toxicity, the formulation of food products, drugs or bioinsecticides must take into account the legislation in force. A study of the phenotypic and phytochemical variability of native populations in Switzerland could help identifying the best ecotypes (Negro *et al.*, 2013).

References

- Božović M. & R. Ragno, 2017: Calamintha nepeta (L.) Savi and its main essential oil constituent pulegone: biological activities and chemistry. *Molecules* **22** (2), 290.
- Bruneton J., 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4e éd. Lavoisier. 1292 p.
- EGGENBERG S. and A. MÖHL, 2008: Flora Vegetativa. Edition Rossolis. 680 p.
- HANLIDOU R., S. KOKKINI, A. M. BOSABALIDIS and J.-M. BESSIÈRE, 1991: Glandular trichomes and essential oil constituents of Calamintha menthifolia (Lamiaceae). *Plant Systematics and Evolution* **177**, 17-26.
- KAROUSOU R., R. HANLIDOU and D. LAZARI, 2012: Essential-oil diversity of three Calamintha species from Greece. *Chemistry & Biodiversity* **9**, 1364-1372.

Negro C., S. Notaricola, L. De Bellis and A. Miceli, 2013. Intraspecific variability of the essential oil of *Calamintha nepeta* subsp. *nepeta* from Southern Italy (Apulia). *Nat Prod Res.* **27** (4-5), 331-339.

Figures and tables

Table 1. Dry matter and essential oil yields of *C. nepeta* and *C. menthifolium* over four harvests in three years, mix of four repetitions.

	<i>C. nepeta</i>	<i>C. menthifolium</i>
Dry matter	22.1	23.9
Essential oil [%]	1.2	1.3

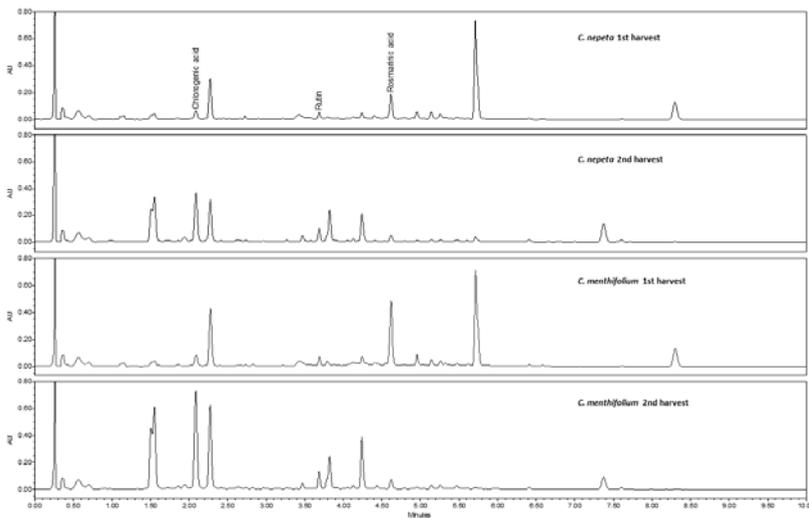


Figure 1. UHPLC analyses showing the presence of chlorogenic acid, rutin and rosmarinic acid (UV/Vis MAX plot).

Posterbeitrag Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

P 17 Neues Konzept zum nachhaltigen Süßholzanbau

New concept for sustainable licorice production



Rudolf Rinder, Heidi Heuberger

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, LfL, Vöttinger Str. 38, 85354 Freising, Rudolf.Rinder@LfL.bayern.de
DOI 10.5073/jka.2018.460.038

Zusammenfassung

Kultivierte Süßholzpflanzen (*Glycyrrhiza glabra* L., *Glycyrrhiza uralensis* FISCH) enthalten deutlich geringere Mengen an Triterpen-Saponinen (Glycyrrhizinsäure) als wilde Süßholzpflanzen. Wertvolle Wildstandorte sind durch die hohe Nachfrage zunehmend bedroht, China und die Mongolei haben bereits Lieferbeschränkungen erlassen. Selektierte wüchsige Herkünfte der LfL und ein neues, nachhaltiges Anbaukonzept mit Schösslingen auf Spargeldämmen, genannt RIPEAD[®], sollen den Süßholzanbau attraktiver und die Inhaltsstoffgehalte verlässlicher machen.

Stichwörter: Glycyrrhiza, Anbau, Dämme, Mulch, Inhaltsstoffe

Abstract

Cultivated licorice plants (*Glycyrrhiza glabra* L., *Glycyrrhiza uralensis* FISCH) contain smaller amounts of the triterpene saponin Glycyrrhizic Acid (GA) than wild licorice plants. Endangered or overharvested natural habitats (deserts) are already restricted in China and Mongolia. To resolve this problem and select strains with high GA, we propagated high value strains by vigorous underground shoots and developed a sustainable cultivation strategy, called RIPEAD[®], for organic licorice production.

Keywords: licorice, glycyrrhiza, cultivation, ridges, mulching, content

Einleitung

Die Gattung *Glycyrrhiza* L. (Süßholz, Licorice) ist ein mehrjähriger Halbstrauch aus der Familie der Fabaceae und umfasst ca. 20 Arten, die sowohl im gemäßigten und subtropischen Asien, Australien, Amerika als auch im Mittelmeergebiet vorkommen. Die Wurzeln enthalten u. a. Triterpen Saponine wie Glycyrrhizinsäure (GA) und Flavonoide wie beispielsweise Liquiritin. Im Europäischen und Chinesischen Arzneibuch (Anonym 2014, Anonym 2010) sind die Arten *G. glabra* L., *G. inflata* Batalin und *G. uralensis* Fisch. als Stammpflanzen für *Liquiritae radix* beschrieben.

Aus den Wurzeln der Süßholzpflanze wird seit über 5000 Jahren ein Saft/Extrakt (Lakritz) gewonnen, der universell in Lebensmitteln, Tabak und der Komplementärmedizin zum Einsatz kommt. Neue Einsatzgebiete als Nahrungsmittel- und Kosmetikzusatz sowie in der Schulmedizin führen zu einer aktuell extrem hohen Nachfrage von Süßholzwurzeln mit einer geschätzten Produktionsmenge von mehr als 300.000 t Wurzeldroge pro Jahr. Hauptlieferländer sind Aserbaidschan, Afghanistan, China, Kasachstan, Pakistan, Turkmenistan, Usbekistan und der Iran.

