

BSL 5 Wirkung mineralischer N-Düngung auf Blatterträge und Scopolamingehalte von *Duboisia* sp.

Effect of mineral N-fertilization on leaf yield and scopolamine content in Duboisia sp.

Sabine Oster¹, Julia Sparke¹, Hansjörg Hagels¹, Bernd Honermeier²

¹Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. kg, Phyto Center, Binger Straße 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Deutschland
sabine.oster@boehringer-ingelheim.com

²Justus-Liebig-Universität Gießen, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Schubertstraße 81, 35392 Gießen, Deutschland
Bernd.Honermeier@agr.uni-giessen.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.005

Zusammenfassung

Duboisia wird als Rohstofflieferant für Scopolamin verwendet. Dieses Tropanalkaloid wird aus dem Blattmaterial von *Duboisia* Arthybriden gewonnen und dient als Wirkstoff zur Therapie der Reisekrankheit sowie als Ausgangsstoff für partialsynthetische Anticholinergika. Für die effiziente Produktion sind hohe Erträge an Biomasse bei möglichst hohem Wirkstoffgehalt wünschenswert. Eine der abiotischen Einflussgrößen ist die Stickstoffernährung. Der hier beschriebene Freilandversuch stellt den Einfluss von vier unterschiedlich hohen N-Düngungsgaben (0 kg N/ha, 100 kg N/ha, 200 kg N/ha, 100+100 kg N/ha) mit Kalkammonsalpeter (KAS) auf drei Genotypen dar. Die N-Düngung zeigte keinen Einfluss auf den Scopolamingehalt, jedoch stieg mit erhöhter N-Menge die Biomasse signifikant an.

Stichwörter: *Duboisia*, N-Düngung, Biomasse, Scopolamin

Abstract

Duboisia plants are used as a source of scopolamine production. This tropane alkaloid is extracted from leaf material of interspecific hybrids. It is used as an active pharmaceutical ingredient to treat motion sickness and as a precursor for partially synthetic anticholinergics. For efficient production high yields in biomass with high content in active pharmaceutical ingredient is desirable. The conducted field trial shows the influence of the fertilizer ammoniumnitrate that was applied in four different amounts of N (0 kg N/ha, 100 kg N/ha, 200 kg N/ha, 100+100 kg N/ha) depending on three *Duboisia* genotypes. It was observed that mineral N-fertilization had no effect on scopolamine content but biomass increased significantly with higher amount of N.

Keywords: *Duboisia*, N-fertilization, biomass, scopolamine

Einleitung

Die in Australien beheimatete Pflanzengattung *Duboisia* aus der Familie der *Solanaceae* produziert das Tropanalkaloid Scopolamin, welches aus dem getrockneten Blattmaterial von Arthybriden extrahiert wird. Scopolamin dient als Wirkstoff zur Therapie der Reisekrankheit sowie als Ausgangsstoff für partialsynthetische Anticholinergika. Eine der abiotischen Einflussgrößen auf den Biomasse-Ertrag ist die Stickstoffernährung der Pflanze.

Um die Erträge von Scopolamin durch erhöhte Biomasse und einen hohen Scopolamingehalt zu maximieren wurde untersucht, wie der Scopolamingehalt und der Blattertrag von *Duboisia* durch die N-Dosis beeinflusst werden.

Material und Methoden

Feldversuch

Als Pflanzenmaterial wurden drei verschiedene Genotypen verwendet; zwei *Duboisia* Arthybriden und ein *D. myoporoides* Genotyp. Zur Vorbereitung des Feldversuchs wurden von November bis Mai in einem Gewächshaus Jungpflanzen angezogen. Der Feldversuch im Jahr 2013 wurde auf einem humusarmen Sandboden mit geringer Wasserkapazität in der Versuchstation Groß-Gerau

(Justus-Liebig-Universität Gießen) mit zwei Prüffaktoren (Genotyp, N-Düngung) als vollständig randomisierte Blockanlage (sechs Wiederholungen) angelegt. Die N-Düngung erfolgte unmittelbar zur Pflanzung mit folgenden Varianten:

- 0 kg/ha N als KAS (Kontrolle)
- 100 kg/ha N als KAS
- 200 kg/ha N als KAS
- 100 kg/ha N als KAS + 100 kg/ha N als KAS vier Wochen später

Jeweils drei Pflanzen (eine pro Genotyp) wurden in einer Parzelle (3 x 2 m) gepflanzt mit einem Abstand von 1 m in der Reihe. Als Parzellenrandpflanzen wurden längs und quer jeweils zwei Reihen Mais verwendet.

