

# 4 4 6

## Julius-Kühn-Archiv

Corinna Schmiderer, Johannes Novak, Frank Marthe

### 7. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung

### VII<sup>th</sup> Conference on Medicinal and Aromatic Plant Research

Wien, 14. – 17. September 2014

Innovation entlang der Produktionskette  
Kurzfassungen der Vorträge und Poster  
Abstracts of Oral Presentations and Posters



vetmeduni  
vienna



Julius Kühn-Institut  
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

## **Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI)**

Das Julius Kühn-Institut ist eine Bundesoberbehörde und ein Bundesforschungsinstitut. Es umfasst 15 Institute zuzüglich gemeinschaftlicher Einrichtungen an zukünftig sechs 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 <http://www.jki.bund.de>. Spezielle Anfragen wird Ihnen unsere Pressestelle ([pressestelle@jki.bund.de](mailto:pressestelle@jki.bund.de)) gern beantworten.

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

The Julius Kühn-Institute is both a research institution and a higher federal authority. It is structured into 15 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 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 <http://www.jki.bund.de>. For more specific enquiries, please contact our public relations office ([pressestelle@jki.bund.de](mailto:pressestelle@jki.bund.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@jki.bund.de](mailto:GFF@jki.bund.de)

Internet: <http://www.jki.bund.de/> Bereich "Über das JKI"

4 4 6

Julius-Kühn-Archiv

Corinna Schmiderer, Johannes Novak, Frank Marthe

**7. Tagung  
Arznei- und Gewürzpflanzenforschung**

**VII<sup>th</sup> Conference  
on Medicinal and Aromatic Plant Research**

**Wien, 14. – 17. September 2014**

Innovation entlang der Produktionskette  
Kurzfassungen der Vorträge und Poster  
Abstracts of Oral Presentations and Posters



**Herausgeber:**

Corinna Schmiderer, Johannes Novak, Frank Marthe

**Veranstalter:**

Deutschen Fachausschusses für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen (DFA)  
gemeinsam mit der  
Veterinärmedizinischen Universität Wien (VetMed)

**Mitveranstalter:**

Deutsche Botanische Gesellschaft e.V. (DBG), Sektion „Pflanzliche Naturstoffe“  
Gesellschaft für Arzneipflanzen und Naturstoff-Forschung e.V. (GA),  
Arbeitsgruppe Züchtung und Anbau  
Gesellschaft für Phytotherapie e.V. (Gphy)  
Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, AG Heil- und Gewürzpflanzen  
Gesellschaft für Pflanzenzüchtung (GPZ), AG Arznei- und Gewürzpflanzen (AG 17)  
Vereinigung für angewandte Botanik e.V. (VAB)

**Wissenschaftliches Komitee:**

Johannes Novak, Wien, Vorsitzender; Rudolf Bauer, Graz; Wolf Dieter Blüthner, Erfurt; Herbert J. Buckenhüskes, Frankfurt am Main; Christoph Carlen, Conthey; Heidi Heuberger, Freising; Liselotte Krenn, Wien; Ulrike Lohwasser, Gatersleben; Frank Marthe, Quedlinburg; Joachim Müller, Hohenheim; Andreas Plescher, Artern; Hartwig Schulz, Quedlinburg; Barbara Steinhoff, Bonn; Hermann Stuppner, Innsbruck;

**Foto Titel:**

Michael Bernkopf (Vetmediathek), Remigius Chizzola, Brigitte Lukas, Corinna Schmiderer

**Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**

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

ISSN 1868-9892

ISBN 978-3-95547-011-1

DOI 10.5073/jka.2014.446.000

## **Vorwort**

Der Deutsche Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen (DFA) veranstaltet gemeinsam mit der Veterinärmedizinischen Universität (VetMed) Wien die 7. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung vom 14. bis 17. September 2014 in Wien. Die Tagung steht unter dem Motto **Innovation entlang der Produktionskette**.

Diese Tagungsserie wird vom Deutschen Fachausschuss im Abstand von drei bis vier Jahren unter Beteiligung anderer wissenschaftlicher Organisationen veranstaltet. Mitveranstalter der 7. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung sind die Deutsche Botanische Gesellschaft e.V. - Sektion „Pflanzliche Naturstoffe“, die Gesellschaft für Arzneipflanzen und Naturstoff-Forschung e.V. - Arbeitsgruppe Züchtung und Anbau, die Gesellschaft für Phytotherapie e.V., die Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften - AG Heil- und Gewürzpflanzen, die Gesellschaft für Pflanzenzüchtung - AG Arznei- und Gewürzpflanzen (AG 17) und die Vereinigung für angewandte Botanik e.V.

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 in die gesamte Produktionskette integriert werden kann, um eine möglichst lückenlose Optimierung von Produktionsabläufen zu garantieren.

Gastgeber wird im Jahr 2014 die bereits 1765 gegründete Veterinärmedizinische Universität Wien sein. Durch ihre sowohl medizinische als auch lebensmittelwissenschaftliche Ausrichtung weist sie fachlich direkte Anknüpfungspunkte an das Themengebiet Arznei- und Gewürzpflanzen auf.

Die Vorbereitung der Tagung erfolgte wiederum länderübergreifend und interdisziplinär. Im Ergebnis stehen herausragende Beiträge als Vorträge oder Poster, die den Blick auf die aktuelle Entwicklung des Gebietes ermöglichen.

Mein Dank gilt allen beteiligten Kollegen und speziell dem wissenschaftlichen Komitee, den mitveranstaltenden Gesellschaften und den Sponsoren. In besonderem Maße danke ich aber dem Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe der Veterinärmedizinischen Universität Wien als Gastgeber!

Ich wünsche uns allen gute und nachhaltige Gespräche mit vielen neuen Anregungen.

Dr. Frank Marthe

im Namen des wissenschaftlichen Komitees



## Inhaltsverzeichnis – Table of Contents

### **Themenkreis A: Innovation entlang der Produktionskette**

<b>APL 1 Schneller, personalisierter, direkter - Innovationspotentiale entlang der Wertschöpfungskette für Arzneipflanzenprodukte</b>	<b>11</b>
Stefanie Bröring	

### **Themenkreis B: Wildsammlung, Inkulturnahme und Anbau**

<b>BPL 2 Die ganze Kette im Blick – Forschung verzahnen</b>	<b>12</b>
<i>Watch out the whole chain – interlocking research</i>	
Heidi Heuberger	
<b>BSL 3 Geschützter Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen</b>	<b>15</b>
Christoph Carlen, Claude-Alain Carron	
<b>BSL 4 Der kontrollierte Anbau von <i>Vitex agnus-castus</i> – Chancen und Risiken</b>	<b>16</b>
Amin Chaanin	
<b>BSL 5 Wirkung mineralischer N-Düngung auf Blatterträge und Scopolamingehalte von <i>Duboisia</i> sp.</b>	<b>17</b>
<i>Effect of mineral N-fertilization on leaf yield and scopolamine content in <i>Duboisia</i> sp.</i>	
Sabine Oster, Julia Sparke, Hansjörg Hagels, Bernd Honermeier	
<b>BSL 6 Einfluss der Klimabedingungen auf morphologische Merkmale der Ölbehälter und auf die Zusammensetzung des ätherischen Öls von vier <i>Origanum vulgare</i> Subspezies</b>	<b>21</b>
<i>Microclimate effects on morphological characteristics of glandular trichomes and essential oil of four <i>Origanum vulgare</i> subspecies</i>	
Marzieh Shafiee-Hajiabad, Johannes Novak, Bernd Honermeier	
<b>BSL 7 Einfluss von Umweltbedingungen und Entwicklungsstadium auf Ertragsparameter und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe von Zitronenmelisse (<i>Melissa officinalis</i> L.)</b>	<b>23</b>
<i>Influence of environmental factors and development stage on yield parameters and secondary plant metabolites in lemon balm (<i>Melissa officinalis</i> L.)</i>	
Marco Russo, Bernd Honermeier	

- BSL 8 Ergebnisse einer begleitenden Forschung für den Salbeianbau in der Bombastus-Werke AG Freital** 25  
*Results of an accompanying research for sage cultivation of the Bombastus-Werke AG Freital*  
Christoph Grunert

### **Themenkreis C: Phytopathologie und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe**

- CPL 9 Molekularbiologische Diagnostik von Pflanzenkrankheiten** 27  
*Molecular diagnosis of plant diseases*  
Sabine Grausgruber-Gröger, Richard A. Gottsberger, Thomas Leichtfried, Helga Reisenzein
- CSL 10 Auftreten von Falschem Mehltau bei Gartenkresse (*Lepidium sativum* L.) in der Saatgutvermehrung – Evaluierung von Saatgutbehandlung und Wachstumsbedingungen in einem Gefäßversuch** 29  
*Appearance of Downy Mildew in seed propagation of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.) – Evaluation of Seed Treatment and Growth Conditions in pot experiment*  
Stefanie Zeller, Bernd Honermeier
- CSL 11 Einfluss von abiotischen Faktoren auf Wuchs und Scopolamin-Biosynthese in *Duboisia myoporoides*.** 31  
*Influence of abiotic factors on growth and biosynthesis of scopolamine in *Duboisia myoporoides*.*  
Sophie Friederike Ullrich, Oliver Kayser, Hansjörg Hagels
- CSL 12 Einfluss der Temperatur auf die Keimrate von Kamille (*Matricaria recutita* L.), Melisse (*Melissa officinalis* L.) und Baldrian (*Valeriana officinalis* L.)** 35  
Susanne Wahl, Andreas Plescher
- CSL 13 Aktuelle Bewertung von Pyrrolizidinalkaloiden in pflanzlichem Material** 36  
Barbara Steinhoff
- CSL 14 Nikotin- und Pyrrolizidinalkaloide in Arznei- und Gewürzpflanzen** 37  
Dirk Selmar, Maik Kleinwächter
- CSL 15 Regulatorische Anforderungen an die Produktion und Qualität pflanzlicher Arzneimittel** 38  
*Regulatory requirements for the production and quality of herbal medicinal products*  
Hansjörg Hagels, Martin Tegtmeier, Jochen Strube

## **Themenkreis D: Genetische Ressourcen, Züchtung und Sortenwesen**

- DPL 16 Brauchen wir Arzneipflanzen-Sorten?** 40  
Chlodwig Franz
- DSL 17 Charakterisierung genetischer Ressourcen von Kamille (*Matricaria recutita* L.) mit Hilfe molekularer Techniken** 41  
*Characterisation of genetic resources in German chamomile (*Matricaria recutita* L.) using molecular and genomic methods*  
Lars-Gernot Otto, Timothy Sharbel
- DSL 18 Untersuchung der Thymian-Kollektion aus der Bundeszentralen Ex situ-Genbank Gatersleben – Vergleich morphologischer, phytochemischer und molekularer Merkmale** 42  
*Screening of the thyme collection of the federal ex situ genebank in Gatersleben – comparison of morphological, phytochemical and molecular data*  
Ulrike Lohwasser, Jette Schimmel, Karin Baumann, Pavla Kolářková, Andreas Börner, Jörg Degenhardt
- DSL 19 Strategien für die Melissezüchtung (*Melissa officinalis*)** 44  
*Breeding strategies for lemon balm (*Melissa officinalis*)*  
Johannes Kittler, Ute Kästner, Hans Krüger, Andrea Krähmer, Christoph Böttcher, Esther Paladey, Wolfram Junghanns, Ulrike Lohwasser, Wolf-Dieter Blüthner, Frank Marthe
- DSL 20 Karyologische Variabilität in Kreuzungsnachkommen – eine Herausforderung bei der Züchtung neuer Baldriansorten (*Valeriana officinalis* L. s.l.)** 47  
*Ploidy levels in crossbred descendants – a challenge in the breeding of new varieties of valerian (*Valeriana officinalis* L. s.l.)*  
Michael Penzkofer, Heidi Heuberger, Manuel Geyer, Martin Müller

## **Themenkreis E: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik**

- EPL 21 Qualität von Anfang an – Voraussetzung für Extrakte höchster Güte** 52  
*Quality from begin – condition for excellent extracts*  
Martin Tegtmeyer, Hansjörg Hagels, Jochen Strube
- ESL 22 Arznei- und Gewürzpflanzenanalytik im Hochdurchsatz – Technologie, Möglichkeiten und Anwendungen der numares NMR-Plattform** 54  
*Medicinal and Aromatic Plant Analysis in high-throughput – technology, possibilities and applications of the numares NMR-platform*  
Roland Geyer, Michael Rettig, Christoph Dotzer, Volker Pfahlert, Fritz Huber

- ESL 23 CO<sub>2</sub> – ein ‚grünes‘ Lösemittel für die Gewinnung naturreiner, empfindlicher Phytoextrakte** **61**  
*CO<sub>2</sub> – a green solvent for the recovery of sensitive plant ingredients*  
Dieter Gerard
- ESL 24 Charakterisierung von Arznei- und Gewürzpflanzen durch Festphasenextraktion** **63**  
*Characterisation of medicinal and aromatic plants by solid phase extraction*  
Hans Krüger

### **Themenkreis F: Pharmazeutische Biologie und Anwendungen**

- FPL 25 Drugs from Nature Targeting Inflammation (DNTI) – Ein erfolgreiches interdisziplinäres Österreichisches Netzwerk-Projekt** **64**  
*Drugs from Nature Targeting Inflammation (DNTI) – A successful interdisciplinary Austrian network project*  
Hermann Stuppner
- FSL 26 Regulationsmechanismen der Ausprägung von Chemotypen in Thymian (*Thymus vulgaris*)** **67**  
*Mechanisms of chemotype formation in thyme (*Thymus vulgaris*)*  
Jette Schimmel, Sandra Krause, Natalie Arndt und Jörg Degenhardt
- FSL 27 Karies- und Erosionsschutz durch Thymian? *In vitro* und *in situ* Untersuchungen zur Wirksamkeit** **70**  
*Thyme for caries and erosion protection? In vitro and in situ investigations for efficacy testing*  
Gesche Wittpahl, Franziska Gaunitz, Alexandra Gleß, Isabelle Kölling-Speer, Sabine Basche, Sandra Pötschke, Christian Hannig, Karl Speer
- FSL 28 Potenziale von Senfsamen bei Food und non-food Anwendungen** **71**  
Ralph Thomann<sup>1</sup>, Frank Kage<sup>1</sup>, Annedore Habel<sup>2</sup>, Nutan Kaushik<sup>3</sup>

### **Workshop Innovative Molekulargenetik – Chancen für Arznei- und Gewürzpflanzen**

- WSL 29 Einführung in Apomixis – Die Verbreitung asexueller Fortpflanzungsmechanismen und ihr wirtschaftliches Potential für Arznei- und Gewürzpflanzen** **72**  
Martin Mau, Timothy Sharbel
- WSL 30 Pharmazeutische Proteine aus Pflanzen** **73**  
Eva Stöger

## Poster

- P 1 In-vitro-Sprossregeneration an männlichen Blütenknospen von *Cannabis sativa* (L.) ‚USOS‘** 74  
Benjamin Wedeking, Ina Pinker, Giampaolo Grassi, Regina Schenk
- P 2 Zum Blühverlauf und Befruchtungsverhalten von *Actaea racemosa* L. (syn. *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.)** 74  
Regina Schenk, Ina Pinker, Teresa Degischer
- P 3 Ergebnisse aus Herbizidprüfungen in Thymian in Sachsen-Anhalt** 75  
Marut Krusche, Annette Kusterer, Isolde Reichardt
- P 4 Zitronenmelisse: Einfluss der Agrotexilabdeckung auf den Ertrag an Blättern, ätherischem Öl und Rosmarinsäure** 76  
Claude-Alain Carron, José Vouillamoz, Catherine Baroffio; Christoph Carlen
- P 5 *Saxifraga rotundifolia* L.: Bestimmung des optimalen Erntezeitpunktes zur Verbesserung der Qualität von pflanzlichem Rohmaterial für Kosmetikfirmen** 77  
Christèle Bastian, Alain Grogg, Claude-Alain Carron, José Vouillamoz, Christoph Carlen
- P 6 Pharmakobotanische Untersuchungen von Lavendelsorten auf dem Plattensee-Plateau** 78  
*Pharmacobotanical investigations on lavender cultivars in the Balaton highland region*  
Frida Tóth, Szilvia Sárosi, Ildikó Demjén, Mária Tulok und Noémi Koczka
- P 7 Perspektiven der Auxine im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau** 82  
Elena Malankina
- P 8 Nachweis von *Verticillium dahliae* an Pfefferminze (*Mentha x piperita* L.)** 83  
*Detection of *Verticillium dahliae* on Peppermint (*Mentha x piperita* L.)*  
Ute Gärber
- P 9 Nachweis von *Mycosphaerella anethi* an Arzneifenchel mittels quantitativer PCR (qRT-PCR)** 87  
Kerstin Taubenrauch, Thomas Kühne
- P 10 Selbstinkompatibilität bei Kamille (*Matricaria recutita* (L.) Rauschert)** 88  
Bettina Fähnrich, Claudia Kraxner, Chlodwig Franz

- P 11 Die Verwendung von Isoenzym-Polymorphismen - eine Herausforderungen bei der Züchtung neuer Baldriansorten (*Valeriana officinalis* L. s.l.)** **89**  
*The Application of Isozyme-Polymorphism – a challenge in the breeding of new varieties of valerian (*Valeriana officinalis* L. sl)*  
Michael Penzkofer, Heidi Heuberger, Manuel Geyer, Berta Killermann, Monika Konnert
- P 12 Phytochemische Untersuchungen an einer Melissenkollektion** **94**  
Remigius Chizzola<sup>1\*</sup>, Ulrike Lohwasser<sup>2</sup>
- P 13 Quercetin- und Kämpferol-Malonylglycoside in Schwarzen Johannisbeerblättern (*Ribis nigri folium*)** **95**  
*Quercetin and Kaempferol Malonylglycosides in Black Currant Leaves*  
Isabelle Kölling-Speer, Annika Böhme, Karl Speer
- P 14 Phenolsäuregehalte und antioxidative Kapazität in Wurzelextrakten von *Salvia miltiorrhiza* Bunge** **96**  
*Phenolic acid contents and antioxidant capacity in root extracts of *Salvia miltiorrhiza* Bunge*  
Young-Hyun Sung, Feng Yan, Theresa Krippel, Ronny Krämer, Bernd Honermeier
- P 15 Wertgebende Inhaltsstoffe in Spitzwegerich (*Plantago lanceolata* L.) und weiteren *Plantago*-Arten** **98**  
*Bioactive constituents of ribwort (*Plantago lanceolata* L.) and further *Plantago* species*  
Nicole Beitlich, Isabelle Kölling-Speer, Karl Speer
- P 16 Polyphenole in *Cistus incanus* Tee: Ein wichtiges Qualitätskriterium zur Beurteilung der antibakteriellen Wirkung** **99**  
*Polyphenols in *Cistus incanus* tea: An important quality criterion for the evaluation of the antibacterial effect*  
Gesche Wittpahl, Isabelle Kölling-Speer, Sabine Basche, Christian Hannig, Karl Speer
- P 17 Stabilität von Herzglykosiden in wässrigen bzw. wässrig fermentierten Extrakten aus der Meerzwiebel (*Drimia maritima* (L.) Stearn)** **100**  
*Stability of cardiac glycosides in aqueous and fermented aqueous extracts from sea squill (*Drimia maritima* L. Stearn)*  
Diana N. Knittel, Florian C. Stintzing, Dietmar R. Kammerer
- P 18 Vergleich schneller, einfacher und robuster Extraktionsmethoden für die Qualitätskontrolle von Thymian** **103**  
*Comparison of fast, easy, and robust extraction methods for quality control of thyme*  
Gesche Wittpahl, Stafanie Liesegang, Franziska Gaunitz, Isabelle Kölling-Speer, Karl Speer

<b>P 19 PCR-basierende Identitätsprüfung von Kamille (<i>Matricaria recutita</i> L.) und Nachweis von Verunreinigungen mit <i>Anthemis</i>-Arten in Kamillenprodukten</b>	<b>104</b>
<i>Quality control of Matricaria recutita L. products by PCR methods and detection of adulterations with Anthemis species</i> Corinna Schmiderer, Johannes Novak	
<b>P 20 Identifizierung biotischer Verunreinigungen durch Hochdurchsatzsequenzierung</b>	<b>105</b>
<i>Identification of biotical impurities by next-generation sequencing</i> Brigitte Lukas, Corinna Schmiderer, Johannes Novak	
<b>P 21 Pharmakokinetik-Studie von Ginkgo biloba Extrakt (EGb 761) nach oraler Applikation sowie thermografische Untersuchungen zum Nachweis der durchblutungsfördernden Wirkung beim Pferd</b>	<b>106</b>
Elisabeth Pommer, Natascha Ille, Karin Zitterl-Eglseer, Isabella Hahn-Ramssl, Chlodwig Franz	
<b>Autorenindex - List of Authors</b>	<b>107</b>
<b>Stichwörter - Keywords</b>	<b>109</b>



## Themenkreis A: Innovation entlang der Produktionskette

---

### **APL 1 Schneller, personalisierter, direkter - Innovationspotentiale entlang der Wertschöpfungskette für Arzneipflanzenprodukte**

**Stefanie Bröring**

Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Institut für Lebensmittel- und Ressourcenökonomik, Lehrstuhl „Agribusiness Management, insb. Technologie und Innovationsmanagement“, Meckenheimer Allee 174, 53115 Bonn, Deutschland  
s.broering@ilr.uni-bonn.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.001

#### **Zusammenfassung**

Arzneipflanzen bilden den Ausgangspunkt für verschiedene Wertschöpfungsketten: pflanzliche Arzneimittel, funktionelle Lebensmittel und Futtermittel, Kosmetika und Veterinärprodukte. Innovationen sind dabei die Basis für die Wettbewerbsfähigkeit der verschiedenen Akteure. Was macht jedoch erfolgreiche Innovationen aus? Welche Innovationspotenziale und damit verbundene Herausforderungen gibt es speziell in der komplexen Wertschöpfungskette von Arzneipflanzenprodukten? Um diesen Fragestellungen nachzugehen, leitet der vorliegende Beitrag zunächst Erfolgsfaktoren aus der Literatur des Innovationsmanagements ab und bezieht diese dann auf die Wertschöpfungskette für Arzneipflanzen. Im Spannungsfeld von „Regulation, Technologischer Option und Nutzenwahrnehmung“ werden dabei exemplarisch Innovationspotenziale auf den verschiedenen Wertschöpfungsstufen vom Anbau über die Weiterverarbeitung bis zur Marktanwendung beleuchtet. Im Mittelpunkt stehen dabei Produktinnovationen auf der Endverbraucherstufe, so dass der Kaufentscheidung (im Bereich der „Selbstmedikation“) eine zentrale Bedeutung zukommt. Ein Schwerpunkt liegt dabei auf der Fragestellung der Akzeptanz und damit verbundenen Nutzenwahrnehmung von Innovationen durch verschiedene Verbrauchergruppen. Dabei zeigt der Vortrag Ergebnisse aus verschiedenen Studien auf und geht insbesondere auf das Verbraucherverhalten und verschiedene Kaufentscheidungstypen ein. Ebenso werden neuere Entwicklungen und Trends wie Individualisierung und Personalisierung und deren mögliche Auswirkungen auf die Wertschöpfungskette für Arzneipflanzen dargestellt.