Am Wildstandort bilden die Pflanzen in tiefgründigem Boden 1-2 m lange Wurzeln und bis zu 10 m lange flachwachsende Ausläufer, die den Anbau stark erschweren und die Ernte zu einer großen Herausforderung machen.

Süßholz ist besonders an Trockenstandorte angepasst, somit Staunässe unverträglich und wächst in der Jugendphase sehr langsam und ungleichmäßig. Die Inhaltsstoffgehalte unterliegen standortbedingt starken Schwankungen.

Aktuell wird geschätzt, dass drei Viertel der Weltproduktion von wildgewachsenen Pflanzen stammen, was die natürlichen Bestände durch übermäßiges Ernten vor Ort stark belastet und große Umweltschäden wie Erosionen und Desertifikation verursacht (IFPRI 2014).

Eine oft metertiefe Ausgrabung lässt die Wurzeln weniger schnell oder gar nicht mehr nachwachsen, somit werden die geernteten Wurzeln immer jünger und die gewünschte hohe Qualität alter Wurzeln aus Wildbeständen nimmt deutlich ab. Die großräumige Zerstörung ganzer Landstriche im mittleren und fernen Osten könnte eingeschränkt werden, wenn der Anbau rentabler wäre und es weltweit mehr Optionen regionaler Förderung gäbe.

Kultiviertes Süßholz aus Chinesischen Anbaugebieten mit flachem Beetanbau (70-90 cm Breite, 20-25 cm Tiefe) erreicht zwar nach 3-4 Anbaujahren den vom Chinesischen Arzneibuch (Anonym 2010) geforderten Saponingehalt (Glycyrrhizinsäure) von 2%, liegt aber dennoch deutlich unter den Gehalten der Wurzeln vom Wildstandort (IFPRI 2014).

Genetische Unterschiede, Erntezeitpunkt (Alter) und Wasserdefizite werden als Haupteinflussfaktoren für den Saponingehalt beschrieben, allerdings spielt auch die Art der Wurzel (Pfahlwurzel/Ausläuferwurzel) und der jeweilige junge oder späte Zuwachs, eine wichtige Rolle (GUO ET AL. 2014).

Daher machte es sich die LfL zur Aufgabe, praxisübliche Anbauverfahren auf Basis von Dammtechniken zu entwickeln, die diese Parameter besser berücksichtigen können als im derzeitigen flachen Reihen- oder Beetanbau. Zudem sollen die Verfahren sowohl zu gleichmäßigen Beständen und weniger schwankenden Inhaltsstoffgehalten führen als auch die Möglichkeit bieten, das mechanische Unkrautmanagement zu optimieren und dem Bestand anpassen zu können. Vitale Herkünfte sollten zügig und aufrecht wachsen, homogene Wurzeln bilden und die Inhaltsstoffe möglichst stabil (konsistent) liefern.

Material und Methoden

In Vorversuchen der LfL-Freising wurde in den Jahren 2010-2014 mit Direktsaat und Ausläuferpflanzungen von Süßholz auf Kartoffel-, Möhren- und Spargeldämmen experimentiert und ein neues anwendungsorientiertes Anbaukonzept auf Spargeldämmen, genannt RIPEAD® (ridge planting easy digging), entwickelt. Zeitgleich wurden für den Dammanbau geeignete, vitale Herkünfte mit sicherer molekulargenetischer Identitätsprüfung (RINDER ET AL. 2011) selektiert.

Der Fokus lag dabei auf der besseren Beherrschbarkeit der Wuchseigenschaften, insbesondere der Ausläufer- und Wurzelentwicklungen, gegenüber dem verbreiteten Flächenbau mit Direktsaat.

Durch die Dammform wird den Pflanzen mehr lockerer Boden zur Durchwurzelung geboten, was ein sehr homogenes weniger verzweigtes Wurzelwerk verspricht. Außerdem kann auf diese Weise die Ausläuferbildung auf den Damm beschränkt bleiben. Bei der Ernte braucht nur die Masse des Dammes bewegt zu werden. Herkünfte wie Anbauverfahren kamen in einem Praxisbetrieb zum Einsatz.

Anlegen der Bestände:

Im Frühjahr 2014 wurde in einem Biolandbetrieb in Schrobenhausen eine Anbaufläche von 3000 m² mit dem neuen Spargeldamm-Anbaukonzept (RIPEAD®) angelegt. Neun Spargeldämme mit je 100 m Länge, 60 cm Höhe und 130 cm Breite wurden im November 2013 gezogen. Der Abstand zwischen den Dämmen betrug technisch bedingt 2-3 m. Im März 2014 wurden 9 000 Fehser (12 cm Abschnitte der unterirdischen Spross-Ausläufer) aus insgesamt vier Herkünften von *G. uralensis* und *G. glabra* unter Verwendung eines Pflanz- und Jätefliegers manuell im Abstand von 10 cm gesteckt (Abb. 1).

Unkrautbekämpfung:

Die Dämme wurden kurz vor der Pflanzung abgeflammt, anschließend wurden im April 2014 die Dammkronen einiger Dämme mit Grassilage abgedeckt (ca. 6 cm bzw. ca. 1-3 cm). Alternativ erfolgte eine Abdeckung mit einer Spargel T-Taschenfolie. Von April bis Juni 2014 wurden die Jungpflanzen auf Grund ausbleibender Niederschläge mehrmals mit Tropfschläuchen bewässert. Von Mai bis August 2014 erfolgten vier Handhacken, v.a. auf der Dammkrone ohne Mulchabdeckung, die Dammflanken wurden viermal mit einer Scheibenegge bearbeitet. Im Dezember 2014 wurde das Kraut mit einem Mulchgerät abgeschlegelt. Im März 2015 erfolgte nach erneutem Abflammen auf einigen Dämmen eine Abdeckung der Dammkronen mit Stroh- oder Grassilagemulch (Stroh: ca. 20 cm; Grassilage: 10-20 cm bzw. 20-40 cm) zur Unkrautunterdrückung und als Erosionsschutz. In den Folgejahren blieb die Fläche über die Sommermonate durch die Ackerflora begrünt und wurde im Herbst mit einem Mulchgerät abgeschlegelt.

Düngung, Pflanzenschutz:

Eine mineralische Düngung oder Pflanzenschutzmaßnahmen waren nicht erforderlich.