Als Prüfmerkmale wurden Pflanzenlänge, Anzahl der Seitentriebe pro Pflanze, Vergilbungsgrad, Chlorophyllgehalt der Blätter (mittels SPAD) und Gehalt an Scopolamin in der Blattdrockensubstanz erfasst. Für die wichtigsten Parameter wurden mittels *Kruskal-Wallis-Test* signifikante Unterschiede ermittelt.

Beim Scopolamingehalt handelt es sich um interne Daten, weshalb die Ergebnisse als Abweichung zur Kontrolle dargestellt sind.

Die Pflanzen wurden im Oktober 2013 nach fünfmonatiger Wachstumszeit geerntet. Es wurde das Frischgewicht der einzelnen Gesamtpflanzen und das Frisch- und Trockengewicht der Blätter ermittelt. Die Trocknung der Blätter erfolgte bei 60 °C für 24 h.

Analyse des Scopolamingehaltes

Der Scopolamingehalt wurde mittels einer isokratischen HPLC-Methode bestimmt. Es wurden 100 mg getrocknetes und gemahlens *Duboisia*-Blattmaterial in 10 ml 0,5 %iger H_3PO_4 für 18 h auf einem Schüttler (90 rpm) extrahiert. Die Auftrennung der Alkaloide wurde mit Agilent 1200 System durchgeführt. Die verwendete Säule war Supersphere 60 RP-8 Phase (125 mm x 4 mm, 4 μ m, Grace, Deerfield, USA). Die mobile Phase setzte sich aus 375 ml Acetonitril, gelöst in 1000 ml wässriger Lösung mit Heptan-1-Sulfonsäure und Natriumsalz (3 g/L) zusammen (pH 3,2). Die Flussrate war 1,5 ml/min, die UV-Detektion fand bei 190 nm statt. Je nach Genotyp betrug das Injektionsvolumen zwischen 2-6 μ l. Für die Quantifizierung von Scopolamin wurde die Externe-Standard-Methode eingesetzt. Die lineare Kalibrierung lag zwischen 0,2-2 % Scopolamin in der Trockensubstanz.

Ergebnisse

Die verschiedenen N-Düngungsstufen zeigten einen deutlichen Einfluss auf das Wachstum der *Duboisia*-Pflanzen. Die Erhöhung der N-Düngung von 0 auf 100 bzw. 200 kg N/ha bewirkte eine Erhöhung der Pflanzenlänge bei gleichzeitiger Zunahme der Anzahl an Seitentrieben pro Pflanze. Die Aufteilung der N-Düngung in 100+100 kg N/ha bewirkte für zwei Genotypen keine Zunahme der Pflanzenhöhe im Vergleich mit der einmaligen Gabe von 200 kg/ha N. Bei Hybride 1 hatte die Splitting-Variante (100+100 kg N/ha) eine Verminderung des Wachstums zur Folge. Die höchste Blattmasse pro Pflanze wurde bei allen Genotypen mit einer Aufwandmenge von 200 kg N/ha erzielt (Tab. 1).

Der Chlorophyllgehalt (SPAD) der Blätter stieg mit erhöhter N-Düngungsmenge an und erreichte das Maximum bei in Summe 200 kg N/ha. Dem gegenüber nahm der Vergilbungsgrad der Blätter bei hoher N-Düngung erwartungsgemäß ab. Die N-Düngung hatte keinen signifikanten Einfluss auf den Scopolamingehalt der *Duboisia*-Blätter.

Tab. 1 Einfluss der N-Düngung (V) auf Pflanzenhöhe (H), Seitentriebezahl (ST), Frischgewicht (FG) und Trockengewicht (TG) der Pflanzen (Pfl.) und Blätter (Bl.), den Chlorophyllgehalt (CG), den Vergilbungsgrad der Blätter (VG; 1=grün, 9=gelb) und den Scopolamingehalt (SG) in Abweichung zur Kontrolle. Die Daten wurden für alle drei Genotypen (GT) erhoben. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen (n=6).