---

## Themenkreis B: Wildsammlung, Inkulturnahme und Anbau

---

### **BPL 2 Die ganze Kette im Blick – Forschung verzahnen**

*Watch out the whole chain – interlocking research*

**Heidi Heuberger**

Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung,  
Vöttlinger Str. 38, 85354 Freising, Deutschland  
Heidi.Heuberger@Lfl.bayern.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.002

#### **Zusammenfassung**

Hersteller von Arznei- und Gewürzpflanzen basierten Produkten können im internationalen Wettbewerb nur über ständige Innovationen zur Verbesserung des Produkts und zur Optimierung der Prozesse bestehen. Es wird die Hypothese begründet, warum Innovationen aus interdisziplinärer und eng miteinander verzahnter Forschung und Entwicklung die höheren Erfolge versprechen. Dabei sind die interdisziplinären Beiträge sowohl aus den vorgelagerten Prozessketten als auch aus der Grundlagenforschung zu nutzen.

Stichwörter: Innovation, interdisziplinäre Forschung, Wettbewerb, Zusammenarbeit

#### **Abstract**

Manufacturers of products based on medicinal or spice plants essentially need continuous innovations for improved products or optimized processes to succeed in the international economic competition. A hypothesis is founded why innovations based on interdisciplinary and closely interlocked research promises to be more successful. Thereby interdisciplinary contributions from both the supply side-chains as well as the fundamental research are to be used.

Keywords: competition, cooperation, innovation, interdisciplinary research

#### **Blick auf die Kette**

Innovationen an einer Stelle der Wertschöpfungskette wirken sich meist auf eine oder mehrere andere Stellen aus bzw. sind auf weitere Innovationen bei vor- und nachgelagerten Prozessschritten angewiesen. Daraus ergeben sich die Chance und die Notwendigkeit im Zuge von Forschungs- und Entwicklungsaufgaben, den Rest der Prozesskette zu berücksichtigen, um am Ende die Problemstellung zu lösen oder das Produkt mit den gewünschten Spezifikationen auf den Markt zu bringen.

Wie lang ist die Küstenlinie der britischen Insel? Kommt darauf an, wie genau man hinschaut. Analog dazu, wo beginnt also die Kette? Die Pflanzenzüchtung, gefolgt von Saat- und Pflanzgutproduktion ist ein Anfang, die Entwicklung von Säaggregaten zur präzisen Ablage oder von Bodenbearbeitungsgeräten (etc.) sind weitere Startpunkte im Vorfeld der Aussaat als Startpunkt einer Kultur, d. h. der Rohstoffproduktion. So stoßen im Lauf des Feldanbaus weitere Seitenketten der Produktionsfaktoren hinzu. Insbesondere bei der Ausbildung der Inhaltsstoffe eröffnet die Betrachtung und Erforschung der Abläufe und Wechselwirkungen der Pflanzen und ihrer Umwelt bis in die Tiefen der Pflanzenphysiologie, Biochemie und Genexpression weitere und gezieltere Handlungsmöglichkeiten. Damit bildet die Metapher der „Kette“ die Komplexität der Realität sicher nicht annähernd ab, führt uns aber darauf zurück, dass alles mit allem zusammen und voneinander abhängt.

Ein grober Blick auf die Kette könnte also heißen Züchtung – Saatgut – Jungpflanzen – Bestands-etablierung – Pflegemaßnahmen – Ernte – Reinigen – Trocknung – weitere Verarbeitung (bis hier „Gute Landwirtschaftliche und Sammelpraxis“, GACP) – (ab hier „Gute Herstellungspraxis“, GMP) mechanische Verarbeitung – Extraktion – Aufreinigung (downstream) – Konfektionieren – Verpacken – Verkauf/Marketing – Anwender/Kunde.

Die Reihenfolge ist am Produktionsfluss orientiert. Sollen Innovationen entstehen und greifen, muss die Kette genau andersherum betrachtet werden, im Extremfall also vom Anwender/Kunden her. Von dort entstehen die Impulse, die durch Problemstellungen und/oder neue Spezifikationen die Suche nach entsprechenden Veränderungen in den vorgelagerten Prozessschritten anstoßen.

### **Suche nach Innovationspotenzialen**

Liegen genaue Problemstellungen bzw. Spezifikationen vor, kann vom Endprodukt her nach Ansätzen bis zurück in die Züchtung oder in die Entwicklung von Säaggregaten (etc.) s. o. gesucht werden. Um alle Lösungsoptionen ausschöpfen oder zumindest abklopfen und deren gegenseitige Abhängigkeiten aufdecken zu können, bedarf es eines interdisziplinären Teams. Erst danach sollte die Bewertung vorgenommen, d. h. die Erfolg versprechendsten bzw. effizientesten Ansätze identifiziert werden. Daraus leitet sich die aufeinander aufbauende, verzahnte Forschung der jeweiligen Spezialisten ab – sei es in enger Zusammenarbeit an einem Thema, sei es in paralleler Arbeit an den jeweils eigenen, jedoch insgesamt zusammenhängenden Themen.

Die Krux ist das Auffinden dieser Drehschrauben, für das die entsprechenden Partner gefunden werden müssen. Welche Disziplinen werden gebraucht? Welcher Partner kommt dafür fachlich in Frage? Meist muss außerhalb der eigenen Institution gesucht werden, so dass das frühe Offenlegen von Plänen vertraglich geregelt und vertrauensvolle Partner gefunden werden müssen.

Je näher die gesuchte Disziplin am eigenen Arbeitsschwerpunkt liegt, umso mehr Partner sind bekannt und die Suche nach ihnen ist schnell vollzogen. Eine besondere Hürde stellt die Grenze zwischen den Prozessschritten der GACP und GMP dar – vor dem Endkunden öffnet sich für manche sogar ein Abgrund. Jenseits der Grenze wird das jeweils eigene Netzwerk lückiger und die Potenziale der dortigen Disziplinen liegen weitgehend verborgen. Dies liegt sicher nicht nur an der spezifischen Fachsprache. Zum Schließen der Kommunikationslücke will diese Tagung mit den Sessions aus den Bereichen GACP und GMP beitragen und als Plattform und Anregung für diesen interdisziplinären Austausch dienen. Darüber hinaus gilt es, die Kontakte zu verstetigen, z. B. über die gegenseitige Konsultation in den Fachgremien, Verlinkung von Informationsplattformen, Einladung zu Workshops und Teilnahme an zentralen Fachveranstaltungen. Einem ausbrechenden Reisefieber und Meetingswahnsinn steht die begrenzte zeitliche Kapazität der Beteiligten entgegen, so dass sich nutzbringende Kontakt- und Informationsformen herauskristallisieren werden.

### **Beispiele verzahnter und interdisziplinärer Forschung**

Zurück zur interdisziplinären Erarbeitung von Innovationspotenzialen. Hier gibt es bereits Beispiele zu nennen wie das Demonstrationsvorhaben zur Verbesserung der internationalen Wettbewerbsposition des deutschen Arznei- und Gewürzpflanzenanbaus am Beispiel der züchterischen und anbautechnologischen Optimierung von Kamille, Baldrian und Melisse („KAMEL“) (FACHAGENTUR NACHWACHSENDE ROHSTOFFE, 2014). Die Arbeit in den Expertengruppen und im Wissenschaftlichen Beirat des Demonstrationsvorhabens „KAMEL“ wird von allen Beteiligten als höchst produktiv eingeschätzt. Da die Vorhaben bereits in der Planungsphase mit Fachkollegen und auch Kollegen anderer Disziplinen diskutiert wurden, konnten rechtzeitig Anpassungen vorgenommen oder weitere Fragestellungen, die sonst nicht oder nur mit größerem Aufwand bearbeitet werden könnten, integriert werden. Es wäre wünschenswert, diese synergetisch wirkende Arbeitsweise über die Dauer des Projekts hinaus zu erhalten; zum Beispiel könnte es in die Aufgaben bestehender Gremien aufgenommen werden. Allerdings gälte es, hier zusätzlich Vertreter aus dem GMP-Bereich einzubeziehen. Die notwendige Offenheit, in öffentlichen Gremien über Ideen, geplante oder beginnende Projekte zu sprechen, wird sicher nur für vorwettbewerbliche Projekte vorhanden sein. Ob der damit verbundene Meeting-Aufwand gerechtfertigt sein wird, wird von dem zu erzielenden Nutzen abhängen. Für kleinere Projekte ohne eigene Interdisziplinarität wird die Bilanz eher günstig ausfallen.

Ein weiteres Beispiel für die Erarbeitung von Innovationspotenzialen ist das interdisziplinäre Projekt zur Inkulturnahme und Züchtung von Heilpflanzen, die in der Traditionellen Chinesischen Medizin eingesetzt werden, in Deutschland (HEUBERGER et al., 2010). Kern dieser Forschergruppe sind Vertreter der Pflanzenbauforschung, der Züchtung, der Pharmazie, der Sensorik und der Medizin. Je nach Aufgabenstellung wird weitere Fachexpertise herangezogen sowie eng mit den produzierenden Landwirten und den Abnehmern zusammengearbeitet. Als Ergebnis hat sich ein kleiner Anbau von über 10 Arten für den Apothekenmarkt etabliert, Interessen zur Verarbeitung wurden geäußert, und die gewonnene Expertise fließt in die Qualitätssicherung der Importeure sowie in die Erarbeitung der Monographien für das Europäische Arzneibuch ein. Auch für die interdisziplinäre Forschung an den chinesischen Heilpflanzen wird an einer langfristig tragenden Struktur gearbeitet.

Beim Thema Pyrrolizidinalkaloide (PA) steht die gesamte Branche vom Saatgut bis zum Fertigprodukt noch weitgehend am Anfang. Die Senkung des Risikos kann nur über ein ganzes Bündel an Maßnahmen und damit an erforderlichen Innovationen an verschiedenen Stellen des Produktionsprozesses erreicht werden. Eine Verzahnung der Forschungsaktivitäten findet bereits statt. Die Planungen schließen Erhebungen auf Saatgut-, Feld-, Unkraut-, Verarbeitungs- und Produktebene ebenso ein wie grundlagenorientierte Untersuchungen zur Biosynthese und Dynamik der Stoffgruppe der PAs in Unkräutern und Pflanzen im Allgemeinen. Mit dem verbesserten Verständnis sollen sowohl effektivere Gegenmaßnahmen entwickelt als auch Argumente für regulatorische Entscheidungen abgeleitet werden können.

Wie die Optimierung der Extraktion auch durch Innovationen bei der Rohwarenerzeugung neue Impulse erhalten kann, wird im Tagungsbeitrag von Martin Tegtmeier beleuchtet. Und schließlich könnte die Berücksichtigung der Drogenqualität in der pharmazeutischen bis klinischen Forschung zu reproduzierbareren Ergebnissen führen. Wird für die Studien Apothekenware genutzt, so ist diese nach Arzneibuchkriterien geprüft und der erforderliche Gehalt der Leitsubstanz muss erreicht sein. Da in Phytotherapeutika der Extrakt und damit das Vielstoffgemisch den Wirkstoff darstellt, müssen für reproduzierbare Ergebnisse weitere Standards eingehalten werden, um eine möglichst gleichbleibende Inhaltsstoffzusammensetzung zu erreichen. Dazu gehört die Vielzahl an Extraktionsparametern, aber eben auch die Spezifikation des Ausgangsstoffs, der Droge. Allerdings geht Letztere eher selten über die Artbezeichnung und die Beschreibung der pharmazeutischen Qualität entsprechend der Arzneibuchvorgaben hinaus. Dabei wäre die Sicherung einer homogenen Drogenqualität oder die gezielte Steuerung der Drogenqualität und damit die Sicherung der Wirksamkeit über eine definierte Genetik (Sorte), Anbau-, Ernte- und Verarbeitungsverfahren in interdisziplinärer Zusammenarbeit mit den Spezialisten der Produktion, der Pflanzenbauwissenschaften, der Analytik etc. möglich.

## **Schlussfolgerung**

Auf Grund des weltweiten Wettbewerbsdrucks sind fortlaufende Innovationen zur Verbesserung des Produkts und zur Optimierung der Prozesse zwingend notwendig. Die Komplexität der Zusammenhänge bei der Herstellung und Vermarktung eines Produkts erfordert für erfolgreiche Neuerungen eine eigene, breit angelegte Expertise oder die frühzeitige Einbindung entsprechender Experten in die Konzeption und Entwicklung. Eine stärkere Vernetzung und Zusammenarbeit über die Grenzen von GACP, GMP und medizinischer Forschung hinweg ist geboten, um im internationalen Wettbewerb der Arznei- und Gewürzpflanzenbranche bestehen zu können.

## **Literatur**

FACHAGENTUR NACHWACHSENDE ROHSTOFFE E.V. (FNR) (HRSG.), 2014: Gülzower Fachgespräche Band 44: Arzneipflanzenanbau in Deutschland – mit koordinierter Forschung zum Erfolg 2013. 2. Tagung, Bad Blankenburg (Thüringen), 16./17. Oktober 2013. FNR 2014, 211 S. E-Book <http://mediathek.fnr.de/tagungsbeitraege-1/nachwachsende-rohstoffe/arzneipflanzen/arzneipflanzenanbau-in-deutschland-mit-koordinierter-forschung-zum-erfolg-1.html>.

HEUBERGER, H., BAUER, R., FRIEDL, F., HEUBL, G., HUMMELBERGER, J., NÖGEL, R., SEIDENBERGER, R. UND P. TORRES-LONDONO, 2010: Cultivation and breeding of Chinese medicinal plants in Germany. *Planta Medica* **76**, 1956-1962. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0030-1250528>.

## **BSL 3 Geschützter Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen**

**Christoph Carlen, Claude-Alain Carron**

Agroscope, Institut für Pflanzenbauwissenschaften, 1964 Conthey, Schweiz  
[christoph.carlen@agroscope.admin.ch](mailto:christoph.carlen@agroscope.admin.ch)

DOI 10.5073/jka.2014.446.003



### **Zusammenfassung**

Die Bedeutung des geschützten Anbaus in Gewächshäusern, unter Plastiktunnels, Agrotexilien und Bändchengewebe können Vorteile mit sich bringen im Vergleich zum traditionellen Freilandanbau. Die Vorteile des geschützten Anbaus sind sehr vielfältig, wie unter anderem Verlängerung der Vegetationsperiode, Verbesserung der Wachstumsbedingungen, Verbesserung der Überwinterung, höhere Wirkstoffakkumulation in den Pflanzen, einfachere Produktion von Pflanzen mit sehr geringer Wuchskraft, effizientere Regulierung von Schädlingen, Krankheiten und Unkräutern.

Anhand von Forschungsprojekten von Agroscope wird die künftige Bedeutung des geschützten Anbaus von Arznei- und Gewürzpflanzen diskutiert. Der Anbau im Gewächshaus in Substraten, in Hydroponie oder in Aeroponie können für Pflanzen mit geringem Wachstum wie zum Beispiel alpine Pflanzen von Bedeutung sein. Weitere Bedeutung könnten diesbezüglich genetisch modifizierte Pflanzen, die spezifische Wirkstoffe für die Pharmaindustrie produzieren, haben. Einfachere Abdeckungen wie Agrotexilabdeckungen können den Ertrag und/oder die Qualität beeinflussen wie bei verschiedenen Minze-Arten und Melisse gezeigt werden konnte. Weiter haben Abdeckungen über den Winter wie Plastiktunnels, Agrotexilien oder Bändchengewebe gezeigt, dass damit Frostschäden reduziert werden können. Eine weitere positive Wirkung des Bändchengewebes war dabei ein sehr stark reduzierter Unkrautdruck und somit grosse Einsparung bei der mechanischen Unkrautbekämpfung im Frühjahr.

Der geschützte Anbau kann an Bedeutung gewinnen und zur Produktinnovation beitragen, falls damit die Ertragssicherheit und/oder die Wirkstoffgehalte verbessert werden können. Dabei sind die höheren Produktionskosten durch gesteigerte Erträge, höhere Preise und/oder durch eine bessere Arbeitseffizienz abzugelten sind.

## **BSL 4 Der kontrollierte Anbau von *Vitex agnus-castus* – Chancen und Risiken**

**Amin Chaanin**

VitaPlant AG, Romanshorerstr. 39, 8592 Uttwil, Schweiz

DOI 10.5073/jka.2014.446.004



### **Zusammenfassung**

Für die Versorgungssicherheit, Qualitätssicherheit und den Nachweis der Einhaltung moderner Qualitätsstandards (GACP, GMP) gewinnt der kontrollierte Anbau für die Beschaffung von Rohstoffen, u. a. für die Pharmaindustrie, zunehmend an Bedeutung.

Für *Vitex agnus-castus* wurde bei der Fa. Max Zeller Söhne AG im Jahr 2003 mit der Etablierung des kontrollierten Anbaus in Indien auf einer Gesamtfläche von ca. 9 ha begonnen. Der Anbau erfolgt unter der Einhaltung der GACP-Richtlinien und wird umfassend protokolliert.

Trotz aller Maßnahmen zur Optimierung der Produktion ist der bisherige Erfolg (Mehrertrag) nicht zufriedenstellend. Entgegen der ursprünglich in der Versuchsphase ermittelten Erträge bis 700 g Trockenfrüchte pro Baum liegt der Ertrag nach über 10 Jahren des kontrollierten Anbaus bei ca. 200 g Trockenfrüchte pro Baum. Dieses ergibt bei einer Pflanzdichte von 1.250 Bäumen pro Hektar ein Erlös von 250 kg/ha. Die Wirtschaftlichkeit des Anbaus ist infolge der tiefen Erträge fraglich, da sich der Anbau nicht allein über den Kilogrammpreis finanzieren lässt.