Ernte und Aufbereitung:

Am 26.11.2015 erfolgte eine Versuchsrodung mit einem Beetroder, wobei 6 m Damm je Herkunft geerntet wurden. Nach der Rodung wurden die Wurzelstöcke geteilt, die Wurzeln gereinigt, gerade Stangen selektiert, nach Durchmesser sortiert und anschließend zur trockenen Scheibenschnittware verarbeitet.

Inhaltsstoffuntersuchung:

Der 18β-Glycyrrhizinsäuregehalt wurde nach dem Europäischen Arzneibuch an der Universität Graz bei Prof. R. Bauer analysiert (ANONYM 2014).

Ergebnisse

In den beiden Kulturjahren 2014-2015 wurden anwendungsorientierte Erfahrungen mit RIPEAD® in einem Bioland-Betrieb gewonnen.

Bestandsentwicklung:

Es wurde ein sehr homogener und zügiger Austrieb der Fehser von über 75% innerhalb von 6-8 Wochen beobachtet, dabei wurde die Grassilage-Mulchabdeckung von den Jungpflanzen durchwachsen (Abb. 2). Nach 4 Monaten waren die Reihen geschlossen. Alle Pflanzen waren gut mit Nährstoffen versorgt und entwickelten in den tiefgründigen Dämmen schnell lange Wurzeln. Die flachwachsenden Ausläufer erstreckten sich im Schnitt 1,3 m in Längsrichtung der Dämme und blieben so auch bei der Ernte gut erfassbar.

Unkrautregulierung:

Ampfer, Disteln, Hahnenfuß, Ackerschachtelhalm, Gänsefuß, Franzosenkraut und Dt. Weidelgras erzeugten einen hohen Unkrautdruck, der mit den durchgeführten Maßnahmen gut beherrschbar war. Das Abdecken der Dammkrone mit zerkleinerter Grassilage und einer Schichtdicke von über 3 cm unterdrückte das auflaufende Unkraut effektiv und nachhaltig (Abb. 2). Das Abschälen der Dammflanken mit der Scheibenegge im ersten Jahr, solange keine Wurzelschäden zu befürchten waren, hat sich bewährt. Die alternative Abdeckung mit der T-Taschenfolie bewirkte eine effektive Unkrautunterdrückung, allerdings erschwerte die Folie den Austrieb des Süßholzes.

Krankheits- und Schädlingsbefall oder Mangelerscheinungen traten keine auf.

Ernte und Ausbeute:

Nach zwei Kulturjahren wurden im Schnitt 19 Pflanzen je 6 m geerntet, was ca. 1/3 der gepflanzten Fehser entspricht. Die Fehserausbeute lag im Mittel bei 34 Fehser (jeweils 12 cm lang) pro Meter Damm. Die *G. uralensis* Herkünfte lieferten mit Spitzenwerten von 93 Fehsern deutlich mehr Vermehrungsmaterial als die *G. glabra* Herkünfte mit 38 Fehsern.

Die Wurzel ausbeute, wichtig für die Rentabilität, hing stark von der Wurzelform, den Ernteverlusten und Ausläuferanteilen ab. Ebenso variierten Pflanzenzahlen und Erträge je nach Herkunft und Mulchabdeckung der Dämme. Im Allgemeinen waren die *G. uralensis* Herkünfte mit 427 g gewaschenen Wurzeln pro Meter Damm ertragsstärker als die *G. glabra* Herkünfte mit 293 g pro Meter. Unter den Grassilagemulchen waren die Erträge tendenziell höher. Auf den Dämmen ohne Abdeckung war die Unkrautkonkurrenz enorm, so dass die Süßholz-Pflanzen, trotz oder gerade wegen der Handhacke, weniger ertragreich waren als auf den gemulchten Dämmen.

Die Wurzeln waren bis zu 70 cm lang und eigneten sich gut zur Herstellung von Scheibenware (Droge; Abb. 3), dabei lag das Eintrocknungsverhältnis bei 2:1. Analog zum Gewicht gewaschener Wurzeln erzielten die *G. uralensis* Herkünfte mit durchschnittlich 185 g etwas mehr Scheibendroge pro Meter Damm als die *G. glabra* Herkünfte mit 148 g pro Meter Damm.

Inhaltsstoffe:

Der 18 β -Glycyrrhizinsäuregehalt lag am Ende des 2. Anbaujahrs zwischen 0,90% und 4,13%, nach dem 3. Anbau Jahr erreichte er 5,33 %. Der Mindestgehalt nach Ph. Eur. von 4% konnte im Anbau ab dem 2. Jahr bereits übertroffen werden. Im Allgemeinen unterschied sich weder das Gehaltsniveau der Fehser von dem der Wurzeln noch das Gehaltsniveau der Wurzeln größer 10 mm Durchmesser von dem der Wurzeln kleiner 10 mm Durchmesser. Auch die Unterschiede zwischen *G. glabra* und *G. uralensis* Herkünften waren nicht bedeutend.

Fazit

Als Fazit lässt sich zusammenfassen, dass das Anbaukonzept RIPEAD® gute Erfolge unter Praxisbedingungen erzielen konnte. Die Kultur auf Spargeldämmen macht es nicht nur möglich den Kraftaufwand bei der Ernte zu reduzieren, sondern auch homogene Wurzelqualitäten zu erzeugen, die den Anbau unter ökologischen Bedingungen attraktiv machen.

Unter BIOLAND-Richtlinien ist das Verfahren nachhaltig und ökologisch einsetzbar. Es greift die aktuellen Ziele der Zukunftsstrategie Ackerbau auf. Bodenerosionen und Bodenverdichtungen können im Gegensatz zum Flächbau durch Bewuchs und Mulchabdeckung (Schattengare) wirksam und nachhaltig vermieden werden. Chemischer Pflanzenschutz und mineralische Düngemittel können unterlassen werden, organische Düngung erhält die Bodenstruktur auf Dauer.

Im Praxisversuch lieferten die *G. uralensis* Herkünfte nach zwei Kulturjahren mehr Ertrag und eine höhere Fehserausbeute als die *G. glabra* Herkünfte. Eine vielversprechende Herkunft, die für den Praxisanbau geeignet sein könnte, ist die *G. uralensis* Herkunft 0408, die sich bei entsprechender Mulchabdeckung sowohl im Ertrag, als auch in den Inhaltsstoffen positiv präsentierte.

Weitere Untersuchungen dazu sind erforderlich.