Tab. 1 Influence of different N-fertilization treatments (V) on plant height (H), side branches (ST), fresh weight (FG) and dry weight (TG) of plants (Pfl.) and leaves (Bl.), chlorophyll content (CG), grade of yellowing of leaves (VG; 1=green, 9= yellow) and scopolamine content (SG) in deviation of control. Data was required for all three genotypes (GT). Shown are means and standard deviation (n=6).

GT	V	H	ST	FG [g]		TG	CG	VG	SG
		[cm]	An- zahl	Pfl.	Bl.	Bl.	[%]	(1-9)	[%]
D. myoporoides	0 *	185± 17 ^b	42±6 ^a	703± 169	360± 97	63± 16 ^b	41±5	4±1	
	100 *	213± 9 ^{ab}	42±9 ^a	1527± 212	692± 106	141± 21 ^{bc}	55±6	3±1	-0,32
	200	224± 26 ^{ab}	46±5 ^a	1652± 342	753± 156	166± 40 ^{ac}	60±4	3±1	-0,41
	100+ 100 *	227± 19 ^a	47±2 ^a	1740± 308	790± 117	179± 35 ^{ac}	63±4	3±1	-0,46
Hybride 1	0	202±6 ^b	50±2 ^b	605± 99	249± 58	52± 11 ^b	41±4	4±1	
	100	239±3 ^{ac}	55±3 ^{bc}	1614± 360	688± 187	159± 44 ^{bc}	64±8	2±1	-0,42
	200	250±9 ^a	58±4 ^{ac}	2127± 322	949± 172	230± 46 ^{ac}	67±4	2±1	-0,84
	100+ 100	225± 16 ^{bc}	48±3 ^b	1668± 477	760± 249	197± 94 ^{ac}	68±7	2±1	-0,72
Hybride 2	0	163± 14 ^b	52±9 ^a	526± 149	207± 74	40± 13 ^b	45±6	4±1	
	100	173± 22 ^{ab}	57±4 ^{ac}	726± 311	282± 117	58± 20 ^{bc}	56±5	4±2	0,60
	200	201± 13 ^a	67±13 ^{bc}	1148± 184	461± 82	102± 15 ^{ac}	57±4	3±0	0,57
	100+ 100	201± 13 ^a	69±7 ^{ac}	1211± 211	495± 141	106± 27 ^{ac}	64±4	3±1	0,13

* (n=5, aufgrund von abgestorbenen Pflanzen)

Anmerkung: Höhe, Seitentriebe und TG (Blätter) mit unterschiedlichen Buchstaben (a, b, c) unterscheiden sich signifikant bei den einzelnen N-Varianten innerhalb eines Genotyps auf dem 5 %-Niveau (Kruskal Wallis Test).

Diskussion

Die Ergebnisse zeigten, dass ein Zuwachs des Ertrages von *Duboisia* durch eine erhöhte N-Düngung mit KAS möglich ist. Die höchste Gabe von 200 kg/ha N bewirkte bei allen drei Genotypen den höchsten Blattertrag, gleichzeitig konnte aber keine signifikante Wirkung auf das Verhalten des Tropan-Alkaloidgehaltes beobachtet werden. Frühere Versuche von LUANRATANA und GRIFFIN (1980), in denen ebenfalls der Alkaloidgehalt und die Biomasse von *Duboisia* Hybriden unter dem Einfluss verschiedener N-Dosen untersucht wurden, konnten hiermit bestätigt werden.

Um zu prüfen, ob eine weitere Steigerung des Blattertrages zu erreichen ist, müssen weitere Düngungsversuche hinsichtlich verschiedener N-Formen und -Dosen durchgeführt werden.

Danksagung

Die Autoren danken Carsten Quirin für die Mithilfe bei der Erhebung der Boniturdaten im Rahmen seiner Masterarbeit.

Literatur

LUANRATANA, O. und W. J., GRIFFIN, 1980: Cultivation of a *Duboisia* hybrid. Part A. Nutritional requirements and effects of growth regulators on alkaloid content. *J. Nat. Prod.* **43**: 546-551.