## **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 Oster<sup>1</sup>, Julia Sparke<sup>1</sup>, Hansjörg Hagels<sup>1</sup>, Bernd Honermeier<sup>2</sup>**

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

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

## **BSL 6 Einfluss der Klimabedingungen auf morphologische Merkmale der Ölbehälter und auf die Zusammensetzung des ätherischen Öls von vier *Origanum vulgare* Subspezies**

*Microclimate effects on morphological characteristics of glandular trichomes and essential oil of four *Origanum vulgare* subspecies*

**Marzieh Shafiee-Hajabad<sup>1</sup>, Johannes Novak<sup>2</sup>, Bernd Honermeier<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I, Justus-Liebig-Universität Gießen, Schubertstr. 81, 35392 Gießen, Deutschland

Marzieh.shafiee-hajabad@agrar.uni-giessen.de

<sup>2</sup>Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich



DOI 10.5073/jka.2014.446.006

### **Zusammenfassung**

Vier *Origanum vulgare* Subspezies wurden in einem Gefäßversuch unter zwei Mikroklimabedingungen bei unterschiedlicher Lichtintensität kultiviert. Es wurden die morphologischen Merkmale von Drüsentrichomen sowie die Zusammensetzung des ätherischen Öls untersucht. Es wurde festgestellt, dass die Dichte und der Durchmesser von Drüsentrichomen sowie die Zusammensetzung des ätherischen Öls zwischen den verschiedenen Subspezies deutlich variierten. Eine erhöhte Lichtintensität steigerte den Durchmesser der Drüsentrichome, während der Biomasse-Ertrag sowie die Pflanzenhöhe und die Blattfläche reduziert waren.

Stichwörter: *Origanum vulgare*, Drüsentrichome, ätherisches Öl, Rasterelektronenmikroskopie, Licht

### **Abstract**

Four *Origanum vulgare* subspecies were cultivated in a pot experiment under two microclimate conditions with different light intensity. The morphological characteristics of glandular trichomes and their essential oil composition were evaluated. It was found that the density and diameter of glandular trichomes and their essential oil composition varied among different subspecies. An increased light intensity led to increased diameters of glandular trichomes, but decreased plant fresh material, plant height and leaf area.

Keywords: *Origanum vulgare*, glandular trichomes, essential oil, scanning electron microscopy, light

### **Einleitung**

*Origanum vulgare* ist eine zur Familie der Lamiaceae gehörende Gewürzpflanze, deren Blätter mit glandulären und nicht-glandulären Trichomen besetzt sind. Diese Trichome haben für die Pflanze verschiedene biologische Funktionen. Sie fungieren als Schutz der Pflanzenoberfläche gegen UV-Strahlen und Wasserverlust durch zu hohe Transpiration und spielen auch eine Rolle in der chemischen Kommunikation der Pflanzen mit Insekten und Pathogenen.

In *Origanum*-Arten wurden zwei Typen von Drüsen-Trichomen identifiziert: (1) Drüsenschuppen, die aus einem großen flachen sekretorischen Kopf mit 12-18 Zellen bestehen. Das von ihnen gebildete ätherische Öl sammelt sich subkutikular an, bis es bei einer Beschädigung der Kutikula freigesetzt wird; (2) Drüsenhaare, die deutlich kleiner als Drüsenschuppen sind und eine größere morphologische Variabilität aufweisen. Das in den Drüsenhaaren gebildete ätherische Öl wird nach der Synthese über eine poröse Kutikula kontinuierlich nach außen abgegeben.

Die Zusammensetzung des ätherischen Öls von *Origanum* ist zum einen genetisch determiniert und variiert innerhalb der verschiedenen Subspezies. Darüber hinaus können auch Umweltfaktoren, wie die Lichtintensität, der Trockenstress, die Nährstoffversorgung und der Erntetermin, den Gehalt und die Zusammensetzung des ätherischen Öls beeinflussen. In einem Gefäßversuch sollte daher geklärt werden, in welchem Umfang die Umweltfaktoren Licht und Lufttemperatur die Dichte der Trichome und die Zusammensetzung des ätherischen Öls beeinflussen.

## Material und Methoden

Im Jahr 2012 wurde in der Forschungsstation Rauschholzhausen (JLU Gießen) ein Gefäßversuch durchgeführt, in dem der Einfluss des Mikroklimas: 1. innerhalb des Drahthauses und 2. außerhalb des Drahthauses auf die Morphologie der Ölbehälter und die Zusammensetzung des ätherischen Öls der vier *Origanum vulgare* Subspezies (1) *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*, (2) *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) letsvaart, (3) *Origanum vulgare* L. ssp. *viride* und (4) *Origanum vulgare* L. ssp. *viride* x *O. majorana* untersucht wurde. Die Lichtintensität im Drahthaus (gemessen mit Lux-Meter) war um 26 % geringer als außerhalb des Drahthauses. Die Messungen der Drüsen-Trichome erfolgten an einem Rasterelektronenmikroskop (REM). Die Zusammensetzung des ätherischen Öls wurde nach Lösungsmittelextraktion mit Dichlormethan mittels GC-MS analysiert.

## Ergebnisse

Das Ergebnis der Untersuchungen hat gezeigt, dass die analysierten Subspezies unterschiedliche morphologische und chemische Merkmale aufweisen. Die mikroklimatischen Bedingungen hatten einen signifikanten Einfluss auf die Biomasse, die Pflanzenlänge, die Blattfläche sowie auf morphologische Merkmale der Drüsen-Trichome (Durchmesser der Drüsenschuppen und -haare auf der Oberseite der Blätter). Die *Origanum*-Pflanzen, die einer reduzierten Lichtintensität ausgesetzt waren, produzierten eine größere Biomasse, bildeten längere Pflanzen und größere Blattflächen. Demgegenüber wurde beobachtet, dass die Pflanzen mit natürlicher Belichtung (außerhalb des Drahthauses) größere Trichom-Strukturen ausbildeten. So waren die Durchmesser der Drüsenschuppen und der Drüsenhaare außerhalb des Drahthauses vergleichsweise größer.

Die Pflanzen von *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* bildeten im Vergleich mit den anderen Subspezies und gemessen am Durchmesser die größten Drüsenschuppen aus. In abnehmender Reihenfolge folgten *O. vulgare* ssp. *viride* und ssp. *viride* x *O. majorana* sowie der Dost *O. vulgare* ssp. *vulgare*. Weiterhin konnte hinsichtlich der Anzahl der Drüsenhaare pro Fläche eine signifikante Interaktion zwischen den untersuchten Subspezies und dem Mikroklima beobachtet werden.

Im Ergebnis der GC-MS-Analysen mit den Blattextrakten wurden insgesamt 32 Komponenten, bestehend aus Mono- und Sesquiterpenen identifiziert. Darunter befanden sich 18 Komponenten mit einer Konzentration von > 0,05 % (V/M). Zwischen den Subspezies bestanden hinsichtlich der Zusammensetzung des ätherischen Öls signifikante Unterschiede. So wurden in *O. vulgare* ssp. *hirtum* die Leitverbindungen Thymol und Carvacrol detektiert. Demgegenüber waren die Extrakte von *O. vulgare* ssp. *viride* x *O. majorana* und ssp. *vulgare* durch eine größere Anzahl an Verbindungen gekennzeichnet. Eine vergleichsweise geringe chemische Diversität wurde bei *O. vulgare* ssp. *viride* gefunden.

Bezüglich der Gehalte an Sabinen,  $p$ -Cymen und  $\beta$ -Cedren wurde eine Interaktion zwischen den Subspezies und dem Mikroklima festgestellt. So war der Gehalt an Sabinen bei ssp. *vulgare* außerhalb des Drahtkäfigs deutlich erhöht, während bei ssp. *viride*, ssp. *viride* x *majorana* und ssp. *hirtum* keine Einflüsse durch das Mikroklima beobachtet wurden.

## Literatur

- AZIZI, A., HADIAN, J., GHOLAMI, M., FRIEDT, W. und B. HONERMEIER, 2012: Correlations between genetic, morphological, and chemical diversities in a germplasm collection of the medicinal plant *Origanum vulgare* L. Chem. Biodivers. **9**: 2784–2801.
- AZIZI, A., YAN, F. und B. HONERMEIER, 2009: Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. Ind. Crops Prod. **29**: 554–561.
- LUKAS, B., SCHMIDERER, C. und J. NOVAK, 2013: Phytochemical diversity of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* (Lamiaceae) from Austria. Biochem. Syst. Ecol. **50**: 106–113.
- TIBALDI, G., FONTANA, E. und S. NICOLA, 2011: Growing conditions and postharvest management can affect the essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) letsvaart. Ind. Crops Prod. **34** (3): 1516–1522.
- WERKER, E., 1993: Function of essential oil-secreting glandular trichome in aromatic plants of the lamiaceae – A Review. Flavour Frag. J. **8**: 249–255.

## **BSL 7 Einfluss von Umweltbedingungen und Entwicklungsstadium auf Ertragsparameter und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe von Zitronenmelisse (*Melissa officinalis* L.)**

*Influence of environmental factors and development stage on yield parameters and secondary plant metabolites in lemon balm (*Melissa officinalis* L.)*

**Marco Russo, Bernd Honermeier**

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I, Justus-Liebig-Universität Gießen,  
Schubertstr. 81, 35392 Gießen, Deutschland  
marco.russo@agrar.uni-giessen.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.007

### **Zusammenfassung**

Um die Qualität von Arznei- und Gewürzpflanzen langfristig sichern zu können, ist eine genauere Kenntnis der sie beeinflussenden Faktoren von Interesse. Am Beispiel der Zitronenmelisse (*Melissa officinalis* L.) wurden in zwei Feldversuchen an unterschiedlichen Standorten die Einflüsse der Faktoren Lichtintensität, Sorte und Erntezeitpunkt auf Ertragsparameter sowie sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe untersucht. Es konnten teilweise deutliche Effekte der unterschiedlichen Lichtbedingungen auf die Gesamtphenole und die antioxidative Kapazität beobachtet werden, die zum Teil signifikanten Wechselwirkungen zwischen den Prüffaktoren unterlagen.

Stichwörter: Zitronenmelisse, *Melissa officinalis* L., antioxidative Kapazität, Gesamtphenole, Lichtintensität

### **Abstract**

To ensure the quality of spice and medicinal plants, it is important to know more about the quality determining factors. In field experiments at two different locations, the influence of the factors light intensity, cultivar and harvest time on yield parameters and secondary plant metabolites in lemon balm (*Melissa officinalis* L.) was investigated. In some cases, a clear effect of the different light intensities on total phenolic content and antioxidant capacity could be observed. Partially, significant interaction effects between the investigated factors occurred.

Keywords: lemon balm, *Melissa officinalis* L., antioxidant capacity, total phenolic content, light intensity

### **Einleitung**

Die Zitronenmelisse (*Melissa officinalis* L.) ist eine wichtige Arznei- und Gewürzpflanze aus der Familie der Lamiaceae. Durch den Gehalt an ätherischem Öl weist sie einen typischen zitronenartigen Geruch auf, dem sie ihren Namen verdankt. Darüber hinaus enthält sie weitere sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, insbesondere aus dem Spektrum der phenolischen Verbindungen. Als Leitsubstanz gilt hierbei die Rosmarinsäure, für die nach dem Europäischen Arzneibuch ein Mindestgehalt von 1 % in der getrockneten Droge vorgeschrieben ist (Ph. Eur. 7, 2011). Die Beeinflussung der sekundären Inhaltsstoffe ist von Interesse für die Sicherung der Qualität der Zitronenmelisse, wobei für den Anbauer parallel auch die Ertragsparameter von Bedeutung sind. Mittels zweier Feldversuche und eines Gefäßversuches soll der umwelt- und entwicklungsbedingte Einfluss auf Inhaltsstoffe und Ertragsparameter der Zitronenmelisse untersucht werden.

### **Material und Methoden**

Im Jahr 2012 wurden Feld- und Gefäßversuche mit Zitronenmelissepflanzen angelegt. Der Gefäßversuch (Gefäßstation Rauschholzhausen) wurde in Mitscherlich-Gefäßen (Volumen 6 l, Erds substrat) angesetzt. Die Feldversuche (FV) wurden in den Versuchsstationen Rauschholzhausen (RH; Lössboden) und Groß-Gerau (GG; Sandboden) etabliert. Pro Vegetationsperiode wurden zwei Erntezyklen mit jeweils drei Schnittermitteln durchgeführt. In diesem Beitrag wird auf ausgewählte Ergebnisse aus den Feldversuchen 2013 eingegangen.

Untersucht wurde der Einfluss der folgenden Prüffaktoren:

- Licht (natürliche Belichtung vs. Teilbeschattung)
- Sorte (Lemona, NLC, Aufrechter Typ)
- physiologisches Alter (früher, mittlerer und später Schnittermittler)

Vor bzw. bei der Ernte wurden der Chlorophyllgehalt der Blätter, die Pflanzenhöhe, die Anzahl der Triebe pro Pflanze, der Biomasseertrag sowie der Ertrag der reinen Blattdroge ermittelt.

Nach der Ernte wurde das Pflanzenmaterial getrocknet, die Blätter von den Stängeln separiert und extrahiert. In den Extrakten wurden die Gehalte an phenolischen Verbindungen (Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu) und die antioxidative Kapazität (ORAC-Assay) bestimmt. Der Gehalt an ätherischem Öl wurde durch Wasserdampfdestillation ermittelt.

## Ergebnisse

Das Ertragsniveau für die Blattdroge lag beim ersten Aufwuchs am Standort RH bei 2,8-5,0 t TM/ha, beim zweiten Aufwuchs bei 1,2-3,9 t TM/ha. Am Standort GG lagen die Werte etwas niedriger, für den ersten Aufwuchs bei 1,0-3,2 t TM/ha bzw. für den zweiten Aufwuchs bei 0,9-3,4 t TM/ha.

Beim zweiten Aufwuchs im FV RH zeigte sich ein signifikanter Einfluss der Lichtintensität auf den Blattertrag: Unter natürlichen Lichtbedingungen war der mittlere Blattdrogen-Ertrag mit 2,4 t TM/ha rund 45 % höher als in der beschatteten Variante mit rund 1,6 t TM/ha. Dieser Effekt war am Standort GG nicht signifikant, stattdessen war ein signifikanter Sorteneffekt erkennbar, wobei die Sorte "Aufrechter Typ" die höchsten Blatterträge zeigte.

Am Standort RH konnte hingegen die Sorte "Lemona" mit einem mittleren Blattertrag von 3,9 t TM/ha im ersten Aufwuchs signifikant höhere Erträge erbringen als "Aufrechter Typ" (3,5 t TM/ha). Neben genetischen Faktoren scheinen also auch Standortbedingungen, wie beispielweise Klima und Boden, bei der Ertragsbildung eine Rolle zu spielen.

Die antioxidative Kapazität (ORAC-Assay) zeigte am Standort RH beim zweiten Aufwuchs signifikant höhere Ergebnisse unter natürlicher Belichtung, ebenso war ein Sorteneffekt zu beobachten. Im Gegensatz dazu wurden beim ersten Aufwuchs am Standort GG Wechselwirkungen zwischen Erntetermin und Licht, Erntetermin und Sorte sowie Sorte und Licht beobachtet, was auf eine spezifische Reaktion der geprüften Sorten auf die Prüffaktoren Schnittermittler und Beschattung schließen lässt. Beim zweiten Aufwuchs am gleichen Standort konnten diese nicht beobachtet werden. Es zeigten sich signifikant niedrigere Werte bei der Sorte "NLC" gegenüber "Aufrechter Typ", außerdem war ein Lichteffekt mit signifikant niedrigeren Werten in der beschatteten Variante zu beobachten. Bezüglich der antioxidativen Kapazität zeigte sich also eine indifferente Wirkung des Faktors Licht an den beiden Standorten.

Der Gehalt an Gesamtphenolen (Folin-Ciocalteu-Assay) unterlag nur beim zweiten Aufwuchs am Standort RH einem Interaktionseffekt zwischen den Faktoren Sorte und Licht. In GG war ein Sorteneffekt erkennbar, wobei die Sorte "NLC" sich in beiden Erntezyklen durch hohe Werte auszeichnete. Bezüglich des Faktors Schnittermittler wurde lediglich beim ersten Aufwuchs am Standort GG ein signifikanter Effekt beobachtet, wobei die höchsten Werte beim ersten Schnittermittler gemessen werden konnten.

Im Jahr 2013 zeigten sich teils eindeutige, teils indifferente Ergebnisse. Dieses Jahr war das erste Hauptertragsjahr nach einem strengen Winter, der zu teilweise deutlichen Auswinterungsschäden unter den Melisse-Pflanzen führte. Diese außergewöhnliche Situation könnte die Ergebnisse beeinflusst haben. Weitere Messungen der oben beschriebenen Parameter werden im Jahr 2014 durchgeführt.

## Literatur

PH. EUR. 7. (2011): Monographie Melissenblätter. In: Europäisches Arzneibuch. Stuttgart: *Deutscher Apotheker Verlag*, S. 1799-1800.

## **BSL 8 Ergebnisse einer begleitenden Forschung für den Salbeianbau in der Bombastus-Werke AG Freital**

*Results of an accompanying research for sage cultivation of the Bombastus-Werke AG Freital*

**Christoph Grunert**

Bombastus-Werke AG, Wilsdruffer-Str. 170, 01705 Freital, Deutschland, info@bombastus-werke.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.008

### **Zusammenfassung**

Mit der Gründung der Bombastus-Werke im Jahre 1904 entstand in Sachsen ein Betrieb zur Herstellung von Naturheilmitteln auf der Grundlage der pharmazeutisch bedeutsamen Inhaltsstoffe der Echten Salbei (*Salvia officinalis* L.). Zu Beginn verarbeiteten die Bombastus-Werke die Drogen der Blätter und Blüten der Salbei, die in Großdrogenhäusern erhältlich waren. Im Jahre 1914 begann ein eigener Salbeianbau. Auf dieser Grundlage entwickelten sich die Bombastus-Werke zum einzigen pharmazeutischen Betrieb weltweit, der die Blätter der Triebspitzen, die Blüten und die Wurzeln der Salbei verarbeitet.

Die Eröffnung der Marktwirtschaft im Osten Deutschlands im Jahre 1990 stellte neue Anforderungen an die Gestaltung des Salbeianbaues. Die Bombastus-Werke AG (Aktiengesellschaft seit 1999) entschloß sich deshalb, den Anbau nach den in der EU allgemein gültigen Grundsätzen des Kontrollierten Integrierten Anbaues von Kulturpflanzen durchzuführen.

Das spezielle System einer mechanisierten Ernte von Triebspitzen zur Erzeugung von Arzneitee in Verbindung mit der Ernte der Blütenstängel erforderte unter den Anbaubedingungen in Freital die Erarbeitung von wissenschaftlichen Grundlagen. Ein solches Projekt war nur im Rahmen einer eigenen begleitenden Forschung zu realisieren. Der erste Schwerpunkt war dabei die Verbesserung der Standortbedingungen, da frühere Forschungen der TU Dresden und der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft bereits auf Verfestigungen der Bodenstruktur und damit auf die Einengung des Lebensraumes der Lumbriciden hingewiesen hatten. Durch eine Eindeckung mit Strohmulch zwischen den Salbeireihen konnte innerhalb kurzer Zeit die Bodendynamik verbessert und eine Aktivierung der Regenwurmtätigkeit nachgewiesen werden. Unterstützt wurde diese Maßnahme durch einen Fruchtwechsel mit einer mehrjährigen Luzerne-Grasmischung.

Ein weiterer Schwerpunkt war der Aufbau einer neuen Technologie des ersten Anbaujahres der Salbei: Saatbettbereitung mit der Umkehrfräse, Einzelkornaussaat mit einem Ablageabstand von 10 cm, Saatgutbehandlung zur Brechung der Dormanz, Anwendung der Herbizide Bandur (Aclonifen) VA und Basagran (Bentazon) NA nach Pflanzenschutzgesetz §18b. In Verbindung mit der Aussaat einer ersten generativen Auslese der Freitaler Salbeierkunft war es möglich, im Ansaatjahr bis zum Herbst einen kräftigen und ausgeglichenen Salbeibestand zu erzielen.

Erforderlich waren auch Untersuchungen zum Ertragspotential der Salbei, um auf diesen Ergebnissen eine gezielte Minereraldüngung aufbauen zu können. Seit dem Jahre 2010 erfolgen dazu in Parzellen die Ertragsermittlungen an Gesamtpflanzen, getrennt nach Triebspitzen und Restpflanzen. Die dazu erforderlichen Erntearbeiten lassen sich technisch sehr gut mit dem SuperCut durchführen. Im Mittel von 26 Messungen betrug das Ergebnis 62,2 dt/ha Triebspitzen-Frischmasse und 57,7 dt/ha Restpflanzenmasse. Die Felderträge von 2010 bis 2013 (80 Chargen) bestätigen diese Ergebnisse: Triebspitzen-Frischmasse 63,4 dt/ha, Triebspitzen-Teeware 12,4 dt/ha (Eintrocknungsverhältnis 1:5,1), Ätherisches Öl 1,73 %. Die Mittelwerte der Nährstoffentzüge der Gesamtpflanzen betragen 58,8 kg/ha N, 8,39 kg/ha P und 88,7 kg/ha K.