Abb. 1 Stecken der Ausläuferstücke (Fechser) unter Verwendung eines Pflanz- und Jätefliegers (Eigenbau).

Fig. 1 *Planting of shoot-cuttings using a planting platform (self-made).*



Abb. 2 *Glycyrrhiza*-Pflanzen treten durch die Mulchschicht, Unkraut wird effektiv unterdrückt.

Fig. 2 *Glycyrrhiza shoots penetrate mulch layer, weeds are effectively suppressed.*



Abb. 3 Scheibenware (Droge) *G. uralensis*, Herkunft 0408.

Fig. 3 *Dried roots slices G. uralensis accession 0408.*

Literatur

- ANONYM, 2010: Pharmacopoeia of the People's Republic of China. English edition, Vol. 1. People's Medical Publishing House, Beijing.
- ANONYM, 2014. Europäisches Arzneibuch 8. Ausgabe, Grundwerk und Nachträge. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart.
- IFPRI – INTERNATIONAL FOOD POLICY RESEARCH INSTITUTE, 2014: Licorice Industry in China: Implications for Licorice Producers in Uzbekistan. The Draft Final Report. IFPRI, Washington DC, USA. 87 S.
- GUO, Z.Z., WU, Y.L., WANG, R.F., WANG, W.Q., LIU, Y., ZHANG, X.Q., GAO, S.R., ZHANG, Y. UND WEI S.L., 2014: Distribution patterns of the contents of five active components in taproot and stolon of *Glycyrrhiza uralensis*. *Biol. Pharm. Bull.* 37(7): 1253-1258.
- RINDER, R., HEUBL, G., HEUBERGER, H., 2011: Chinesisches Süßholz (*Glycyrrhiza uralensis/inflata/glabra*) als Arznei- und Rohstoffpflanze – eine botanische Charakterisierung. Posterpräsentation. Kurzfassungen der Vorträge und Poster, 6. Fachtagung Arznei- und Gewürzpflanzen, Berlin, 19.-22.09.2011, 114-116.

Posterbeitrag Themenkreis F: Anbauverfahren, Ernte und Nacherntebereich

P 18 *Microplontus rugulosus* (Coleoptera, Curculionidae) im Kamille-Anbau - erste Lösungsansätze



Microplontus rugulosus (Coleoptera, Curculionidae) in chamomile cultivation – first approach to solving a problem

Quentin Schorpp, Katja Sommerfeld, Ute Gärber, Martin Hommes

Julius Kühn-Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, quentin.schorpp@julius-kuehn.de

DOI 10.5073/jka.2018.460.039

Zusammenfassung

In den Jahren 2016 und 2017 wurden Feldpopulationen des Kamille Kleinrüsslers (*Microplontus rugulosus* auct. = *M. melanostigma*) auf Kamillefeldern in Thüringen untersucht. Das Aufkommen der Schädlinge während der Vegetationsperiode sowie deren Schadwirkung wurden festgestellt. In Feldversuchen konnten erste Bekämpfungsmöglichkeiten mit herkömmlichen Methoden getestet werden. *Microplontus rugulosus* trat massiv in den Kamillefeldern auf und schädigte einen Großteil des Pflanzenbestandes. Die erprobten Bekämpfungsstrategien mindern den Befall, bieten auf Grund zu geringer Wirkungsgrade jedoch keine nachhaltige Lösung des Problems.

Stichwörter: Kamille, *Microplontus rugulosus*, *Microplontus melanostigma*, Pflanzenschutz

Abstract

In the years 2016 and 2017 fieldpopulations of the chamomile weevil (*Microplontus rugulosus* auct. = *M. melanostigma*) have been investigated in chamomile fields in Thuringia. Occurrence of the pest insects during the vegetational period and their infestation levels were assessed. In field trials first control strategies using conventional methods were tested. *Microplontus rugulosus* was highly abundant in the chamomile fields and reached high infestation levels. The tested control strategies could cause a reduction, but do not offer a sustainable solution, due to limited efficacy.

Keywords: Chamomile, *Microplontus rugulosus*, *Microplontus melanostigma*, chemical control

Einleitung

Nach dem Willen der Bundesregierung soll die vorhandene Anbaufläche für Arznei und Gewürzpflanzen bis zum Jahr 2020 von 13 000 ha auf 20 000 ha erweitert werden (STELTER, 2013). In einer der Hauptanbauregionen für Echte Kamille (*Matricaria recutita* L.), in Thüringen, nimmt jedoch die Anbaufläche seit einigen Jahren stetig ab. Die Ursache hierfür findet sich unter anderem in starkem Befall durch *Microplontus rugulosus* auct. (= *M. melanostigma*, Marsham 1802.) (MORRIS & BARCLAY, 2015), dem runzligen Kamillen-Kleinrüssler. Neben *M. rugulosus* spielt in geringerem Ausmaß auch der Glattkäfer *Olibrus aeneus* Fabricius, 1792 eine Rolle, der ausschließliche die Blüten der Kamille schädigt. *Microplontus rugulosus* bildet eine Generation pro Jahr und überwintert als Imago vermutlich in Wäldern oder auf den Anbauflächen. Die genauen Überwinterungshabitate sind nicht bekannt. Die Eier werden an den Stängeln abgelegt. Der Fraß der Larven findet vor allem innerhalb der Stängel, aber auch in Wurzeln und Blüten statt. Neben einer reduzierten Blütenbildung resultiert die Hauptschädigung aus dem Umknicken der Pflanzen, wodurch die Ernte erschwert oder sogar verhindert wird.