Mit dem Nachweis von pilzlichen Schaderregern in den Salbeibeständen – im Jahre 2009 der Falsche Mehltau (*Peronospora salviae-officinalis*) und im Jahre 2010 die Stängelfäule (*Phoma exigua* var. *exigua*) – traten neue Aufgaben in den Mittelpunkt. Durch gemeinsame Feldversuche mit der Sächsischen Landesanstalt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie war es möglich, nach Pflanzenschutzgesetz §18b die Genehmigung für die Anwendung von Aliette (Fosetyl-Al) gegen den Falschen Mehltau zu erhalten. Damit konnte in Folgebehandlungen mit Ortiva (Azoxystrobin) der Befall auf den unteren Bereich der Salbeipflanzen zurückgedrängt werden. Gegen die Stängelfäule steht gegenwärtig nur das Fungizid Signum (Pyraclostrobin + Boscalid) zur Verfügung. Deshalb ist es erforderlich, auch über Maßnahmen der Bestandesführung mit Rückschnitten im Herbst und im Frühjahr die Durchlüftung der Bestände zu fördern und damit die Entwicklung der Stängelfäule zu hemmen.

Jedes Jahr werden aus der geernteten Teeware Stichproben entnommen und auf Rückstände der Wirkstoffe aus Pflanzenschutzmitteln untersucht. Bis auf Ausnahmen, die aber weit unter den Grenzwerten liegen, waren keine Rückstandswerte mehr nachzuweisen.

Im Jahre 2009 wurde bei der Freitaler Salbeiherkunft mit einer Auslese nach dem Phänotyp begonnen, da eine zunehmende Heterogenität der Pflanzenbestände die maschinelle Ernte der Triebspitzen mit einer Länge von 12 bis 15 cm erschwerte. Es erfolgten weitere Selektionen auch nach den pharmakologisch bedeutsamen Inhaltsstoffen, besonders einen Gehalt von <30 % Thujon und die anschließende vegetative Vermehrung der Mutterpflanzen *in Vitro*. In der Folgegeneration I<sub>1</sub> konnten die Inhalte der Merkmale Ätherisches Öl, Thujon und Rosmarinsäure der Mutterpflanzen bestätigt werden. Im Jahre 2014 kam das erste Saatgut zur Aussaat.

Die Ernte der Blütenstängel und Triebspitzen erfolgt mit einem umgerüsteten Schwadmäher. Die Blütenstängel werden sofort weiterverarbeitet, um Rosmarinsäureverluste zu vermeiden. Die Trocknung der Triebspitzen erfolgt auf einer weiterentwickelten Bandtrocknungsanlage, die in Verbindung mit der nachfolgenden Rebelung eine Trocknungsleistung von 16 t Teedroge je Saison besitzt. Das Trocknungsregime beginnt bei 25 °C und endet bei 35 °C. Von jeder Charge wird während der Rebelung eine Durchschnittsprobe entnommen, die anschließend im Bereich Qualitätskontrolle der Bombastus-Werke AG auf eigens festgelegte und behördlich genehmigte 26 Reinheits- und Qualitätsparameter untersucht wird.

Das Marktpotential der Bombastus-Werke AG umfasst aus der Salbeiproduktion gegenwärtig 16 Produkte: diverse Salbeidrogen (4), kosmetische Produkte (3), Salben, Öle (4), Blütenauszüge (4) und Wurzelauszüge (1).

Stichwörter: Salbei, Erträge, Pathogene, Züchtung, Ernte, Trocknung

## Literatur

- Hempel, W. et al., 2000: Botanische und zoologische Begleitforschung zu den Projekten „Nachwachsende Rohstoffe (Flachs und Hanf)“ und „Heil- und Gewürzpflanzen als Botanicals (Salbei und Kamille) – TU Dresden, Institut für Botanik, MLU Halle, Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, 355 S.
- Zöphel, B., Kreuter, T., Mänicke, S. und J. Schulz, 2001: Nachwachsende Rohstoffe (Hanf, Flachs, Salbei und Kamille) – Anbau und Bedeutung für den Lebensraum Acker. Sächsisches Landesamt für Umwelt und Geologie, Sächsisches Landesamt für Landwirtschaft, 64 S.
- Röhricht, C., Gabler, J. und C. Grunert, 2013: Salbei (*Salvia officinalis* L.). Handbuch des Arznei- und Gwürzpflanzenanbaues, Band 5, Arznei- und Gewürzpflanzen L–Z, 404–427.

---

## Themenkreis C: Phytopathologie und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe

---

### **CPL 9 Molekularbiologische Diagnostik von Pflanzenkrankheiten**

*Molecular diagnosis of plant diseases*

**Sabine Grausgruber-Gröger, Richard A. Gottsberger, Thomas Leichtfried, Helga Reisenzein**

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES),  
Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien, Österreich  
sabine.grausgruber-groeger@ages.at



DOI 10.5073/jka.2014.446.009

#### **Zusammenfassung**

In der Abteilung für Molekularbiologische Diagnose von Pflanzenkrankheiten der AGES werden molekularbiologische Diagnoseverfahren eingesetzt um gesetzliche Kontroll- und Vollzugsaufgaben zu erfüllen, aber auch um Untersuchungen auf pflanzliche Schaderreger für private Kunden durchzuführen. Verwendet werden unterschiedliche PCR Techniken um Phytoplasmen, Bakterien, Pilze, Viren, Viroide, Insekten und Nematoden zu diagnostizieren. Die Vorteile der PCR Techniken werden dargestellt.

Stichwörter: PCR, RT-PCR, qPCR, RT-qPCR, DNA-Barcoding

#### **Abstract**

The Department for Molecular Diagnostics of Plant Diseases of the Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES) uses molecular diagnostic tools to support control and execution tasks regulated by law, and to test private plant samples for plant pathogens. Different PCR techniques are used to investigate for phytoplasma, bacteria, fungi, virus, viroids, insects and nematods. The advantages of molecular tools are summarized.

Keywords: PCR, RT-PCR, qPCR, RT-qPCR, DNA-barcoding

#### **Inhalt**

In der Abteilung für Molekularbiologische Diagnose von Pflanzenkrankheiten der AGES werden molekularbiologische Diagnoseverfahren gemäß den Anforderungen internationaler Standards eingesetzt, um das österreichische Saatgutgesetz, das Pflanzgutgesetz, das Pflanzenschutzgesetz, sowie einschlägige europäische und internationale Regelungen umzusetzen. Um die gesetzlichen Kontroll- und Vollzugsaufgaben zu erfüllen werden Untersuchungen im Rahmen von nationalen und internationalen Monitoringprogrammen, der Ein-, Aus- und Durchfuhr von Pflanzen und Pflanzenerzeugnissen, ihrem Verbringen, sowie bei der Produktion und im Handel durchgeführt. Die Einrichtungen unseres Diagnoselabors stehen aber auch für private Kunden (Landwirte, Gärtner, Privatpersonen, Vereine etc.) zur Verfügung. Darüber hinaus beteiligt sich unsere Abteilung an wissenschaftlichen Forschungsprojekten und internationalen Ringtests.

Zahlreiche molekularbiologische Nachweise wurden in den letzten Jahren etabliert um phytopathogene Schadorganismen detektieren zu können. Für Phytoplasmen, Viren und Viroide werden molekulare Methoden als alleinige Untersuchungsmethode verwendet. Bei Bakterien, Pilzen, Insekten und Nematoden werden molekularbiologische Nachweise als alleinige, als auch zur Bestätigung von anderen Diagnosemethoden (z.B. morphologische, mikroskopische, mikrobiologische und serologische Methoden) eingesetzt. Verwendet werden Primer und Arbeitsvorschriften nach internationalen (IPPC) und europäischen (EPPO) Vorschriften, beispielsweise bei vielen Quarantäneschadorganismen, aber auch bereits publizierte oder selbst entwickelte Assays.

Die konventionelle PCR (polymerase chain reaction) unter Verwendung von genspezifischen Primern wird routinemäßig für den Nachweis einer Vielzahl von Pflanzenpathogenen eingesetzt. Der Einsatz von generischen Primern, die nachfolgende Sequenzierung der Amplifikationsprodukte und der Vergleich der Sequenz mit bereits bekannten Sequenzen (DNA barcoding) wird

zur Detektion, Bestimmung bzw. Bestätigung einzelner Quarantäneschädlinge verwendet, besonders dann wenn keine spezifischen Primer zur Verfügung stehen. Generische Primer werden auch eingesetzt, wenn im Zuge der Bestimmung eines Schaderregers zunächst einmal auf eine Gattung oder eine Art eingegrenzt werden soll, wie z. B. bei der Bestimmung von Viren.

Die meisten pflanzenpathogenen Viren sind einzelsträngige RNA-Viren, und auch Viroide bestehen aus einem ringförmigen RNA Molekül. Eine PCR Reaktion ist jedoch nur mit der DNA, nicht aber mit der RNA möglich. Daher wird die Reverse Transkriptase Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR), bei der vor der PCR die RNA in cDNA (komplementäre DNA) umgeschrieben wird, routinemäßig für den Viren- und Viroidnachweis verwendet.

Die Etablierung der real-time PCR (qPCR und RT-qPCR) hat es ermöglicht, die Nachweise zahlreicher Schadorganismen nicht nur schneller, sondern auch mit höherer Sensitivität und Spezifität durchzuführen.

Es gibt zahlreiche Vorteile molekularbiologischer gegenüber anderer Nachweismethoden. Die Sensitivität der PCR und insbesondere der real-time PCR ist weitaus höher, als bei serologischen Methoden (z. B. ELISA). Eine hohe Sensitivität ist besonders wichtig, wenn der Schaderregers in sehr niedriger Konzentration vorkommt, wie das beispielsweise bei Saatgutuntersuchungen der Fall sein kann, oder auch teilweise in verholztem pflanzlichen Gewebe. Ein weiterer Vorteil ist die Schnelligkeit, beispielsweise im Vergleich zu Bioassays oder manchen morphologischen Untersuchungen, die oft nur in bestimmten Entwicklungsstadien eines Schaderregers (z. B. Insekten) möglich sind.

Stehen spezifische Primer zur Detektion eines Pathogens zur Verfügung, kann der Erreger direkt in der Pflanze nachgewiesen werden, und muss nicht vorher isoliert werden. Die Spezifität eines Nachweises mit spezifischen Primern und Sonden bei Verwendung von qPCR ist außerdem sehr hoch, was besonders wichtig ist, wenn beispielsweise ein Quarantäneschaderreger von einem nahe verwandten Erreger unterschieden werden muss.

Ein großer Vorteil der PCR ist auch, dass diese Technik sehr universell einsetzbar ist, d.h. für viele Nachweise unterschiedlicher Schaderreger die gleichen Arbeitsvorschriften, nur unter Austausch der jeweiligen Primer, verwendet werden können. Außerdem kann eine PCR meist in allen Entwicklungsstadien eines Erregers (z. B. bei Insekten, Nematoden) vorgenommen werden.

## Literatur

- GOSCH, C., GOTTSBERGER, R.A., STICH, K. und T.C. FISCHER, 2012: Blue <sup>6a</sup>LAMP – a specific and sensitive method for visual detection of genomic *Erwinia amylovora* DNA. *European Journal of Plant Pathology* **134**: 835-845.
- GOTTSBERGER, R.A., 2010: Development and evaluation of a real-time PCR assay targeting chromosomal DNA of *Erwinia amylovora*. *Letters of Applied Microbiology* **51**: 285-292.
- GOTTSBERGER, R.A. und A. PLENK, 2009: First report of *Xanthomonas axonopodis* pv. *poinsettiicola*, the bacterial leaf spot pathogen on *Euphorbia pulcherrima* in Austria. *Plant Pathology* **58**, 795.
- GOTTSBERGER, R.A. und B. SUÁREZ-MAHECHA, 2010: Detection of Citrus exocortis viroid on *Solanum jasminoides* plantlets from an Austrian nursery. *Plant Pathology* **59**: 1159.
- GRAUSGRUBER-GRÖGER, S., 2012: First report of Impatiens necrotic spot virus on *Ocimum basilicum*, *Eruca sativa* and *Anthriscus cerefolium* in Austria. *New Disease Reports* **26**: 12.
- GRAUSGRUBER-GRÖGER, S. und R.A. GOTTSBERGER, 2011: First report of Tomato apical stunt viroid and Chrysanthemum stunt viroid in *Solanum jasminoides* in Austria. *New Disease Reports* **24**: 4.
- LEICHTFRIED, T., 2013: Wheat streak mosaic virus (WSMV) erstmals in Österreich nachgewiesen: Das Strichelmosaik des Weizens als neues Anbaurisiko? *Der Pflanzenarzt* **66**: 4-5.
- NIELSEN, S. L., A. ENKEGAARD, M. NICOLAISEN, P. KRYDER, M. VIRŠEK MARN, I. MAVIĆ PLEŠKO, A. KAHRER und R.A. GOTTSBERGER, 2012: No transmission of Potato spindle tuber viroid shown in experiments with thrips (*Frankliniella occidentalis*, *Thrips tabaci*), honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus terrestris*). *European Journal of Plant Pathology* **133**: 505-509.
- PERSEN, U., R.A. GOTTSBERGER und H. REISENZEIN, 2011: Spread of *Erwinia amylovora* in Apple and Pear Trees of Different Cultivars after Artificial Inoculation. *Acta Horticulturae (ISHS)* **896**: 319-330.
- REISENZEIN, H. und R. STEFFEK, 2011: First Outbreaks of Grapevine Flavescence Dorée in Austrian Viticulture. *Bulletin of Insectology* **64** (Supplement): 223-224.

## **CSL 10 Auftreten von Falschem Mehltau bei Gartenkresse (*Lepidium sativum* L.) in der Saatgutvermehrung – Evaluierung von Saatgutbehandlung und Wachstumsbedingungen in einem Gefäßversuch**

*Appearance of Downy Mildew in seed propagation of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.) – Evaluation of Seed Treatment and Growth Conditions in pot experiment*

**Stefanie Zeller, Bernd Honermeier**

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I, Schubertstr 81, 35392 Gießen, Deutschland  
Stefanie.Zeller@agr.uni-giessen.de

DOI 10.5073/jka.2014.446.010



### **Zusammenfassung**

Die zur Familie der Brassicaceae gehörende Gartenkresse wird in Deutschland überwiegend im biologischen Anbau vermehrt. Seit einigen Jahren werden diese Gartenkressebestände von Erregern des Falschen Mehltaus (*Hyaloperonospora parasitica*, *Perofascia lepidii*) befallen, was zu einem Totalausfall des Pflanzenbestandes führen kann. Daher ist die biologische Saatgutproduktion von Gartenkresse gefährdet, was eine Beeinträchtigung der Saatgutversorgung für die Keimsprossenerzeugung zur Folge hat. In den laufenden Untersuchungen wird der Einfluss von nicht chemischen Saatgutbehandlungsmaßnahmen (Wasserdampf, Elektronen), sowie Wachstumsbedingungen (Feuchte, Boden) auf die Infektion mit Falschem Mehltau untersucht.

Stichwörter: Falscher Mehltau, *Lepidium sativum* L., Saatgutvermehrung

### **Abstract**

The seed propagation of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.) is in Germany mainly done in organic farming. Since several years there is a high incidence of Downy Mildew (*Hyaloperonospora parasitica*, *Perofascia lepidii*) in the organic seed propagation of Garden Cress. The disease infestation with Downy Mildew can lead to complete failure of seed harvest. Therefore organic seed propagation of Garden Cress is highly at risk. The ongoing investigations evaluate the influence of Seed Treatment (Water steam, Electron beam) and Growth Conditions (Moisture, Soil) on the infestation with Downy Mildew.

Keywords: Downy Mildew, *Lepidium sativum* L., Seed Propagation

### **Einleitung**

Die Keimsprossen der Gartenkresse (*Lepidium sativum* L.) werden aufgrund ihres charakteristischen Geschmacks, hervorgerufen durch Spaltprodukte der Glukosinolate (z. B. Benzyl-Isothiocyanat), nachgefragt (TUNCAY et al., 2011). Zur Sicherung der Saatgutbereitstellung für die Bio-Sprossenproduktion muss das Kresse-Saatgut in Betrieben des ökologischen Landbaus vermehrt werden. Seit einigen Jahren werden die zur Vermehrung dienenden Kressebestände von Falschem Mehltau (*Hyaloperonospora parasitica*, *Perofascia lepidii*) und Weißem Rost (*Albugo lepidii*) befallen. Dieser Befall kann zu einem Totalausfall der Pflanzenbestände führen (MAROLD, 2011). Daher wird der Einfluss nicht-chemischer Saatgutbehandlungen sowie unterschiedlicher Wachstums-Bedingungen auf die Infektion mit Falschem Mehltau evaluiert.

### **Material und Methoden**

In den Jahren 2012 und 2013 wurde ein zweifaktorieller Gefäßversuch (Volumen 6L) mit den Prüffaktoren Saatgutbehandlung und Wachstumsbedingungen durchgeführt. Der Prüffaktor Saatgutbehandlung beinhaltet die Prüfstufen: unbehandelte Kontrolle, Wasserdampfbehandlung bei 65 °C, Wasserdampfbehandlung bei 68 °C, Elektronenbehandlung 1 (11,9 kW/m) und Elektronenbehandlung 2 (17,9 kW/m). Der Prüffaktor Wachstumsbedingungen beinhaltet die Prüfstufen: Freilandbedingungen (normal), Pflanzenoberfläche künstlich trocken, Pflanzenoberfläche periodisch feucht bis Schossbeginn, Pflanzenoberfläche periodisch feucht ab Schossbeginn und „Boden kontaminiert“ (Verwendung eines Bodens auf dem im Vorjahr mit Falschem

Mehltau infizierte Kresse kultiviert wurde). Als Prüfmerkmale wurden Daten zur Infektion mit Falschem Mehltau während des Entwicklungsverlaufes der Gartenkresse sowie Pflanzenlängen, Kornertrag und Ertragsstruktur der Kressepflanzen erhoben.

### **Ergebnisse und Diskussion**

In beiden Jahren wurde die Erstinfektion mit dem Erreger des Falschen Mehltaus (*Hyaloperonospora parasitica*, *Perofascia lepidii*) zu Beginn des Knospenstadiums der Kressepflanzen beobachtet. In den nachfolgenden Wochen erfolgte eine kontinuierliche Zunahme des Befalls, die am Blatt- und Stängel-Myzel sowie an den Verkrüppelungen der Pflanzen zu erkennen war. Darüber hinaus wurde eine horizontale Verbreitung des Falschen Mehltaus über den Pflanzenbestand des gesamten Versuches beobachtet.

Die unterschiedlichen Wachstumsbedingungen (Befeuchtung der Pflanzen, kontaminierter bzw. nicht-kontaminierter Boden) hatten in beiden Jahren einen signifikanten Einfluss auf die Infektion und auf die Ausbreitung des Falschen Mehltaus. So führte die Variante „trockene Pflanzenoberfläche“ zu einer deutlichen Befalls-Reduktion und zu einer höheren Saatgutproduktion der Pflanzen. Das Befeuchten der Pflanzenoberfläche verstärkte dagegen die Ausbreitung des Falschen Mehltaus und führte zu deutlichen Mindererträgen. Die Befeuchtung führte im Jahr 2013 in den früh feucht gehaltenen Varianten und im Jahr 2012 in den spät feucht gehaltenen Varianten zu einem höheren Befall. Die Variante „Boden kontaminiert“ führte in beiden Jahren zu den stärksten Symptomen der Mehltau-Infektion und zu drastischen Ertragsausfällen. Im Jahr 2012 sind die Pflanzen dieser Variante komplett abgestorben, sodass hier keine Saatguternte vorgenommen werden konnte. Zudem wiesen die Pflanzen der Variante „Boden kontaminiert“ Wuchsdepressionen auf, die über die Messung der Pflanzenlängen festgehalten wurden.

Keine der Saatgutbehandlungen konnte die Infektion mit Falschem Mehltau verhindern. Des Weiteren hatte die Saatgutbehandlung im Versuchsjahr 2013 keinen Effekt auf die Korn-Erträge pro Gefäß. Im Jahr 2012 zeigten sich Interaktionseffekte zwischen Saatgutbehandlung und Wachstumsbedingungen.

Die Ergebnisse bringen zum Ausdruck, dass eine lange Periode der Blattfeuchte das Auftreten und die Verbreitung des Falschen Mehltaus in starkem Maße fördert. Dieses Ergebnis lässt auf einen starken Einfluss des Mikroklimas auf die Ausbreitung der Erreger des Falschen Mehltaus in der Gartenkresse schließen. Aufgrund der durchgeführten Untersuchungen können als Maßnahmen zur Reduktion des Falschen Mehltaus die Auswahl geeigneter Vorfrüchte (keine Brassicaceae), eine effektive Boden- und Feldhygiene, die Vermeidung der mechanischen Ausbreitung im Bestand, sowie die Realisierung einer geringen Pflanzendichte (gute Luftzirkulation ermöglichen) in Betracht gezogen werden.

### **Danksagung**

Das Projekt wird gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundetages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft. (FKZ: 2810OE115)

### **Literatur**

- MAROLD, R. 2011: Erfahrungen und Probleme mit dem ökologischen Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen. Z Arznei – Gewürzpfla **16** (3): 138-140.
- Tuncay, Ö., EŞİYOK, D., YAĞMUR, B. und B. OKUR, 2011: Yield and quality of garden cress affected by different nitrogen sources and growing period. Afr. J.Agric. Res. **6** (3): 608-617.

## CSL 11 Einfluss von abiotischen Faktoren auf Wuchs und Scopolamin-Biosynthese in *Duboisia myoporoides*.

*Influence of abiotic factors on growth and biosynthesis of scopolamine in Duboisia myoporoides.*

Sophie Friederike Ullrich<sup>1,2\*</sup>, Oliver Kayser<sup>2</sup>, Hansjörg Hagels<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Binger Straße 173, 55216 Ingelheim, Deutschland

sophie\_friederike.ullrich@boehringer-ingelheim.com

<sup>2</sup>Technische Universität Dortmund, Emil-Figge-Str. 66, 44227 Dortmund, Deutschland



DOI 10.5073/jka.2014.446.011

### Zusammenfassung

*Duboisia* ist eine in Australien beheimatete Pflanze aus der Familie der Nachtschattengewächse, die Tropanalkaloide als sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe enthält, deren quantitativ und ökonomisch bedeutsamstes Scopolamin ist.

Um neue Erkenntnisse hinsichtlich des Einflusses abiotischer Faktoren auf Wuchs und Scopolamin-Biosynthese zu gewinnen, wurden Pflanzen der Art *Duboisia myoporoides* in Hydrokultur in Klimakammern unter streng kontrollierten Bedingungen angebaut (kalibrierte Einstellungen für Beleuchtungsdauer, Lichtintensität und Temperatur). Wichtige Messgrößen stellten dabei Biomasse und Alkaloidgehalt dar, letzterer gemessen mittels UHPLC und LC-MS.

Stichwörter: *Duboisia*, LC-MS, Scopolamin, Tropanalkaloide

### Abstract

*Duboisia*, a native Australian plant belonging to the family of *Solanaceae*, contains tropane alkaloids as secondary plant components, thereof quantitatively as well as economically most important scopolamine.

In order to obtain new findings regarding the effect of abiotic factors on biomass and biosynthesis of scopolamine, plants of the species *Duboisia myoporoides* were grown in climate chambers using hydroponics under strictly controlled conditions (calibrated settings regarding lighting period, light intensity and temperature). Essential measurement variables were biomass and alkaloid content, the latter analyzed via UHPLC and LC-MS.

Keywords: *Duboisia*, LC-MS, scopolamine, tropane alkaloids

### Einleitung

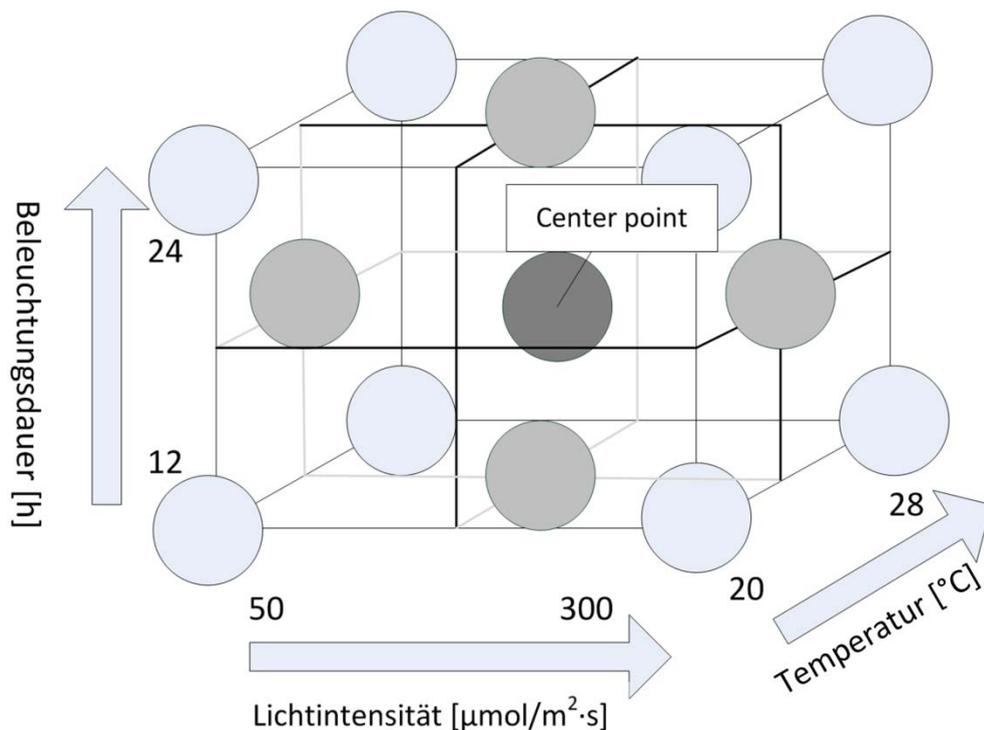
Scopolamin, ein sekundärer Pflanzeninhaltsstoff der in Australien beheimateten Pflanzengattung *Duboisia*, wird aufgrund seiner anticholinergen Eigenschaften in der pharmazeutischen Industrie als Ausgangsstoff für verschiedene Wirkstoffe eingesetzt. Bis heute ist die chemische Vollsynthese dieses Tropanalkaloids teurer als die direkte Extraktion aus Pflanzenmaterial. Auch durch die Überexprimierung biosynthetischer Gene des Tropanalkaloid-Stoffwechsels konnte keine Erhöhung des Alkaloidgehalts in regenerierten Pflanzen erreicht werden (Hashimoto und Yamada, 2003; Palazón et al., 2003). Deshalb basiert die industrielle Produktion von Scopolamin zu großen Teilen auf dem landwirtschaftlichen Anbau von *Duboisia* im Freiland (Gryniewicz und Gadzikowska, 2008).

Um hierbei den Einfluss abiotischer Faktoren auf Wuchs und Scopolamin-Biosynthese genauer zu untersuchen, wurden im Rahmen dieser Arbeit Pflanzen der Art *Duboisia myoporoides* unter streng kontrollierten Bedingungen angebaut. Hierbei lag der Fokus auf Beleuchtungsdauer, Lichtintensität und Temperatur.

## Material und Methoden

### Kultivierung

Pflanzen der Art *Duboisia myoporoides* (gestellt durch Boehringer Ingelheim GmbH und Co. KG) wurden unter festgelegten Bedingungen (siehe Abb. 1) in Klimakammern in Hydrokultur über einen Zeitraum von sechs Wochen angebaut (PlantMaster, Brightboys, CLF Plant Climatics GmbH). Die bewurzelten Stecklinge wurden in Blähton getopft und mit 0,1 %-tiger Nährlösung versorgt (Wuxal Super, Wilhelm Haug GmbH & Co. KG). Zur Beleuchtung wurden Philips Master TL-D 58W/840 (4000K)-Lampen eingesetzt.



**Abb. 1** Experimentelles Design für die Kultivierungsparameter Licht und Temperatur

**Fig. 1** Experimental design of the cultivation parameters light and temperature

### Extraktion:

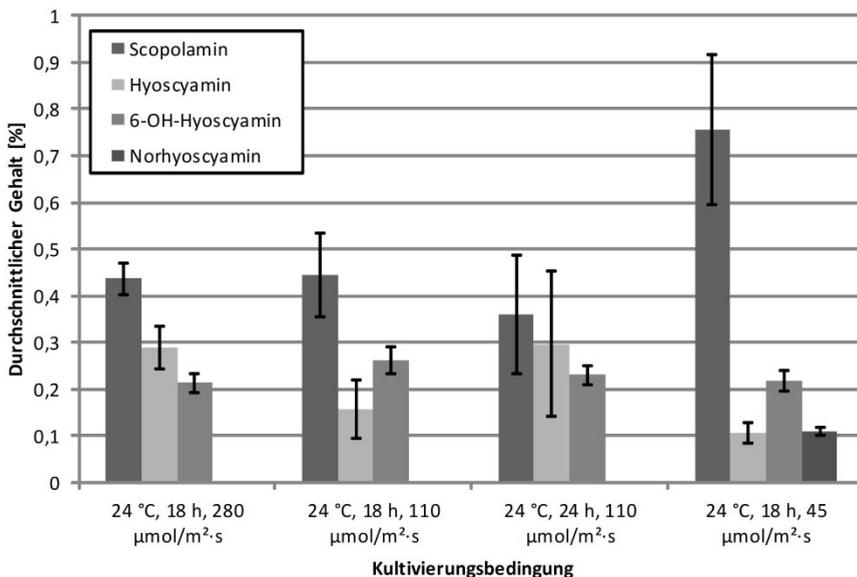
Zum Abschluss des Experiments wurden alle Blätter entnommen und Frisch- und Trockengewicht nach 24-stündiger Trocknung bei  $60^{\circ}\text{C}$  bestimmt. Alle getrockneten und anschließend gemahlene Proben wurden dreifach extrahiert, um den Alkaloidgehalt zu bestimmen.  $50\text{ mg} \pm 1\text{ mg}$  wurden in einen 15 ml Falcon-Tube eingewogen und anschließend  $10\text{ ml}$  Phosphorsäure  $0,5\%$  V/V zugegeben. Nach 15-minütigem Ultraschallbad bei  $30^{\circ}\text{C}$  (Sonorex Super 10P Digital, Bandelin electronic GmbH & Co. KG), wurden die Proben  $18\text{ h}$  bei  $200\text{ rpm}$  geschüttelt (Infors Ht-shaker, Orbitron) und anschließend  $1\text{ ml}$  Probe entnommen und ins Vial filtriert.

### HPLC-Messung

Zur Analyse wurde eine HPLC-Anlage (1200 series-Entgaser, 1260 Infinity-Pumpe, 1200 series-HiP-ALS SL+-Autosampler, 1260 Infinity TCC-Säulenofen, 1260 Infinity 1260-VWD-Detektor) von Agilent Technologies genutzt. Als Säule kam eine Kinetex Core Shell C18-Säule (100 x 4,6 mm, 2,7 µm) von Phenomenex zum Einsatz und eine Gradientenmethode (12 min Dauer) mit zwei verschiedenen mobilen Phasen für die Messung verwendet. Mobile Phase A bestand aus 0,1 % Trifluoressigsäure V/V und mobile Phase B aus einer Mischung von Methanol und Acetonitril im Verhältnis 4:1. Das Injektionsvolumen betrug 1 µl, die Säulentemperatur 30 °C und die Flussrate lag bei 1.05 ml/min. Die Detektion von Scopolamin, Hyoscyamin und anderen Nebenalkaloiden wurde bei einer Wellenlänge von 210 nm durchgeführt.

## Ergebnisse

Der Schwerpunkt bei den im Folgenden dargestellten Ergebnissen wurde auf den Einfluss unterschiedlicher Lichtintensität auf Alkaloidgehalt und Biomasse gelegt. Hierzu wurden erste, bereits getestete Kultivierungsbedingungen aus dem oben gezeigten Design herausgegriffen (siehe Abb. 1). Beim Vergleich unterschiedlicher Lichtintensitäten unter konstant gehaltener Temperatur zeigt sich, dass der höchste Scopolamingehalt bei geringster Lichtstärke auftritt (siehe Abb. 2). Die Nebenalkaloide liegen in ähnlicher Konzentration vor, während der relative Gehalt an Scopolamin bei niedriger Lichtintensität signifikant ( $p < 0,05$ ) erhöht ist.

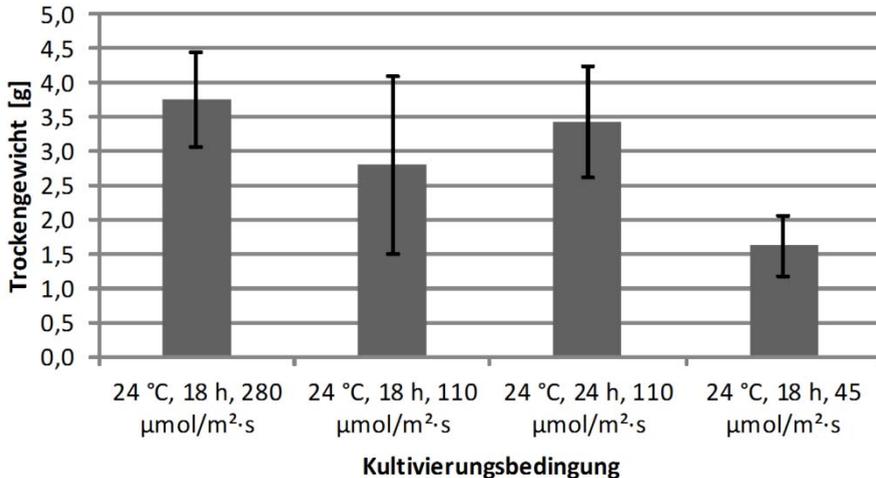


**Abb. 2** Durchschnittlicher Alkaloidgehalt von *Duboisia myoporoides* bei unterschiedlicher Lichtintensität nach sechswöchiger Kultivierung, 4 Replikate pro Kultivierungsbedingung (Temperatur [°C], Beleuchtungsdauer/Tag [h], Lichtintensität [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ])

**Fig. 2** Average alkaloid content of *Duboisia myoporoides* with focus on different settings of light intensity after 6 weeks of cultivation, 4 replicates per cultivation condition (temperature [°C], daily exposure to light [h], light intensity [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ])

Bei geringer Lichtexposition von 45  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  ist die durchschnittliche Biomasse (Trockengewicht) nach sechswöchiger Kultivierung am niedrigsten, was vermutlich durch eine verringerte Photosyntheserate zustande kommt (siehe Abb. 3). Betrachtet man die Biomasse bei mittlerer und höherer Beleuchtungsintensität (110 und 280  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ), zeigen sich im Durchschnitt vergleichbare Trockengewichte. Eine Erhöhung der Lichtmenge von 110 auf 280

$\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  führt hier zu keinem weiteren Anstieg der Biomasse. Auch die Veränderung der Beleuchtungsdauer von 18 h auf 24 h täglich bei einer Lichtintensität von  $110 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  resultiert in keinem erkennbaren Unterschied hinsichtlich Biomasse und Alkaloidgehalt. Analoge Resultate ließen sich auch in parallel durchgeführten Versuchen mit *Duboisia* Hybriden (*Duboisia myoporoides* x *D. leichhardtii*) unter den gleichen Kultivierungsbedingungen feststellen.



**Abb. 3** Durchschnittliche Biomasse bei unterschiedlicher Lichtintensität nach sechswöchiger Kultivierung, 4 Replikate pro Kultivierungsbedingung (Temperatur [°C], Beleuchtungsdauer/Tag [h], Lichtintensität [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ])

**Fig. 3** Average biomass with focus on different settings of light intensity after 6 weeks of cultivation, 4 replicates per cultivation condition (temperature [°C], daily exposure to light [h], light intensity [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ])

In den weiteren Experimenten (siehe Abb. 1) soll nun untersucht werden, inwieweit die Temperatur und Beleuchtungsdauer Wuchs und Scopolamin-Biosynthese beeinflussen und in welchem Umfang Licht und Temperatur miteinander wechselwirken.

## Literatur

- GRYNKIEWICZ, G. und M. GADZIKOWSKA, 2008: Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives. *Pharmacol. Rep.* **60**, 439-463
- HASHIMOTO, T. und Y. YAMADA, 2003: New genes in alkaloid metabolism and transport. *Curr. Opin. Biotech.* **14**, 163-168
- PALAZÓN, J., MOYANO, E., CUSIDÓ, R. M., BONFILL, M., OKSMAN-CALDENTEY, K.-M. und M. T. PIÑOL, 2003: Alkaloid production in *Duboisia* hybrid hairy roots and plants overexpressing the *h6h* gene. *Plant Sci.* **165**, 1289-1295

## **CSL 12 Einfluss der Temperatur auf die Keimrate von Kamille (*Matricaria recutita* L.), Melisse (*Melissa officinalis* L.) und Baldrian (*Valeriana officinalis* L.)**

**Susanne Wahl, Andreas Plescher**

Pharmaplant GmbH, Am Westbahnhof 4, 06556 Artern, Deutschland  
Wahl@pharmaplant.de. Tel.: 03466/32560, Fax: 03466/325620

DOI 10.5073/jka.2014.446.012



### **Zusammenfassung**

Im landwirtschaftlichen Anbau wird ein synchrones Auflaufen der Keimpflanzen als ein wichtiger Baustein der Bestandsetablierung angesehen und ist mitentscheidend für die Ertragsfähigkeit. Für die Praxis erscheint die Angabe der Optimaltemperatur, welche unter anderem zur experimentellen Überprüfung der Keimfähigkeit verwendet wird, jedoch nicht ausreichend. Vielmehr ist der Zusammenhang zwischen der gegebenen Bodentemperatur und der Keimschnelligkeit von Bedeutung. Es wurde die Keimung verschiedener Sorten von Kamille und Baldrian bei Temperaturen zwischen 1 °C und 27 °C und bei Melisse zwischen 1 °C und 33 °C getestet. Der Keimbeginn, die Keimrate und die mittlere Keimdauer als Ausdruck der Keimschnelligkeit wurden bestimmt.

Kamille keimt ab 9 °C gut. Das Temperaturoptimum beginnt bei 19 °C, in welchem die mittlere Keimdauer 3 Tage beträgt. Die Keimmindesttemperatur liegt bei 5 °C. Baldrian zeigt eine mittlere Keimrate ab 15 °C. Das Temperaturoptimum ist bei 23 °C erreicht. Hier liegt die mittlere Keimdauer bei 4 bis 5 Tagen. Temperaturen unter 11 °C hemmen so stark, dass nicht mehr gedrillt werden sollte. Die Keimmindesttemperatur liegt bei 5 °C. Die optimale Keimtemperatur beginnt bei Melisse ab 27 / 18 °C (Tag / Nacht). Die mittlere Keimdauer beträgt dabei 4 bis 6 Tage. Sehr gute Keimraten können auch bei 23 / 14 °C und gute ab 19 / 10 °C erreicht werden. Unterhalb von 15 / 8 °C fand keine Keimung statt.

Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) und der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) gefördert.

**Stichwörter:** Baldrian, Bestandsetablierung, Bodentemperatur, Kamille, Keimung, Keimdauer, Keimfähigkeit, Keimmindesttemperatur, Keimrate, Keimschnelligkeit, *Matricaria recutita* L., Melisse, *Melissa officinalis* L., Temperaturoptimum, *Valeriana officinalis* L.

## CSL 13 Aktuelle Bewertung von Pyrrolizidinalkaloiden in pflanzlichem Material

**Barbara Steinhoff**

Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller e.V., Ubiestraße 71-73, 53173 Bonn, Deutschland

DOI 10.5073/jka.2014.446.013



### Zusammenfassung

Vor dem Hintergrund der Erstellung einer europäischen Monografie zu Beinwellwurzel (*Symphytum officinale*, radix) arbeitet das Herbal Medicinal Products Committee (HMPC) der europäischen Zulassungsagentur EMA seit 2012 an einem „Public Statement“ zur Beurteilung von Pyrrolizidinalkaloid-(PA-)haltigen pflanzlichen Arzneimitteln. Das Dokument kommt zu dem Schluss, dass wegen möglicher Vergiftungen und aufgrund eines Kanzerogenitätsrisikos die Exposition gegenüber PA so gering wie möglich zu halten ist, da bereits eine Belastung durch Lebensmittel (z. B. Honig) in unbekannter Höhe vorhanden sei. Der derzeitige Entwurf dieses Dokumentes sieht einen Grenzwert von 0,035 µg PA für die tägliche Aufnahme bei Erwachsenen vor, der für die innere bzw. äußere Anwendung gleichermaßen gelten soll. Dieser Grenzwert liegt deutlich unter den Empfehlungen für den Lebensmittelbereich (0,42 µg/Tag) und unter dem im Stufenplanverfahren festgelegten Grenzwert (1 µg/Tag mit entsprechenden Anwendungsbeschränkungen) und berücksichtigt nicht, dass Arzneimittel im Gegensatz zu Lebensmitteln zumeist nur für eine begrenzte Zeitdauer angewendet werden.