Material und Methoden

Seit 2016 untersucht das Julius Kühn-Institut in einem von der Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe geförderten Projekt im Rahmen des Demonstrationsvorhabens zur Verbesserung der internationalen Wettbewerbsposition des deutschen Arznei- und Gewürzpflanzenanbaus am Beispiel der züchterischen und anbau-technologischen Optimierung von Kamille, Baldrian und Melisse (KAMEL) die Populationsdynamik von *M. rugulosus* und entwickelt erste Lösungsansätze für dessen Bekämpfung. Die Anzahl an Rüsselkäfern und die Schädigung an den Pflanzen wurden an ausgewählten Anbauflächen von zwei kamillenerzeugenden Betrieben in Thüringen über die gesamte Vegetationsperiode bis hin zur Ernte erfasst. Die Fahrten zu den Untersuchungsflächen fanden im Abstand von 3-4 Wochen statt. Die Untersuchung umfasste sowohl Herbst- als auch Frühjahrs-Aussaaten. Zudem wurde die Fruchtfolge berücksichtigt, sodass sogar Flächen beprobt werden konnten, auf denen erstmals Kamilleanbau stattfand. Die Beprobung fand durch die Entnahme von Ganzpflanzenproben mitsamt der Wurzel sowie durch Keschern mit Insektennetzen statt. Zusätzlich wurden Photoelektoren aufgestellt, um den Schlupfzeitpunkt der überwinterten Generation und die Nutzung der Anbaufläche als Überwinterungshabitat zu untersuchen. Erste Versuche zur direkten Bekämpfung erfolgten an beiden Standorten. Die Feldversuche wurden als Streifenversuche angelegt und mit dem für den Kamillenbau zugelassenen Pflanzenschutzmittel Karate Zeon (Wirkstoff: Pyrethroid) durchgeführt. Die Versuchsvarianten umfassten unterschiedliche Behandlungstermine, zur Auffindung des optimalen Zeitpunkts für eine einmalige Behandlung mit dem Insektizid. Behandlungstermine in Betrieb1/Betrieb2 waren: t1 = 30.03.17/01.04.17; t2 = 21.04.17/24.04.17; t3 = 04.05.17/09.05.17. Pro Behandlungsvariante wurde eine Streifenparzelle angelegt, aus der zu bestimmten Terminen 10 x 5 Pflanzenproben entnommen wurden.

Ergebnisse

Es konnte festgestellt werden, dass *M. rugulosus* der Hauptschädling an Kamille im Anbaubereich Thüringen war. *Olibrus aeneus* spielte eine untergeordnete Rolle. Von allen untersuchten Pflanzen im Untersuchungsjahr 2017 zeigten über 59,8 % Schadsymptome. Der überwiegende Anteil zeigte Schädigungen in Stängeln und Wurzeln, Blüten waren hingegen selten geschädigt. Sehr selten waren ausschließliche Schädigungen in den Pflanzenteilen Wurzel oder Blüte. Wenn Schädigungen in diesen Pflanzenteilen auftraten waren fast immer auch die Stängel geschädigt. Die Schäden in Wurzel, Stängel oder Blüte wurden in über 80 % der Fälle durch nur eine Larve verursacht, die restlichen 20 % durch 2 Larven, in sehr seltenen Fällen stieg die Zahl der Larven in Stängeln oder Blüten über 3. An beiden Betriebsstandorten waren Anfang Juni zum Ende des Monitorings annähernd 100% der Kamillenpflanzen in den Stängeln geschädigt. Die Wurzelschädigung war in Betrieb1 deutlich stärker, Blüten waren hingegen in Betrieb2 stärker geschädigt. Die Schädigung in Wurzeln und Blüten stieg erst Mitte Mai deutlich an, nachdem die Imagines von *M. rugulosus* ihr Maximum erreicht hatten. Die Schädigung in den Stängeln lag zum Zeitpunkt des Maximums bei ca. 75 % und war in der Frühjahrsaussaat deutlich niedriger als in der Herbstsaat, unabhängig vom Standort. In den Wurzeln unterschied sie sich nur in Betrieb1 zwischen den beiden Aussaatterminen. Blütenschäden waren nicht vom Aussaattermin beeinflusst.

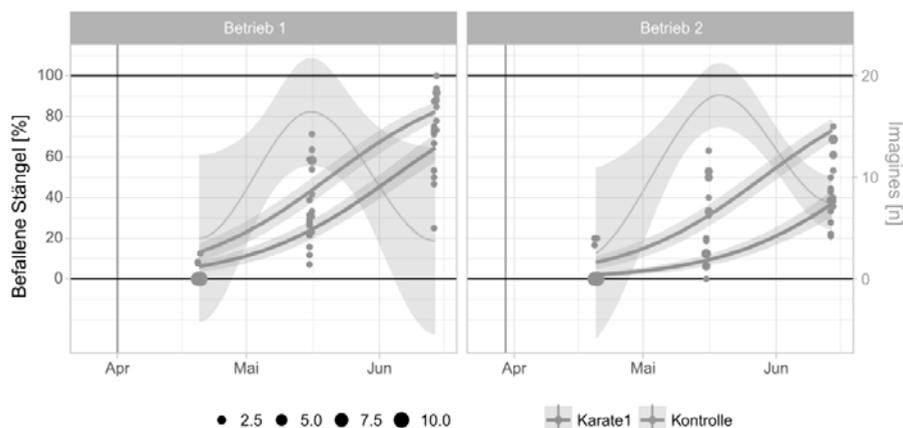


Abbildung 1 Auswirkung eines frühen Behandlungstermins mit Karate Zeon auf den Anteil befallener Stängel an den Versuchsstandorten. Binomial GLM, Modellvorhersagen \pm Konfidenzintervall. Blaue Linie = Kontrolle; rote Linie = Karate1, Verlauf der frühen Karatebehandlung zu t1; rote vertikale Linie = Behandlungstermin t1; Skalierung linksseitig; Graue Linie = Verlauf des Auftretens von Imagines von *Microplontus melanostigma*, Skalierung rechtsseitig. Punkte: Realdaten. Die Größe der Punkte entspricht ihrer Häufigkeit im Datensatz.

Fig. 4 Effect of an early insecticide treatment with Karate Zeon on the relative amount of infested stems at the trial sites. Binomial GLM, model predictions \pm confidence interval. Blue line = Control; red line = Karate1, course of an early insecticide treatment at t1, left hand scaling; red vertical line = treatment date t1; Grey line = course of occurrence of adult weevils, right hand scaling. Points = real data. The size of points is scaled according to their abundance in the data set.