Im Juli 2013 veröffentlichte das deutsche Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) Ergebnisse eines Forschungsprojektes, in welchem über 200 verschiedene handelsübliche Kräutertees und Arzneitees auf den Gehalt an PA untersucht worden waren. Das BfR bewertete die Ergebnisse dieser nicht-repräsentativen Untersuchungen dahingehend, dass trotz der in Einzelfällen unerwartet hohen PA-Gehalte in den gemessenen Proben eine akute Gesundheitsschädigung bei kurzfristiger Aufnahme für Erwachsene und Kinder unwahrscheinlich sei. Allerdings würde bei längerfristigem Verzehr von Produkten mit hohen PA-Gehalten, insbesondere bei Kindern, Schwangeren und Stillenden, ein Risiko einer gesundheitlichen Gefährdung gesehen. Nach Auffassung des BfR seien deshalb Anstrengungen notwendig, die PA-Gehalte in Kräutertees und Tees soweit wie möglich zu senken. Deshalb wurden Kontrollen vor der Vermarktung und eine Erforschung der Ursache für hohe PA-Gehalte in den Produkten seitens der Wirtschaftsbeteiligten empfohlen.

Da im Forschungsprojekt des BfR PA-Gehalte in Pflanzen gefunden wurden, für die ein natürliches Vorkommen von PA nicht bekannt ist (z.B. Fenchel, Kamille), stellt sich die Frage nach möglichen Ursachen, wobei eine mögliche Kontamination, z.B. durch *Senecio*-Arten vermutet wird. Es wurden deshalb Forschungsprojekte zur PA-Belastung durch Unkräuter vorgeschlagen. In diesen sollen sowohl die Möglichkeit des Eintrags von PA-haltigen Unkrautarten in Arznei- und Gewürzpflanzenbestände über das Ausgangssaatgut untersucht als auch eine „Unkrautdatenbank“ erstellt werden, auf Basis derer Maßnahmen im Rahmen eines Unkraut-Managements sowie eine PA-Vermeidungsstrategie erarbeitet werden können.

Die Arzneimittel-Hersteller haben mit dem Aufbau einer umfangreichen Datensammlung zur PA-Belastung in Arzneitees, Extrakten und homöopathischen Urtinkturen begonnen. Darüber hinaus entwickeln sie einen „Code of Practice“ als Anleitung zur firmenindividuellen Erarbeitung eines Risikomanagements zur Reduktion und Vermeidung möglicher PA-Belastungen. Festzuhalten ist, dass die komplexe Thematik eine intensive Zusammenarbeit aller Beteiligten aus Anbau, verarbeitender Industrie, Behörden, Verbänden und Fachgesellschaften erfordert.

## **CSL 14 Nikotin- und Pyrrolizidinalkaloide in Arznei- und Gewürzpflanzen**

**Dirk Selmar, Maik Kleinwächter**

Institut für Pflanzenbiologie, TU Braunschweig, Mendelssohnstr. 4, 38106 Braunschweig,  
Deutschland  
d.selmar@tu-bs.de

DOI 10.5073/jka.2014.446.014



### **Zusammenfassung**

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 wird allerdings davon ausgegangen, dass die Situation wesentlich komplexer und vielschichtiger ist. So wird Nikotin aus Böden aufgenommen, die durch Zigarettenkippen kontaminiert sind, und eine endogene Nikotin-Biosynthese ist für viele Arznei- und Gewürzpflanzen nicht auszuschließen. Zurzeit werden analoge Studien für die Aufnahme von PAs aus dem Boden durchgeführt.

Im Vortrag werden potentielle Kontaminationspfade von Nikotin und PAs vergleichend gegenübergestellt und mögliche Lösungsansätze aufgezeigt.

Stichwörter: Pyrrolizidinalkaloide, Nikotin, Kontaminationen von Arznei- und Gewürzpflanzen

## **CSL 15 Regulatorische Anforderungen an die Produktion und Qualität pflanzlicher Arzneimittel**

*Regulatory requirements for the production and quality of herbal medicinal products*

**Hansjörg Hagels<sup>1\*</sup>, Martin Tegtmeier<sup>2</sup>, Jochen Strube<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Binger Straße 173, 55216 Ingelheim, Deutschland

hansjoerg.hagels@boehringer-ingelheim.com

<sup>2</sup>Schaper & Brümmer GmbH & Co. KG, Bahnhofstraße 35, 38259 Salzgitter, Deutschland

<sup>3</sup>Technische Universität Clausthal, Leibnizstraße 15, 38678 Clausthal-Zellerfeld, Deutschland

Im Namen der Fachgruppe „Phytoextrakte“ der DECHEMA



DOI 10.5073/jka.2014.446.015

### **Zusammenfassung**

Entwicklung, Zulassung, Produktion sowie die Vermarktung und der Vertrieb von Arzneimitteln unterliegen in Europa harmonisierten Regularien, die im Gemeinschaftskodex für Humanarzneimittel (Richtlinie 2001/83/EG) zusammengefasst sind und auch pflanzliche Arzneimittel einschließen. Bevor Pflanzensammler/anbauer oder Extrakthersteller sich mit der Entwicklung oder auch Produktion von Arzneimittel-Ausgangs- und Rohstoffen beschäftigen ist es deshalb unumgänglich, diese Regularien zu beherrschen und in die Prozesse einzuarbeiten, um eine langfristige konstruktive Kooperation mit pharmazeutischen Unternehmen als Kunden sicher zu stellen.

Stichwörter: Pflanzliche Arzneimittel, Regularien, Arzneipflanzenanbau, Arzneipflanzenextrakte

### **Abstract**

Development, registration, production as well as marketing and sales of medicinal products are subject to harmonized rules, which are summarized in the Community code relating to medicinal products for human use (Directive 2001/83/EC) in Europe and include also herbal medicinal products. Prior to starting development or production of herbal raw materials or herbal extracts for pharmaceutical use medicinal plant collectors, growers or extract manufacturers should make themselves familiar with the respective regulations in order to safely develop a long-term constructional co-operation with pharmaceutical companies as their customers.

Keywords: Herbal medicinal products, regulations, medicinal plant collectors and growers, herbal extracts

### **Inhalt**

Die Herstellung pharmazeutischer Produkte ist wie allgemein bekannt stark reguliert; dies gilt auch für die Herstellung von pflanzlichen Arzneimitteln. Innerhalb der EU beginnt die Regulierung bereits bei der Produktion des Rohstoffes: den Arzneipflanzen. Anbau oder Wildsammlung müssen den Anforderungen der „Guideline on Good Agricultural and Collection Practice (GACP, 2006)“ entsprechen. Diese Leitlinie stellt sicher, dass das pflanzliche Ausgangsmaterial möglichst jahresübergreifend eine vergleichbare Qualität aufweist. Um Arzneipflanzen verwenden zu können, müssen außerdem die umfangreichen Vorgaben der Monographie „Herbal Drugs“ (European Pharmacopoeia 7.3, 2012) des Europäischen Arzneibuchs erfüllt werden. Nur bei Übereinstimmung kann das Material gemäß der Monographie „Extracts“ (European Pharmacopoeia 7.0, 2010) weiter verarbeitet werden. Das Ergebnis der primären Extraktion ist stets ein Flüssigextrakt, aus dem durch eine Einengung ein halbfester Extrakt und bei anschließender Trocknung ein Produkt mit fester Zustandsform gewonnen werden kann. Inzwischen ist auch die Herstellung von Instanttees im Europäischen Arzneibuch monographiert worden, die üblicherweise Trockenextrakte verwenden (European Pharmacopoeia 7.6, 2013). Außerdem wird über die Konsistenz hinaus unter pharmakologischen Gesichtspunkten zwischen drei verschiedenen Extrakttypen unterschieden: Standardisierte Extrakte enthalten für die jeweilige Arzneipflanze eindeutig anerkannte Wirksubstanzen oder Wirksubstanzgruppen in festgelegten Konzentrationen. Bei quantifizierten Extrakten liegen wirksamkeitsmitbestimmende Inhaltsstoffe in spezifizierten Spannen vor. Die sogenannten „anderen Extrakte“ werden nicht über

definierte Substanzen charakterisiert, sondern rein über die Spanne ihres Droge-Extrakt Verhältnisses. Das Europäische Arzneibuch beinhaltet Einzelmonographien zu etwa 30 Extrakten spezifischer Arzneipflanzen. Extrakte anderer Pflanzen können auch zugelassen werden, doch ist der Zulassungsweg so aufwendig, dass in der Regel die hohen Entwicklungskosten nicht amortisiert werden können. Darum verbleibt der größte Entwicklungsspielraum der phytopharmazeutischen Industrie bei der Nutzung der Monographien der HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products). Dieses Komitee der EMA (European Medicines Agency) erstellt für solche Phytopharmaka Monographien, die sich seit mehr als 30 Jahren im EU Raum auf dem Markt befinden ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)). Es wird hier zwischen zwei Kategorien unterschieden. Well Established Use (Zulassung): Für das Arzneimittel liegen anerkannte Daten zur Sicherheit und Wirksamkeit vor. Traditional Use (Vereinfachte Registrierung): Aufgrund einer jahrzehntelangen („Tradition“) Verwendung kann von einer ausreichenden Sicherheit und einer plausiblen Wirksamkeit ausgegangen werden.

### **Literatur**

- Guideline on good agricultural and collection practice (GACP) for starting materials of herbal origin. EMA, London, 20 February 2006; [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003362.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003362.pdf)
- European Pharmacopoeia 7.3 General monographs, Herbal drugs (1433), January 2012.
- European Pharmacopoeia 7.0, General monographs, Extracts (0765), July 2010.
- European Pharmacopoeia 7.6, Herbal teas, instant (2620), January 2013.
- [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document\\_listing/document\\_listing\\_000212.jsp](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000212.jsp)

---

## Themenkreis D: Genetische Ressourcen, Züchtung und Sortenwesen

---

### DPL 16 Brauchen wir Arzneipflanzen-Sorten?

**Chlodwig Franz**

Veterinärmedizinische Universität Wien, Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe, AG Funktionelle Pflanzenstoffe, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich  
Chlodwig.franz@vetmeduni.ac.at



DOI 10.5073/jka.2014.446.016

#### Zusammenfassung

Mit der zu beobachtenden Zunahme der Zahl heimischer und „exotischer“ Pflanzenarten, die für die Herstellung von Kräutertees, Nahrungsergänzungen, Futterzusatzstoffen und schließlich Phytopharmaka eingesetzt werden, stellt sich verstärkt die Frage nach Identität, Qualität und Homogenität der pflanzlichen Rohstoffe. Trotz oft Jahrhunderte alter traditioneller Verwendung befinden sich die meisten Arznei- und Gewürzpflanzenarten – von wenigen Ausnahmen abgesehen – bestenfalls im Übergangsstadium von Wild- zu Kulturpflanzen mit der entsprechenden natürlichen Variabilität. Aus Gründen der Wirtschaftlichkeit ist es aber unerlässlich, leistungsfähige, ertragssichere, krankheitsresistente sowie gut ernt- und verarbeitbare Pflanzen für den systematischen Anbau zur Verfügung zu haben. Die diesbezüglichen Merkmale sind deshalb die Haupt-Zuchtziele für Arznei- und Gewürzpflanzensorten, denn in der Sortenprüfung wird die Unterscheidbarkeit, Homogenität und Stabilität anhand phänotypischer morphologischer Merkmale festgestellt.

Wie sieht es aber mit dem für diese Pflanzengruppe so wichtigen Zuchtziel Inhalts- bzw. Wirkstoffe aus? Hierbei handelt es sich um Gebrauchswert-Merkmale, die in der Sortenprüfung unberücksichtigt bleiben und daher auch nicht als Sortenmerkmal unter den entsprechenden Schutz fallen. Noch interessanter wird es, wenn künftig neue molekularbiologische bzw. -genetische Techniken aus der Transkriptom- und Metabolomforschung eingesetzt werden oder die Gesamtwirkung der Pflanzen / des Extraktes als Zuchtungsziel im Sinne der Systembiologie gilt. Entwicklungen z.B. auf dem Gebiet der Gesundheitsbezogenen Angaben von Nahrungsergänzungen lassen entsprechende Innovationen erwarten. Diese werden aber vermutlich übergeordnete pflanzliche Gesamtheiten betreffen, die nicht dem Begriff „Pflanzensorte“ entsprechen, wobei für die daraus resultierenden biotechnologischen Erfindungen vermutlich Patente angemeldet werden.

Es spricht also vieles dafür, dass für die Pflanzenproduktion weiterhin die Entwicklung von leistungsfähigen Arznei- und Gewürzpflanzen-Sorten eine große Rolle spielen wird. Diese wird aber zunehmend von wirkungsbezogenen biotechnologischen Erfindungen überlagert sein.

Stichwörter: Arznei- und Gewürzpflanzen-Sorten, phänotypische Merkmale, Wirkstoffe, Biopatente

## **DSL 17 Charakterisierung genetischer Ressourcen von Kamille (*Matricaria recutita* L.) mit Hilfe molekularer Techniken**

*Characterisation of genetic resources in German chamomile (*Matricaria recutita* L.) using molecular and genomic methods*

**Lars-Gernot Otto, Timothy Sharbel**

AG Apomixis, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung,  
Corrensstr. 3, 06466 Gatersleben, Deutschland  
OttoL@ipk-gatersleben.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.017

### **Zusammenfassung**

Bei Kulturpflanzen wie Weizen, Gerste oder Mais, die als Lebens- oder Futtermittel Verwendung finden, werden sehr erfolgreich molekulare Techniken bei der Erschließung genetischer und genomischer Ressourcen und züchterischen Selektion verwendet. Diese Möglichkeiten bestehen auch für Arznei- und Gewürzpflanzen. Bei Echter Kamille als eine der wirtschaftlich bedeutendsten mitteleuropäischen Arzneipflanzen wurden verschiedene Methoden zur Charakterisierung genetischer Variabilität bei kultivierten und wilden Herkünften angewandt.

Bei jeweils mehreren Pflanzen aus 46 di- und tetraploiden Kamilleherkünften (Sorten, Populationen, Akzessionen) verschiedenen geographischen Ursprungs wurde mittels AFLP-Markern eine Analyse zur genetischen Diversität durchgeführt. Zur Bestimmung der Fremdbefruchtungsrate, die Einfluss auf die Züchtungsabläufe hat, werden aktuell Vaterschaftstests mit Hilfe von Mikrosatellitenmarkern bei verschiedenen Herkünften durchgeführt.

Zur Identifizierung von Kandidatenfaktoren für männliche Sterilität und die Entwicklung molekularer Marker für männliche Sterilität als Handwerkszeug für die Züchtung steriler Linien wurde eine Microarray-Analyse und „Next-Generation“-Transkriptomsequenzierung durchgeführt. Die Genexpression von männlich sterilen Zungenblüten wurde mit männlich fertilen Röhrenblüten bei 4 Pflanzen unterschiedlicher Herkunft und jeweils 3 verschiedenen Entwicklungsstadien verglichen.

Diese Arbeit wurde gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) und der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR)

### **Abstract**

Molecular methods have been frequently and successfully used for the exploitation of genetic and genomic resources in crop plant breeding, including wheat, barley or maize. In contrast, such an approach to ameliorate medicinal and aromatic plant breeding is relatively underexploited. Here, several methods were used to characterise genetic and reproductive variability in cultivated and wild origins (varieties, accessions and populations) in German Chamomile, one of the economically most important medicinal plants in Central Europe.

Using AFLP- and microsatellite markers, the genetic diversity characterising German chamomile was evaluated for 46 di- and tetraploid origins from various geographic regions and several genotypes each. Microsatellites are additionally used for the determination of outcrossing and selfing ratios, whose knowledge is essential for breeding strategies.

Next generation transcriptome sequencing and microarray analyses were completed to identify (1) candidate factors for male sterility, and (2) to develop molecular markers for male sterility as a breeding tool. Genome-wide gene expression patterns were compared between male sterile ray florets and male fertile disc florets in 4 genotypes each, from different geographic origin and three flower developmental stages.

This work was financed by the Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) via the Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR).

## **DSL 18 Untersuchung der Thymian-Kollektion aus der Bundeszentralen *Ex situ*-Genbank Gatersleben – Vergleich morphologischer, phytochemischer und molekularer Merkmale**

*Screening of the thyme collection of the federal ex situ genebank in Gatersleben – comparison of morphological, phytochemical and molecular data*

**Ulrike Lohwasser<sup>1</sup>, Jette Schimmel<sup>2</sup>, Karin Baumann<sup>1</sup>, Pavla Koláčková<sup>1,3</sup>, Andreas Börner<sup>1</sup>, Jörg Degenhardt<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), 06466 Stadt Seeland, OT Gatersleben, Deutschland  
lohwasse@ipk-gatersleben.de

<sup>2</sup>Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Pharmazie, AG Pharmazeutische Biotechnologie, 06120 Halle/Saale, Deutschland

<sup>3</sup>Mendel University, 613 00 Brno, Tschechische Republik



DOI 10.5073/jka.2014.446.018

### **Zusammenfassung**

18 Akzessionen der Gaterslebener Thymian-Kollektion aus sieben verschiedenen Arten wurden mit einem standardisierten Boniturschema morphologisch beschrieben. Besonderes Augenmerk lag dabei auf der Anzahl der Drüsenhaare. Außerdem wurden durch Durchflusszytometrie die Genomgröße bestimmt und der Ploidiegrad ermittelt. Die Verwandtschaftsverhältnisse wurden durch ITS-Marker analysiert. Des Weiteren wurde die Zusammensetzung des ätherischen Öls mittels Gaschromatographie gekoppelt an Massenspektrometrie untersucht. Verschiedene Chemotypen konnten dabei gefunden werden. Alle erhobenen Daten werden verglichen und miteinander in Beziehung gesetzt.

Stichwörter: Ätherisches Öl, Chemotypen, Drüsenhaare, ITS-Analyse, *Thymus* spp.

### **Abstract**

18 accessions of the Gatersleben thyme collection from seven different species were characterized morphologically with a standardized descriptor. A special focus was on the number of secretory cells. Besides, the genome size was detected with flow cytometry in order to determine the number of chromosomes and the ploidy level. ITS markers were used to analyze the phylogenetic relationship. In addition, the essential oil compounds were studied with gas chromatography coupled with mass spectrometry. Within the 18 accessions different chemotypes could be found. All data will be compared and evaluated.

Keywords: Chemotypes, essential oil, ITS analysis, secretory cells, *Thymus* spp.

### **Einleitung**

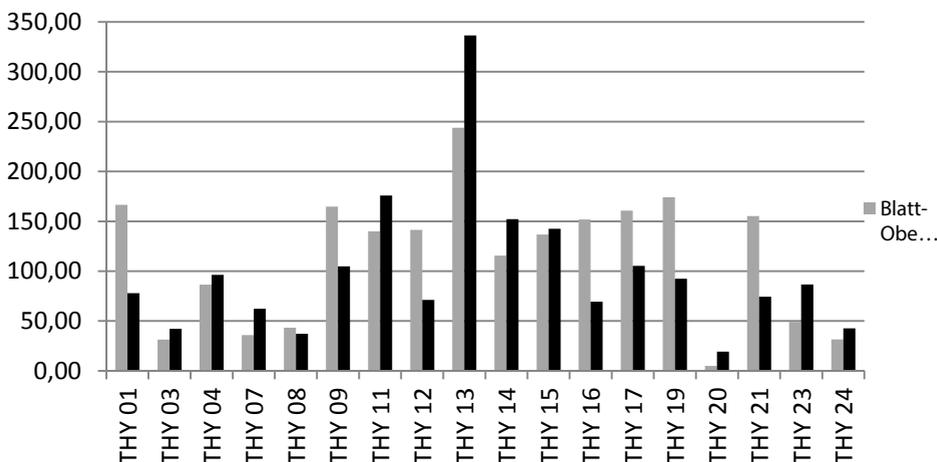
Thymian ist eine beliebte Heil- und Gewürzpflanze in Deutschland. Thymian-Tee wirkt krampflösend und schleimlösend bei Reizhusten und Bronchitis. Sehr wirksam sind auch Thymian-Bäder. In der Volksheilkunde wird Thymian bei Blähungen, Durchfall, Appetitlosigkeit und Magenbeschwerden sowie zum Gurgeln bei Halsweh und Heiserkeit verwendet. Er ist in vielen Fertigpräparaten wie Hustenmitteln, Badezusätzen und Emulsionen im Handel erhältlich. In Ägypten wurde er auch zum Einbalsamieren Verstorbener eingesetzt. Als Gewürz verleiht Thymian vielen Speisen nicht nur einen köstlichen Geschmack, er macht sie auch bekömmlicher (LAUX et al., 1993). Botanisch gesehen, handelt es sich bei *Thymus* um eine sehr artenreiche Gattung, in der Flora Europaea sind insgesamt 66 Arten beschrieben (HEYWOOD und RICHARDSON, 1972). Für Deutschland werden allerdings nur sechs Arten angegeben, von denen drei als Heil- und Gewürzpflanzen genannt sind, *Thymus vulgaris* L., *T. pulegioides* L. und *T. serpyllum* L. (JÄGER und WERNER, 2005). Thymian ist also eine vielfach genutzte Arznei- und Gewürzpflanze. Das Screening von Genbankkollektionen kann als Grundlage zu neuen Züchtungsansätzen bei Thymian genutzt werden.

## Material und Methoden

In der Bundeszentralen *Ex situ*-Genbank in Gatersleben lagern 25 *Thymus*-Akzessionen aus neun verschiedenen Arten. Aus dieser Kollektion wurden 18 Akzessionen zum Vergleichsanbau ausgewählt, die den Arten *T. britannicus* Ronninger, *T. drucei* Ronninger, *T. hirtus* Willd., *T. pulegioides* L., *T. serpyllum* L., *T. transcaucasicus* Ronninger und *T. vulgaris* L. angehören. Darunter sind zwei Zuchtsorten, eine Landsorte, neun Wildsammlungen sowie sechs mit unbekanntem Biostatus. Diese 18 Akzessionen wurden morphologisch nach einem standardisierten Boniturschema charakterisiert, durch Durchflusszytometrie die Genomgröße bzw. der Ploidiegrad bestimmt, mittels ITS-Marker auf ihre Verwandtschaftsverhältnisse untersucht und durch Gaschromatografie gekoppelt mit Massenspektrometrie die unterschiedlichen Chemotypen und Zusammensetzungen des ätherischen Öls determiniert.

## Ergebnisse

Bei den morphologischen Charakterisierungen ließen sich große Unterschiede zwischen den Akzessionen, aber auch innerhalb der Akzessionen nachweisen. Als Beispiel ist die Variabilität bei der Anzahl der Drüsenhaare aufgezeigt (Abb. 1). Der Ploidiegrad ist anhand der Genomgröße bei allen Arten diploid, eine Überprüfung muss noch durch Zählung der Chromosomen bei ausgewählten Akzessionen erfolgen. Die Chemotypenanalyse zeigt innerhalb einer Art unterschiedliche Chemotypen, z. B. lassen sich bei *T. vulgaris* Linalooltypen wie auch Thymoltypen finden. Ein Vergleich mit den gefundenen Haplotypen auf Basis der ITS-Marker muss noch erstellt werden. Nach Auswertung aller erhobenen Daten liegt eine gut charakterisierte Kollektion vor, die als Grundlage weiterer Thymian-Züchtung verwendet werden kann.



**Abb. 1** Mittelwerte der Drüsenhaare für die einzelnen Akzessionen auf der Blattoberseite und Unterseite.

**Fig. 1** Mean values of the secretory cells on upper and lower leaf surface for all accessions.

## Literatur

HEYWOOD, V.H. und I. B.K. RICHARDSON, 1972: Labiatae. In: TUTIN, T. G.; HEYWOOD, V.H., BURGESS, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. und D.A. WEBB (eds.): Flora Europaea, Vol. 3., Cambridge University Press.

JÄGER E.J. und K. WERNER, 2005: Rothmaler Exkursionsflora von Deutschland Bd. 4: Kritischer Band, 10. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.

LAUX, H.E., LAUX, H. und A. TODE, 1993: Gewürzpflanzen: anbauen, ernten, verwenden. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., Stuttgart, 158 S.

## DSL 19 Strategien für die Melissezüchtung (*Melissa officinalis*)

*Breeding strategies for lemon balm (Melissa officinalis)*

**Johannes Kittler<sup>1</sup>, Ute Kästner<sup>1</sup>, Hans Krüger<sup>2</sup>, Andrea Krähmer<sup>2</sup>, Christoph Böttcher<sup>2</sup>, Esther Paladey<sup>3</sup>, Wolfram Junghanns<sup>4</sup>, Ulrike Lohwasser<sup>5</sup>, Wolf-Dieter Blüthner<sup>3</sup>, Frank Marthe<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und <sup>2</sup>Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz des Julius Kühn-Institutes (JKI), Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland

<sup>3</sup>N.L. Chrestensen Samenzucht und Produktion, Witterdaer Weg 6, 99092 Erfurt, Deutschland

<sup>4</sup>Dr. Junghanns GmbH, Aue 182, 06449 Aschersleben, OT Groß Schierstedt, Deutschland

<sup>5</sup>Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Corrensstr. 3, 06466 Stadt Seeland, OT Gatersleben, Deutschland



DOI 10.5073/jka.2014.446.019

### Zusammenfassung

Es wurden 120 Melisseherkünfte in Feldversuchen evaluiert. In diesem Material wurde die Variabilität für Winterhärte, Gehalt und Zusammensetzung des ätherischen Öls, Rosmarinsäuregehalt und eingeschränkt Blattertrag beschrieben. Die beschriebene Variabilität ermöglichte die Entwicklung homozygoter Linien mit hoher Eigenleistung für die genannten Zuchtziele bis zur I<sub>4</sub>-Inzuchtgeneration. Die Kreuzung definierter Linien ermöglichte die Schaffung eines neuen Genpools als Ausgangsmaterial für die Entwicklung weiterer aussichtsreicher Linien.

Stichwörter: Melisse, *Melissa officinalis* L., Winterhärte, ätherisches Öl, Rosmarinsäure, Züchtung

### Abstract

Evaluation was carried out in field experiments with 120 accessions of lemon balm. This material was characterized for winter hardiness, amount and composition of essential oil, amount of rosmarinic acid and, to a certain degree, for yield of leaves. The characterized variability opened the possibility to develop homozygous lines for the mentioned breeding goals up to inbreed generation I<sub>4</sub>. Crossing of defined lines created a new gene pool of basic material for development of new promising lines.

Keywords: lemon balm, *Melissa officinalis* L., winter hardiness, essential oil, rosmarinic acid, breeding

### Einleitung

Melisse (*Melissa officinalis* L.) ist eine mehrjährige Art, die zur Familie der Labiatae gehört. Sie stammt aus dem östlichen Mittelmeerraum und wird seit der Antike als Arzneipflanze und wegen ihres typischen Zitronenaromas auch als Teedroge und als Küchengewürz genutzt.

Von Melisse werden die getrockneten Laubblätter (*Melissae folium*), das ätherische Öl (*Melissae aetheroleum*) und der Melissenblättertrockenextrakt (*Melissae folii extractum siccum*) arzneilich genutzt. Für die Droge sind folgende Indikationen zugelassen und klinisch belegt: Als Monopräparat bzw. in Kombination mit Baldrian bei nervös bedingten Einschlafstörungen und als Monopräparat bei funktionellen Magen-Darm-Beschwerden. Eine weitere Zulassung besteht für den Trockenextrakt als Salbe oder Creme zur Linderung der Beschwerden bei *Herpes simplex*. Die Blattdroge wird ebenfalls in Form von Tee oder Teemischungen angewendet, um nervliche und verdauungsbedingte Beschwerden zu behandeln. In Kombination mit anderen Stoffen wird Melisse auch zur Besserung des Befindens bei nervöser Belastung bzw. zur Unterstützung der Herz-Kreislauffunktion eingesetzt. Auch alkoholische Extrakte kommen zum Einsatz. Melisse ist Bestandteil von Kräuterlikören und alkoholischen Zubereitungen (BOMME et al. 2013).

Im Trockenextrakt der Melisse muss mindestens ein Gehalt von 2 % Rosmarinsäure enthalten sein (Ph. Eur. 7). Die getrockneten Blätter müssen nach dem Europäischen Arzneibuch (Ph. Eur. 7) einen zitronenartigen Geruch und einen Mindestgehalt von 1 % Rosmarinsäure haben (HPLC-Methode).

Melisse ist mehrjährig und blüht ab dem zweiten Standjahr. Die Nutzung erfolgt zwei- bis dreijährig. Bei tiefen Temperaturen kann es zu Auswinterungsschäden kommen. Für die züchterische Verbesserung von Melisse ist eine Erhöhung des Gesamtertrages während der mehrjährigen Nutzungsphase das Hauptziel. Zur Erreichung dieses Zieles sind Verbesserungen der Winterhärte und Gesamtnutzungsdauer sowie des Blattertrages und des Gehaltes an ätherischem Öl erforderlich. Die Einhaltung der Arzneibuchvorgaben ist auch hier Voraussetzung für die beabsichtigte Nutzung verbesserter Sorten.

### **Ergebnisse und Diskussion**

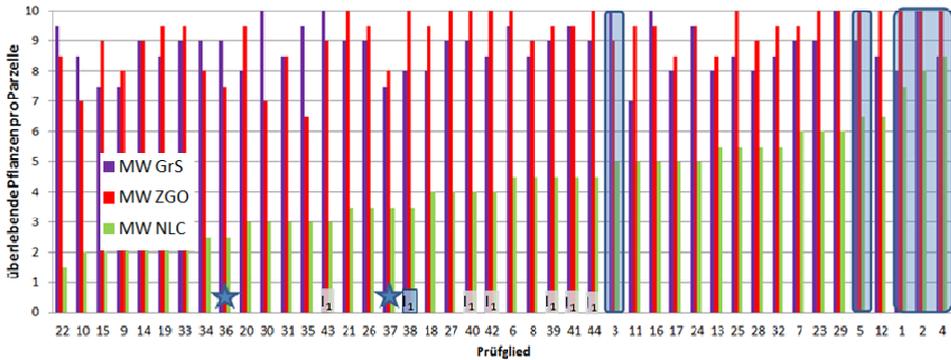
Grundlage der Materialentwicklung war die Evaluierung von 120 unterschiedlichen Melisscherkünften aus den Sammlungen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising (LfL, 68 Akzessionen, BOMME et al. 2008), der Bundeszentralen *Ex-situ*-Genbank des Leibniz-Institutes für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben (IPK, 28 Akzessionen) sowie ab 2011 der russischen Genbank des N.I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry, St. Petersburg (VIR, 24 Akzessionen). Für die evaluierten Herkünfte wurde die Winterhärte ermittelt, der Gehalt und die Zusammensetzung des ätherischen Öls bestimmt (ADZET et al. 1992), der Gehalt an Rosmarinsäure gemessen (KRÜGER et al. 2010), morphologische Unterschiede erfasst und das Vorhandensein männlicher Sterilität untersucht.

Die Evaluierungsergebnisse wurden in zwei Ansätzen parallel genutzt. Zunächst wurde der Weg zur Entwicklung homozygoter Linien der Melisse mit hoher Eigenleistung durch Selbstbestäubung und Selektion in den Nachkommenschaften begonnen. Hier ist es bislang gelungen eine I<sub>4</sub>-Generation zu erzeugen. In einem ersten Versuch zur Ermittlung von Inzuchteffekten wurden Linien in I<sub>1</sub> mit Linien in I<sub>2</sub> verglichen. Für Winterhärte sowie Gehalt und Zusammensetzung des ätherischen Öls wurden keine Hinweise auf Inzuchtdepressionen gefunden. Im Frischmasseertrag lagen die beiden Sorten 'Erfurter Aufrechte' und 'Loreley', die als Standardarten mitgeführt wurden, an der Spitze aller Prüfglieder. Auch hier gibt es keinen klaren Leistungsabfall von I<sub>1</sub> zu I<sub>2</sub>. Allerdings bleibt das Leistungsniveau der Linien im Jahr 2012 insgesamt hinter den Standards zurück. Abbildung 1 zeigt die Ergebnisse zur Winterhärte für diesen dreierartigen Versuch an den Standorten Groß Schierstedt (GrS), Quedlinburg (ZGO) und Erfurt (NLC). Im Merkmal Winterhärte sind ca.  $\frac{2}{3}$  aller Prüfglieder besser als der beste Standard 'Erfurter Aufrechte'. Dieses Material zeigt die erforderlichen Potentiale um eine Verbesserung im wichtigsten Zuchtziel Winterhärte in kommenden Melissesorten zu verankern.

Neben der Linienentwicklung wurden Kreuzungen ausgeführt, um einen Genpool zu schaffen, mit neuen Kombinationen der ökonomisch bedeutenden Merkmale Winterfestigkeit und hoher Gehalt an ätherischem Öl. Spaltende F<sub>2</sub>-Nachkommenschaften werden für diese Merkmale bewertet mit dem Ziel hieraus neuartige, leistungsfähige Linien zu entwickeln.

Für beide Materialgruppen hat die Homozygotisierung zentrale Bedeutung. Versuche zur Herstellung von DH-Linien zeigten erste sporophytische Teilungen bis zu vereinzelt Mikrokalli. Die vollständige Verfügbarkeit dieser Methode würde das Zuchtprogramm deutlich beschleunigen.

Bei Bestätigung der Inzuchttoleranz kann die Entwicklung einer Liniensorte angestrebt werden. Sollten zukünftig Hybrideffekte ermittelt werden, könnte die Entwicklung von Synthetiks angestrebt werden, da männliche Sterilität bislang nicht gefunden wurde.



**Abb. 1** Überlebende Pflanzen pro Parzelle im I<sub>2</sub>-Inzuchtlinienversuch nach Winter 2011/12; jeweils Mittelwerte aus zwei Wiederholungen für 44 Prüfglieder (PG) für drei Standorte: Groß Schierstedt (GrS) violett, Quedlinburg (ZGO) rot und Erfurt (NLC) grün. Blauer Stern: Standardsorten - PG 36 'Loreley', PG 37 'Erfurter Aufrechte'. Blau hinterlegt: Inzuchtfamilie mit guter Winterhärte - Herkunft VMO11/38/4; I<sub>1</sub>= PG 38, I<sub>2</sub> = PG 1, 2, 3, 4, 5.

**Fig. 1** Surviving plants per plot after winter 2011/2012 in I<sub>2</sub> inbred lines; 44 plots, each mean of two replications for three experimental fields: Groß Schierstedt (Grs violet), Quedlinburg (ZGO red) and Erfurt (NLC green); blue asterisk: standard varieties - plot 36 'Loreley', plot 37 'Erfurter Aufrechte', blue colored plots (I<sub>2</sub>: plots 1, 2, 3, 4, 5): inbred progeny of I<sub>1</sub> plant VMO11/38/4 with high winter hardiness, sister plants of I<sub>1</sub> plant VMO11/38/4: plot 38.

## Literatur

- ADZET, T., PONZ, R., WOLF, E. UND E. SCHULTE, 1992: Investigations of the content and composition of essential oil of *Melissa officinalis*. 1. Genetic-Variability of the essential oil content of *Melissa officinalis*. *Planta Medica* **58**, 558-561.
- BOMME, U., HONERMEIER, B., HOPPE, B., KITTLER, J., LOHWASSER, U. UND F. MARTHE, 2013: Melisse (*Melissa officinalis* L.). *Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus*, Band 5, Arznei- und Gewürzpflanzen von L – Z, Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen Saluplanta e.V., Bernburg, Deutschland. S. 151-173.
- BOMME, U., RINDER, R. UND F. PANK, 2008: Content of rosmarinic acid and winter hardiness in lemon balm (*Melissa officinalis* L.) - results of investigations from a large collection. *Z Arznei- Gewürzpfla* **13**, 65-71.
- KRÜGER, H., SCHÜTZE, W., LOHWASSER, U. UND F. MARTHE, 2010: Qualität bei Melisse – gestern und heute: Hydroxizimtsäurederivate versus Rosmarinsäure, vergleichende Untersuchungen an einer Melissenkollektion (*Melissa officinalis* L.). *Z Arznei- Gewürzpfla* **15**(1), 31-32.

## **DSL 20 Karyologische Variabilität in Kreuzungsnachkommen – eine Herausforderung bei der Züchtung neuer Baldriansorten (*Valeriana officinalis* L. s.l.)**

*Ploidy levels in crossbred descendants – a challenge in the breeding of new varieties of valerian (*Valeriana officinalis* L. s.l.)*

**Michael Penzkofer, Heidi Heuberger, Manuel Geyer, Martin Müller**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung (IPZ 3d Arbeitsgruppe Heil- und Gewürzpflanzen, IPZ 1a Arbeitsgruppe Gewebekulturtechniken), Vöttinger Str. 38, 85354 Freising, Deutschland  
Michael.Penzkofer@LfL.bayern.de, www.LfL.bayern.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.020

### **Zusammenfassung**

In der Studie wurden die unterschiedlichen Ploidiestufen von Baldrianpopulationen (Herkünfte und deren Kreuzungsnachkommen) untersucht. Mittels Chromosomenzählung konnten die Ploidiestufen der Elternherkünfte bestätigt werden. Dabei zeigten die Kreuzungsnachkommen zum Teil unerwartete Ploidieniveaus.

### **Abstract**

The different ploidy levels of valerian populations (provenance populations and their crossbred descendants) were studied. Using chromosome counting the already known ploidy levels of the parental populations could be confirmed. The crossbred descendants showed partly unexpected ploidy levels.

### **Einleitung**

Die 2008 begonnene Züchtungsarbeit an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Arbeitsgruppe Heil- und Gewürzpflanzen hat zum Ziel, durch die Züchtung von neuen Baldriansorten die Rentabilität für den heimischen Anbau zu steigern. Durch Auslese und Kreuzungszüchtung soll die Drogenqualität dahingehend verbessert werden, dass auf Grund groberer Wurzeln der hohe personelle und technische Aufwand in der Nachernteaufbereitung verringert und gleichzeitig die Qualitätsanforderungen des Europäischen Arzneibuches sicher eingehalten werden.

Die züchterische Arbeit wird durch vielerlei Eigenheiten des Baldrians erschwert. So zum Beispiel durch die Ontogenese - die generative Phase setzt erst nach einer Überwinterung im zweiten Standjahr ein; durch die Blühbiologie - in der Infloreszenz befinden sich gleichzeitig alle Entwicklungsstufen; und durch eine vielfältige morphologische, genetische und cytologische (di-, tetra- und oktoploide Ploidiestufen sind bekannt) Variationsbreite.

Die unterschiedlichen Cytotypen, die es bei Baldrian natürlicherweise gibt, eröffnen Möglichkeiten der Kombination und dadurch die Entstehung neuer Variabilität und vielleicht auch neuer Pflanzeigenschaften, zum Beispiel im Hinblick auf die Fertilität der Blüten (männliche Sterilität bei triploiden Pflanzen) oder der Entwicklung einer polyploiden Reihe, die Aussagen über die Leistungsfähigkeit verschiedenerer Cytotypen zulassen würden.

Aus einigen di-, tetra- und oktoploiden Herkünften des Baldriansortiments der LfL wurden im Frühjahr 2011 reziproke Kreuzungen zwischen verschiedenen Cytotypen vorgenommen (Tab. 1) und der Ploidiegrad der entstandenen Nachkommen mittels Flow-Cytometrie überprüft. Es wurden Ploidiegrade ermittelt, die in Anbetracht der Ploidie der Eltern nicht zu erwarten waren und auch nicht erklärt werden konnten. Um auszuschließen, dass eine fehlerhafte Messung vorliegt, wurden 2013 die Ploidiegrade der Eltern und deren Kreuzungsnachkommen mittels Chromosomenzählung überprüft.