Die Behandlung mit Karate Zeon zeigte nur in der Variante mit frühem Behandlungstermin (t1) eine Wirkung. Dieser Effekt war an beiden Standorten zu erkennen, in Betrieb1 jedoch deutlich stärker ausgeprägt (Abb. 1). Die beiden späteren Behandlungstermine zeigten keine Unterschiede zur unbehandelten Kontrolle. Die frühe Behandlung mit Karate Zeon konnte die Anzahl befallener Stängel im Bestand signifikant senken, die Schädigung in den Wurzeln blieb jedoch unbeeinflusst. Mitte Mai waren in der früh-behandelten Variante ca. 50% weniger Pflanzen geschädigt als in der Kontrolle. Die Schädigung nahm jedoch bis Mitte Juni noch weiter zu, nachdem die Häufigkeit von Imagines im Feld ihr Maximum erreicht hatte (Abb.1). So lag der Anteil von Pflanzen mit Befallssymptomen in Stängeln gegen Ende des Versuchs in der behandelten Variante dennoch zwischen 80 % und 90 %. Betrachtet man jedoch den Anteil befallener Stängel bezogen auf die Gesamtzahl untersuchter Stängel, so ist eine Reduktion des Befalls deutlich erkennbar (Abb. 1). Eine Minderung des Befalls zeigte sich insbesondere bei Betrieb1 mit einem Anteil von ca. 40 % befallener Stängel, was einer Reduktion um ca. 30 Prozentpunkte im Vergleich zur Kontrolle entspricht. Die Anzahl adulter Käfer unterschied sich in keiner Variante signifikant von der Kontrolle.

Diskussion

Basierend auf den Beobachtungen an Frühaussaaten muss davon ausgegangen werden, dass ein Zuflug adulter Käfer bis ins späte Frühjahr stattfindet. Der Befall in erstmals bestellten Flächen mit Herbstaussaat legt eine ähnliche Vermutung nahe. Da in Herbstaussaaten, die bereits im 2. Anbaujahr standen, adulte Käfer schon im Frühjahr noch bevor die Temperaturen über 10°C anstiegen, gefunden wurden, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass ein Teil der Population in den Anbauflächen überwintert oder ein Zuflug bereits im Herbst stattfindet. Eine Überwinterung in der Anbaufläche würde einen jährlichen Wechsel der Anbauflächen empfehlen, wobei die neue Fläche in einiger Entfernung zu möglichen Überwinterungshabitaten des

Vorjahres liegen sollte. Angaben zur genauen Entfernung können jedoch nicht gemacht werden. Es konnte nicht festgestellt werden, ob durch die Fraß- und Kontaktwirkung von Karate Zeon nur Imagines oder auch Ei-Stadien verletzt oder getötet werden. Zum Zeitpunkt der frühen Behandlung befanden sich wenige adulte Käfer im Feld und die Pflanzen hatten noch keine Stängel ausgebildet. Es ist zu vermuten, dass die Behandlung insbesondere die Ablage von Eiern an die frühen Pflanzenteile beeinträchtigt oder die Ei-Entwicklung stört. Später erfolgt die Ei-Ablage in den unteren Stängelbereichen und an die Wurzeln, Eier und die geschützt lebenden Larven können nicht mehr durch das Mittel erfasst werden und eine Schädigung kann nicht verhindert werden. Bis zu welcher Schadintensität die Ernte hinsichtlich des Umknickens der Stängel und der Blütenentwicklung noch ausreichende Erträge liefert bleibt eine offene Frage. Hier könnte die Bestockung der Pflanzen eine Rolle spielen. Im Jahr 2018 werden die Versuche wiederholt und zusätzlich Flächen großflächig zum Zeitpunkt der Bekämpfung des Rapsstängelrüsslers behandelt. Es soll herausgefunden werden, wie stark der Befall mit *M. rugulosus* tatsächlich reduziert werden kann. Durch eine frühe Behandlung zum Zeitpunkt der Rapsstängelrüssler-Bekämpfung könnte der Pflanzenschutz in der Kamille reibungslos in herkömmliche Betriebsabläufe integriert werden. Weiterhin werden Luftklektoren verwendet, um den Zuflug aus möglichen Überwinterungshabitaten zu erfassen.

Literatur

- MORRIS, M.G., BARCLAY, M.V.L., 2015. On the nomenclature of *Microplontus melanostigma* (Marsham, 1802), the weevil formerly referred to as *Microplontus rugulosus* (Herbst, 1795) (Curculionidae) and its synonyms, with lectotype and neotype designations. *The Coleopterist* 24(2): 133-140.
- STELTER, W., 2013. 20.000 ha im Jahr 2020 – ein realistisches Ziel? (20,000 ha in the year 2020 – a realistic aim?). *Zeitschrift für Arznei und Kulturpflanzen*; 18(3):105 S.

Autorenverzeichnis

Index of Authors

A		G	
Albertini, Emidio.....	67	Gall-Röhrig, Saskia	96
Albrecht, Sebastian.....	93	Gärber, Ute.....	86, 152
B		Gasparyan, Nelly.....	50
Berg, Martin.....	78	Geyer, Roland.....	72, 111
Berger, Melanie.....	45	Ghalamkari, Zahra.....	126
Beschow, Heidrun	89	Giones, Ferran.....	25
Blattner, Frank.....	34	Göbel, Kathrin A.	76
Blum, Hanna.....	78, 96	Göckmann, Victoria.....	41
Bocchini, Marika.....	67	Götz, Monika	86
Börner, Andreas.....	132	Grandel, Roland.....	93
Brassac, Jonathan.....	67	H	
Breisinger, Franziska.....	93	Hajimehdipoor, Homa.....	126
Bröring, Stefanie.....	13	Hamm, Andréé.....	91, 96
Bunse, Marek	45	Hamm, Andrée.....	35
Buyel, Johannes.....	23	Hannig, C.....	43
C		Hannig, Hans-Jürgen	102
Carraresi, Laura	13	Hartert, Lena.....	76
Carron, Claude-Alain	144	He, Sang.....	67
Chizzola, Remigius.....	132	Heelemann, Steffen.....	72, 111
Conrad, Jürgen.....	45	Heinrich, Miriam.....	45
D		Heller, Annerose.....	45
Dastjerdi, Marzieh Vahid	126	Hellerberg, Tim	76
Degenhardt, Jörg	67	Heuberger, Heidi.....	3, 95, 115, 147
Döring, Thomas	96	Hommes, Martin.....	152
Drossard, Jürgen.....	23	Honermeier, Bernd	76
Duwe, Virginia K.....	39	Hovsepyan, Roman	50
E		Huong-Nguyen, T.	57
Eickmeyer, Fred.....	72, 111	Hüttel, Bruno.....	34
F		J	
Feldevert- Höveler, Michaela.....	83	Jambor, Jerzy.....	94
Fink-Gremmels, Johanna	40	Junghanns, Wolfram.....	67
Flade, Jens	89	Junker, Laura	13
Földesi, Rita	96	Jupke, Andreas	13
Fraust, Beate	67	K	
		Kammerer, Dietmar R.	45
		Kayser, Oliver.....	91
		Kehraus, Saskia	42
		Kiefl, Johannes.....	92

Kilian Salas, Isabel C.....35
 Kirchhöfer, Renate.....72, 111
 Kölling-Speer, I.....43
 Kotschevski, Alexandra76
 Kozlovskaja, Lamara 135
 Kruglov, Dmitriy..... 118
 Kruglova, Mariya..... 118

L

Laufs, Daniel.....25
 Lazzaro, Mariateresa.....67
 Llorens-Molina, J. A.....57
 Lohwasser, Ulrike 132
 Lorenz, Peter45
 Lück, Manuel.....13
 Luhmer, Katharina.....78
 Luick, Rainer.....62, 139
 Lukas, Brigitte 102
 Lutz-Röder, Andrea.....39

M

Malankina, Elena..... 135
 Mengual, Ximo.....35
 Mondal, Prodyut.....67
 Müller, Kai34

N

Nabimeybodi, Razieh 126
 Noga, Georg.....13
 Novak, Johannes 39, 102, 132

O

Olennikov, Daniil 118
 Otto, Lars-Gernot..... 67, 93

P

Peters, Ralph35
 Plescher, Andreas..... 67, 83, 89
 Plocharski, Bartolome67
 Preiss, Susanne.....67
 Pude, Ralf 78, 96

Q

Quandt, Dietmar.....34

R

Rademacher, Thomas 23
 Reif, Jochen..... 67
 Reimann, Andreas..... 23
 Reimer, Julia Jessica 13
 Rettig, Michael 72, 111
 Riedl, Peter 94
 Rinder, Rudolf.....147
 Ruzicka, Joana.....102

S

Schefzig, Marcus.....102
 Schieber, Andreas..... 91
 Schippmann, Uwe 94
 Schmiderer, Corinna 39
 Schmittgen, Simone..... 13
 Schorpp, Quentin.....152
 Schultz, Carsten 25
 Schütte, Claudia 34
 Selmar, Dirk..... 56
 Sharbel, Timothy 67
 Sommerfeld, Katja 86, 152
 Sonnenschein, Marlis..... 67
 Speer, K.43
 Stintzing, Florian C. 45
 Stollberg, Christian 50
 Sucholas, Joanna..... 62, 94, 139
 Südekum, Karl-Heinz..... 42

T

Tansaz, Mojgan126
 Thiele, Björn 13
 Tiefenböck, Stephanie..... 76
 Tkatschova, Elena135
 Torres-Londono, Paula 39

U

Ungar, Jacqueline 50
 Usadel, Björn 13

V

van Hamme, Anja..... 83
 Vogel, Simon 23
 Vouillamoz, José Frédéric.....144

W

Wägele, J. Wolfgang..... 35

Wahl, Susanne.....	83
Wätjen, Wim.....	89
Wember, Louisa.....	78
Wensing, Joana.....	13
Wicke, Susann.....	34
Wiese-Klinkenberg, Anika.....	13
Wiesemann, Gerd.....	92
Wittpahl, G.....	43
Wolfram, Evelyn.....	144
Wormit, Alexandra.....	13

Y

Yutian, Sun.....	92
------------------	----

Z

Zámboriné-Németh, É.....	57
Zareshahi, Rahele.....	126
zur Loye, Anja.....	62, 94, 139



Journal für Kulturpflanzen

Journal of Cultivated Plants

Werden Sie Autor!
Become an author!



Werden Sie Autor!

Konzept

Charakteristik / Redaktionelles Konzept

Im Journal für Kulturpflanzen erscheinen begutachtete Original- und Übersichtsarbeiten rund um das Thema Kulturpflanze, und zwar im Ackerbau und Grünland, Obst- und Weinbau, Gemüse- und Zierpflanzenbau, Urbanem Grün und Forst. Im Fokus dabei stehen die Bereiche Bodenkunde und Pflanzenbau, Pflanzengenetik und Pflanzenzüchtung sowie Pflanzenschutz und Pflanzengesundheit. Im redaktionellen Teil der Zeitschrift werden außerdem Rezensionen zu Original- und Übersichtsarbeiten, Mitteilungen und Nachrichten, Personalien, Literaturhinweise und Buchbesprechungen veröffentlicht.

Zielgruppen / Leser

Zur Leserschaft des Journal für Kulturpflanzen gehören Forschende an Instituten und Bibliotheken der gärtnerischen und landwirtschaftlichen Hochschulkollegien, an Lehr- und Forschungsanstalten für Pflanzenbau und an Fachhochschulen. Eine weitere Zielgruppe sind Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Landwirtschaftsberatung, an Landwirtschaftskammern, Pflanzenschutzämtern, Instituten und Versuchsanstalten für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Saatgutwirtschaften, Versuchsgütern und landwirtschaftlichen Genossenschaften.

Veröffentlichungsethik

Das Journal für Kulturpflanzen verpflichtet sich, die höchsten Standards der Veröffentlichungsethik einzuhalten. Alle wissenschaftlichen Beiträge durchlaufen ein Begutachtungsverfahren nach internationalem Standard. Die Gutachten erfolgen (beidseitig) anonym von mindestens zwei unabhängigen Gutachtern pro Fachbeitrag.

Open Access

Alle wissenschaftlichen Beiträge im Journal für Kulturpflanzen werden nach 6 Monaten als Open-Access-Artikel veröffentlicht. Das Journal für Kulturpflanzen erhebt dafür von den Autoren keinerlei Gebühr.

Manuskripteinreichung

Bitte reichen Sie Ihre Manuskript über das elektronische Zeitschriftenverwaltungssystem ein: <https://ojs.openagrar.de/index.php/Kulturpflanzenjournal>. Bei Fragen zur Manuskripteinreichung kontaktieren Sie gern die Schriftleiterin Dr. Anja Hühnlein (Tel.: 03946 47123, E-Mail: journal-kulturpflanzen@julius-kuehn.de).

Autorenhinweise

<https://ojs.openagrar.de/index.php/Kulturpflanzenjournal>

Become an author!

Concept

Description / Editorial Concept

The Journal of Cultivated Plants publishes peer-reviewed original and review articles in the field of cultivated plants in field crops and grassland, fruit crops and viticulture, vegetable and ornamental crops, urban green and forests. The scope of the journal includes plant genetics, plant genetic resources, breeding research on plants, plant breeding, crop production, plant nutrition, soil science, plant protection and plant health. Furthermore, the editorial section of the journal publishes recensions to original and review articles, short communications, news, particulars, recommended literature and book reviews.

Target Groups / Readers

The readership of the Journal of Cultivated Plants includes researchers at institutes and libraries of horticultural and agricultural university departments, at educational and research institutions of crop production and at universities of applied sciences. A further target group are employees of the national agricultural consultancy, the chambers of agriculture, plant protection services, research institutes of crop production and plant breeding, the seed industry, experimental farms and agricultural cooperatives.

Publication ethics

The Journal of Cultivated Plants is committed to adhering to the highest standards of publication ethics according to the guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE). All scientific contributions submitted to the Journal go through a peer-review process based on international standards. Each manuscript is passed on to at least two independent reviewers, where the reviewer and authors remains anonymous throughout the process.

Open Access

All original and review articles are openly available after an embargo period of 6 months. The Journal of Cultivated Plants does not charge any publication fees.

Manuscript submission

Please submit your manuscript via the electronic journal management system: <https://ojs.openagrar.de/index.php/Kulturpflanzenjournal>.

If you have questions concerning manuscript submission, please contact the managing editor Dr. Anja Hühnlein (Tel: +49 (0)3946 47123, E-mail: journal-kulturpflanzen@julius-kuehn.de).

Instructions for Authors

<https://ojs.openagrar.de/index.php/Kulturpflanzenjournal>

Journal of Cultivated Plants

Journal für Kulturpflanzen

Journal of Cultivated Plants

Dr. Anja Hühnlein

Schriftleitung / Managing Editor

anja.huehnlein@julius-kuehn.de
+49 (0)3946 47 123

Julius Kühn-Institut
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Federal Research Centre for Cultivated Plants

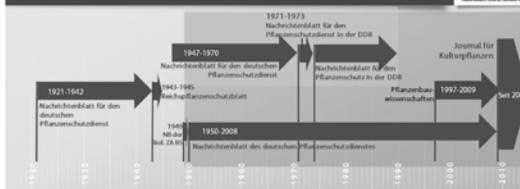
Informationszentrum und Bibliothek
Information Centre and Library

Julius Kühn-Institut
Erwin-Baur-Str. 27
06484 Quedlinburg
Germany

www.journal-kulturpflanzen.de/

www.julius-kuehn.de

Historie des Journal für Kulturpflanzen



Veröffentlichungen des JKI

Das **Julius-Kühn-Archiv** setzt die seit 1906 erschienenen Mitteilungshefte, eine Reihe von Monographien unterschiedlichster Themen von Forschungsarbeiten bis zu gesetzlichen Aufgaben fort. Alle bisher erschienenen Ausgaben sind OPEN ACCESS kostenfrei im Internet (<https://ojs.openagrar.de>) zu lesen.

Öffentlichkeit und Fachwelt versorgen wir zusätzlich mit verschiedenen Informationsangeboten über alle Aspekte rund um die Kulturpflanzen. Hierfür stehen Broschüren, Faltblätter, Fachzeitschriften und Monographien, Datenbanken und Themenportale im Internet zur Verfügung.

Seit 2009 wird vom Julius Kühn-Institut als wissenschaftliches Fachorgan das **Journal für Kulturpflanzen – Journal of Cultivated Plants** (vormals Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes) monatlich herausgegeben (<https://www.journal-kulturpflanzen.de>).

Weiterführende Informationen über uns finden Sie auf der Homepage des Julius Kühn-Instituts unter <https://www.julius-kuehn.de>.

Spezielle Anfragen wird Ihnen unsere Pressestelle (pressestelle@julius-kuehn.de) gern beantworten.

Anschrift für **Tauschsendungen**:

Please address **exchanges** to:

Adressez **échanges**, s'il vous plait:

Para el **canje** dirigirse por favor a:

Informationszentrum und Bibliothek

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Königin-Luise-Straße 19

D-14195 Berlin, Germany

E-Mail: ib@julius-kuehn.de

**8. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung, Vielfalt im Dialog mit Mensch und Natur,
Bonn, 10. – 13. September 2018**

Der Deutsche Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen (DFA) veranstaltet gemeinsam mit der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Forschungsbereich Nachwachsende Rohstoffe und Arzneipflanzen die 8. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung unter dem Motto **Vielfalt im Dialog mit Mensch und Natur**.

Die zunehmende Komplexität der unterschiedlichen Fachgebiete mit Beiträgen zur Entwicklung des Bereiches Arznei- und Gewürzpflanzen vom Anbau, der Züchtung, der Nacherntebehandlung, der pharmazeutischen Verarbeitung, der Wirkstoffforschung bis zu Produktinnovationen gibt dem Wissens- und Technologietransfer von der Grundlagenforschung über die angewandte Forschung in die unterschiedlichen Bereiche der Praxis eine zentrale Bedeutung. Die Tagung bietet ein vielbeachtetes Forum für den interdisziplinären wissenschaftlichen Austausch mit Ausstrahlung in viele europäische Nachbarstaaten. Entsprechend dem Motto soll aufgezeigt werden, wie Forschung die natürliche Vielfalt nutzen kann. Dieses Wissen ist eine wichtige Grundlage für die Vergrößerung der Vielfalt und ihren Schutz.

**VIIIth Conference on Medicinal and Aromatic Plant Research, Biodiversity - Dialogue of Man and Nature,
Bonn, September 10 - 13, 2018**

The German Technical Committee on Medicinal, Aromatic and Perfumery Plants (DFA), together with the Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, the University of Bonn presents the VIIIth Conference on Medicinal and Aromatic Plant Research under the motto **Biodiversity - dialogue of man and nature**.

The increasing complexity of the different areas of expertise with contributions to the improvement of medicinal and aromatic plants by cultivation, breeding, post-harvest treatment, pharmaceutical processing, active pharmaceutical ingredient research up to product innovations leads to a central role of the transfer of knowledge and technology from basic and applied research to different areas of production. The conference offers a much-appreciated forum for an interdisciplinary scientific communication appealing to many European neighbouring states. According to the conference motto it will be demonstrated how research can use the natural diversity. These scientific findings are also an important fundament for enlargement and protection of diversity.



Dr. Junghanns GmbH Ascavital® Kräuterprodukte



Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen SALUPLANTA e.V.