## Material und Methoden

Die Blüten (23 Blüten je Kreuzung) der Mutterpflanze wurden kurz vor dem Öffnen kastriert und bereits aufgeblühte Blüten und nicht verwendete Knospen entfernt. Die Infloreszenzen der Samenträger wurden ebenso wie die Blütenstände des Pollenspenders mit einer Pergamintüte isoliert, um eine Kontamination mit Fremdpollen auszuschließen. Temperaturabhängig entfalteten sich 2-5 Tage später die drei Narbenblätter und der reife Pollen des Kreuzungspartners wurde auf die Narbe übertragen. Die Blütenstände wurden wieder mit Pergamintüten isoliert und anschließend mehrfach auf Knospenneubildungen kontrolliert, um diese zu entfernen. Da der Blühzeitpunkt der vorgesehenen Elternpflanzen nicht immer synchron war, wurden zu früh schossende Kreuzungspartner durch einen längeren Aufenthalt in der Kühlkammer in ihrer Entwicklung verzögert.

**Tab. 1** Kreuzungs- und BLBP-Nummern der Elternherkünfte, Anzahl der Nachkommen je Kreuzung, sowie die Ploidiestufen der Elternherkünfte und die erwarteten Ploidiestufen der Kreuzungsnachkommen.

Kreuzungs- nummer	BLBP		Ploidie (2n)		Anzahl der Nachkommen	Ploidie (2n) erwartet
	Mutter	Vater	Mutter	Vater		
101	23	112	8x	2x	1	5x
103	23	20	8x	8x	13	8x
105	23	20	8x	8x	14	8x
109	87	111	4x	2x	1	3x
113	20	23	8x	8x	12	8x
114	20	87	8x	4x	3	6x

Anschließend erfolgten flow-cytometrische Messungen, um den Ploidiestatus der Nachkommen zu ermitteln. Dabei wurden unerwartete Ergebnisse erzielt. An den weiterkultivierten Pflanzen wurden 2013 durch weitere flow-cytometrische Untersuchungen und einer mikroskopischen Chromosomenzählung die Ploidielevels erneut bestimmt.

Da letztere Methode vergleichsweise viel Zeit benötigt, konnten nicht alle zur Verfügung stehenden Pflanzen analysiert werden. Aus den Elternherkünften und den Nachkommenschaften wurden, soweit vorhanden, je drei Pflanzen geprüft. Ausnahme ist die Herkunft BLBP20, von welcher nur die Chromosomen eines Klons gezählt wurden, da diese Herkunft bei der Kreuzung durch ebendiesen Klon vertreten war. Für die Chromosomenzählung ausgewählt, wurden jene Individuen, welche die meisten jungen und gesunden Wurzeln zeigten. Den Pflanzen wurden möglichst Wurzelspitzen mit etwa 1-2 cm Länge und 1 mm Durchmesser entnommen.

Diese wurden für 5 h bei etwa 15 °C in 3 ml einer 0,6 %igen wässrigen 1-Bromnaphthalin-Emulsion getaucht. Nach der Vorbehandlung erfolgte die Fixierung der Wurzeln, indem die 1-Bromnaphthalin-Emulsion durch jeweils 3 ml einer Fixationslösung ausgetauscht wurde. Die Fixationslösung bestand aus 3 Teilen Ethanol (96 %) und 1 Teil Essigsäure (98 %).

Die Fixationslösung wurde durch ein zehnmütiges Wasserbad entfernt. Das Aquadest wurde anschließend für die Hydrolyse der Proben durch jeweils 3 ml 1N HCl ersetzt und in einem Wasserbad bei 60 °C für 10 bis 12 min inkubiert. Nach einer weiteren fünfminütigen Waschung in 3 ml Aquadest und der Entfernung der anhaftenden Salzsäure, konnte mit der Herstellung des Quetschpräparats begonnen werden.

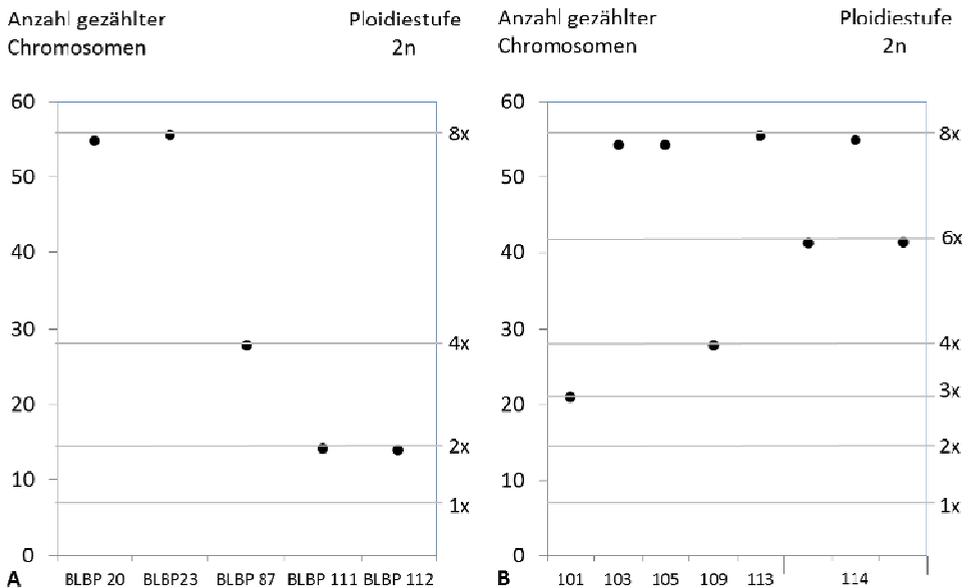
Hierfür wurde eine Wurzelspitze auf einen Objektträger gelegt, vorsichtig mit Filterpapier abgetupft und der vorderste Teil der Wurzelspitze (etwa 1 mm) mit einer Präpariernadel auf dem Objektträger ausgestrichen. Zu den entfernten Zellen des Wurzelmeristems wurde umgehend ein Tropfen Essigsäure (45 %) pipettiert und mit Hilfe der Präpariernadel vermengt. Anschließend erfolgte die Färbung der Chromosomen. Auf die zu untersuchenden Zellen wurde ein Tropfen

Färbelösung gegeben. Für die Herstellung der Färbelösung wurden 2,2 g Orcein unter leichtem Kochen in 100 ml Eisessig gelöst. Nach dem Abkühlen und Filtrieren wurde auf eine Essigsäure-Lösung (45 %) verdünnt.

Nach einer Minute Einwirkzeit der Färbelösung wurden die angefärbten Zellen etwa 5 cm über einer Flamme für 8 s erhitzt. Mit einem Durchlichtmikroskop wurden bei 1000-facher Vergrößerung die Chromosomen der Zellkerne gezählt und die Ergebnisse fotografisch festgehalten.

### Ergebnisse / Diskussionen

Die Chromosomenzählungen an den Pflanzen der Kreuzungseltern bestätigten alle zuvor angenommenen Ploidiestufen (vgl. Tab. 1 und Abb. 1), deren Chromosomenzahlen auf der Grundzahl  $n=7$  beruhen. Innerhalb der jeweiligen Herkunft wurden keine unterschiedlichen Cytotypen beobachtet. Auch die Chromosomenzahl innerhalb einzelner Pflanzen war homogen. Die Ergebnisse der Chromosomenzählung an den Elternherkünften sind in Abb. 1-A dargestellt. In Abb. 2 ist die Metaphase einer Baldrianpflanze am Beispiel der Elternherkunft BLBP 23 dargestellt.



**Abb. 1** Anzahl gezählter Chromosomen und Ploidiestufen bei Baldrian, Chromosomengrundzahl  $n=7$ : Elternherkünfte BLBP 20, BLBP 23, BLBP 87, BLBP 111 und BLBP 112; B: Kreuzungsnachkommen 101, 103, 105, 109, 113 und 114.  $N=3$ , außer  $N=1$  bei 101 und 114.



**Abb.2** Metaphase der Wurzelmeristemzellen von Baldrian am Beispiel der Elternherkunft BLBP23,  $2n=56$

Die Ergebnisse der Chromosomenzählung an den Kreuzungsnachkommen sind in Abb. 1-B dargestellt. Es wurden nicht bei allen Kreuzungen jene Cytotypen bestimmt, welche aufgrund der Ploidie der Kreuzungseltern erwartet worden sind. Der Nachkomme von Kreuzung 101 ist nicht wie erwartet pentaploid ( $2n = 4x + 1x$ ) sondern triploid.

Generell entstehen triploide Cytotypen durch die Fusion monoploider und diploider Gameten. Im Falle dieser Kreuzung könnte der triploide Cytotyp durch die Fusion eines monoploiden Pollens der Herkunft BLBP112 ( $1n = 1x$ ) mit einer diploiden Eizelle der Herkunft BLBP23 ( $1n = 2x$ ) entstanden sein. Erwartungsgemäß bildet eine oktaploide Mutterpflanze allerdings tetraploide Eizellen. Vergleichbare euploide und zugleich numerisch irreguläre Gameten haben OSELEBE et al. (2006) bei *Musa*-Hybriden dokumentiert. Wie ein cytologisch doppelt reduzierter Gamet entsteht, ist nicht bekannt. Eine irreguläre Meiose der oktaploiden Mutterpflanze ist dennoch wahrscheinlich. Da bei der Chromosomen-

zählung ausschließlich 21 Chromosomen gezählt wurden, ist Non-Disjunction vermutlich nicht die Ursache für die Triploidie des Nachkommen aus Kreuzung 101.

Bei den Kreuzungen 103, 105, und 113 stimmen die Ergebnisse der Zählungen mit den erwarteten Ploidiestufen überein. Die Nachkommen sind, wie aufgrund der Ploidie der Eltern zu erwarten war, oktaploid.

Bei dem  $F_1$ -Nachkommen aus Kreuzung 109 wurde durch die Chromosomenzählung, ein tetraploider Cytotyp festgestellt. Eine mögliche Erklärung hierfür ist eine nicht beabsichtigte Selbstbestäubung der tetraploiden Mutterpflanze (BLBP87) in Folge einer unvollständigen Kastration. Dies könnte auch die Ursache für den oktaploiden Nachkommen aus Kreuzung 114 sein. Das gleichzeitige Vorkommen von verschiedenen Stadien (Knospe, Blüten, Samen) in der Infloreszenz des Baldrians zeigt wie wichtig es ist, nach der Bestäubung fortlaufend die sich entwickelnden Blüten zu entfernen.

Von den Ploidieniveaus der Elternherkünfte ausgehend, sollten aus Kreuzung 114 ausschließlich hexaploide Nachkommen entstehen ( $2n = 4x + 2x$ ). Allerdings entwickelten sich zwei verschiedene Cytotypen, zwei hexaploide und ein oktaploider.

### Schlussfolgerungen

Die Einzelblütenbestäubung bei Baldrian ist schwierig und diffizil, daher ist diese Methode eher für die experimentelle Saatguterzeugung geeignet und wird sich nicht in einem größeren Maßstab bei Kreuzungen im Rahmen des Züchtungsprogramms anwenden lassen. Die mikroskopische Chromosomenzählung stellte sich als aufwändig, aber als eine sichere Methode zur Identifizierung des Cytotyps dar. Wie sich bestätigte, entstanden Nachkommen mit nicht erwarteten Ploidiestufen. Auch innerhalb einer Nachkommenschaft stellten sich unterschiedliche Ploidiestufen ein. Wenn sich jedoch die Cytotypen nicht exakt vorherbestimmen lassen, scheint die Nutzung von intercytotypischen Kreuzungen (beispielsweise zur Erstellung einer Ploidiereihe oder zur Erzeugung von triploiden und dadurch womöglich samensterilen Sorten) sich nur schwer verwirklichen zu lassen.

### Danksagung

Gedankt sei all denen, die durch ihre fachliche und praktische Hilfestellung bei Problemen diese Arbeit ermöglicht haben. Dies waren an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft Herr

Baumann (LfL, IPZ 1a) und Frau Schultheiß (LfL, IPZ 1a), sowie am Fachgebiet Obstbau der TU München Herr Dr. Neumüller.

Die Baldrianzüchtung ist Teil des Verbundvorhabens „Verbesserung der internationalen Wettbewerbsposition des deutschen Arzneipflanzenanbaus am Beispiel der züchterischen und anbautechnologischen Optimierung von Kamille, Baldrian und Zitronenmelisse (KAMEL)“ und wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger des BMEL für das Förderprogramm Nachwachsende Rohstoffe unterstützt.

### **Literatur**

OSELEBE, H.O., TENKOUANO, A. und PILLAY, M., 2006: Ploidy variation of *Musa* hybrids from crosses. African Journal of Biotechnology 5: 1084-1053.

---

## Themenkreis E: Qualitätsmanagement und Pflanzenanalytik

---

### EPL 21 Qualität von Anfang an – Voraussetzung für Extrakte höchster Güte

*Quality from begin – condition for excellent extracts*

**Martin Tegtmeier<sup>1</sup>, Hansjörg Hagels<sup>2</sup>, Jochen Strube<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Schaper & Brümmer GmbH & Co. KG, Bahnhofstraße 35, 38259 Salzgitter, Deutschland  
martin.tegtmeier@schaper-bruemmer.de

<sup>2</sup>Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Binger Straße 173, 55216 Ingelheim, Deutschland

<sup>3</sup>Technische Universität Clausthal, Leibnizstraße 15, 38678 Clausthal-Zellerfeld, Deutschland

DOI 10.5073/jka.2014.446.021



#### Zusammenfassung

Für den nachhaltigen Erfolg eines Produktes ist dessen Reproduzierbarkeit der Qualität von entscheidender Bedeutung. Bei Pflanzenextrakten sind die wesentlichen Parameter zum Erreichen dieses Qualitätszieles pflanzliches Ausgangsmaterial, Auszugsmittel, Anlage und Verfahrensmethode. Aufgrund des Charakters der europäischen arzneimittelrechtlichen Regularien konzentrieren sich Optimierungen auf das Pflanzenmaterial. Die künftige Entwicklung von Extraktionsverfahren wird sich außerdem zunehmend an prädiktiven Konzeptionen wie Quality by Design orientieren.

Stichwörter: Pflanzenextrakt, pflanzliche Arzneimittel, (Arznei-)Pflanzenkultivierung, Qualität durch Konzeption

#### Abstract

For the sustainable success of a product the reproducibility of its quality is of essential importance. To achieve this quality target for plant extracts the fundamental parameters are herbal raw materials, extraction solvent, facility and method. Due to the character of the European pharmaceutical regulations optimizations are concentrated on the plant material. Future development of extraction methods will be geared to predictive conceptions like Quality by Design.

Keywords: Plant Extract, Herbal Medicinal Products, (Medicinal) Plant Cultivation, Quality by Design

#### Inhalt

Für den Patienten wird der qualitative Wert eines Produktes durch das Qualitätsniveau der direkt vorliegenden jeweiligen einzelnen Partie bzw. Charge bestimmt. Entscheidend ist aber, dass dieser qualitative Standard bei jeder Charge vorhanden und damit die Reproduzierbarkeit der Qualität gewährleistet ist. Pflanzenextrakte werden in ihrer Konzeption und Qualität durch die vier Parameter Pflanzenmaterial und Auszugsmittel sowie Anlage und Extraktionsverfahren bestimmt. Sollen die Extrakte für die Herstellung von in der Europäischen Union zugelassenen pflanzlichen Arzneimitteln verwendet werden, müssen die detaillierten Vorgaben des Europäischen Arzneibuches für Extrakte beachtet werden. Existiert außerdem eine Monographie des Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) der Europäischen Zulassungsbehörde (EMA) für die verwendete Arzneidroge, sind die an dieser Stelle erwähnten Angaben für die Extrakte verbindlich. Die erwähnten Regelwerke führen zu einer gewissen Starre, indem Extraktionsverfahren prinzipiell fixiert und methodischen Fortschritten nicht mehr zugänglich sind. Deswegen konnte sich beispielsweise die Extraktion mit überkritischem Kohlendioxid bei Arzneipflanzenextrakten nicht etablieren, obwohl dieses Verfahren in allen anderen Bereichen als unverzichtbarer Fortschritt längst zu einem Standard geworden ist. In den Fokus von Optimierungen rückt damit das für die Extraktion einzusetzende Pflanzenmaterial. Durch systematische Züchtungsarbeiten können inzwischen Sorten bereitgestellt werden, welche die jeweiligen Inhaltsstoffgruppen in den gewünschten Gehaltsspannen liefern. Ergänzt werden diese Forschungsergebnisse durch fundierte Erkenntnisse in der Kulturführung, welche auch den Ernteprozess und sich anschließende Folgearbeiten einschließen. Die hier von Hochschulen und

wissenschaftlich anerkannten Unternehmen geleisteten Entwicklungsarbeiten besitzen essentiellen Charakter. Die (Neu-)Entwicklung von Extraktionsverfahren wird heute von der analytischen Untersuchung zu gewünschten und unerwünschten Inhaltsstoffgruppen sowie der mathematisch-physikalischen Betrachtung des Extraktionsverlaufes bestimmt. Dieses Vorgehen in der Verfahrensentwicklung versteht sich als Umsetzung des Konzeptes Quality by Design für Pflanzenextrakte

### **Literatur**

- TEGTMEIER, M., 2008: Extrakte und Extrakterstellung. In: WICHTL M (Hrsg.) Teedrogen und Phytopharmaka 5. Auflage, Deutscher-Apotheker-Verlag Stuttgart, 26-30.
- BART, H.J., HAGELS, H., KASSING, M., JENELTEN, U., JOHANNISBAUER, W., JORDAN, V., PFEIFFER, D., PFENNIG, A., TEGTMEIER, M., SCHÄFFLER, M. und J. STRUBE, 2012: Positionspapier der ProcessNet Fachgruppe „Phytoextrakte – Produkte und Prozesse“ 1. Auflage, Dechema Frankfurt am Main.
- KASSING, M., JENELTEN, U., SCHENK, J., HÄNSCH, R. und J. STRUBE, 2012: Combination of rigorous and statistical modeling for process development of plant-based extractions based on mass balances and botanical aspects, Chem. Eng. Technol. **35** (1): 109-132.
- TEGTMEIER, M., 2012: Pflanzenextraktion: Schlüsseltechnologie zur nachhaltigen Nutzung von Bio-Ressourcen, Chemie Ingenieur Technik **84** (6): 880-882.

## **ESL 22 Arznei- und Gewürzpflanzenanalytik im Hochdurchsatz – Technologie, Möglichkeiten und Anwendungen der numares NMR-Plattform**

*Medicinal and Aromatic Plant Analysis in high-throughput – technology, possibilities and applications of the numares NMR-platform*

**Roland Geyer, Michael Rettig, Christoph Dotzer, Volker Pfahlert, Fritz Huber**

numares PLANTS, Josef-Engert-Str. 9, 93053 Regensburg, Germany  
roland.geyer@numares.com



DOI 10.5073/jka.2014.446.022

### **Zusammenfassung**

Um eine effiziente Analytik von Arznei- und Gewürzpflanzen zu gewährleisten und die hohe Variabilität an auftretenden Matrizes und Probenotypen, ebenso wie die unterschiedlichsten analytischen Fragestellungen und Anforderungen bearbeiten zu können, ist eine Vielzahl komplementärer analytischer Methoden erforderlich.

Die numares AG nutzt einen neuen, innovativen Ansatz, basierend auf der Kernspinresonanzspektroskopie (NMR), um Pflanzenzüchter und die verarbeitende Industrie bei der Analyse und Optimierung von Züchtungsprojekten, Prozessabläufen oder in der Qualitätskontrolle zu unterstützen. Nachfolgend werden anhand ausgewählter Beispiele die Technologie und deren Möglichkeiten und Anwendungsgebiete vorgestellt.

Stichwörter: NMR, Hochdurchsatzanalytik, Elitenselektion, Metabolomic Profiling

### **Abstract**

To ensure an efficient analysis of medicinal and aromatic plants and to be able to handle the high variability occurring in matrices and sample types a variety of complementary analytical methods is required.

The numares AG provides a new and innovative approach based on nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy to assist plant breeders and industry in the analysis and optimization of breeding projects, process flows and in quality control. The technology, its potential and applications are presented below based on selected examples.

Keywords: NMR, high-throughput screening, elite selection, metabolomic profiling

### **Einleitung**

Die als wirksam beschriebenen Inhaltsstoffe in Arznei- und Gewürzpflanzen liegen fast immer in komplexen Vielstoffgemischen, neben zahlreichen indifferenten pflanzlichen Komponenten, vor. Üblicherweise sind diese Wertkomponenten nicht gleichmäßig über die Pflanze verteilt und werden durch den genetischen Hintergrund der jeweiligen Art, aber auch durch biotische und abiotische Faktoren beeinflusst. Darüber hinaus wirken sich Erntetechnik, Trocknung und Lagerung ebenfalls auf den Gehalt der jeweiligen Wertkomponenten aus.

Um eine effiziente Analytik zu gewährleisten und die hohe Variabilität an auftretenden Matrizes und Probenotypen, ebenso wie die unterschiedlichsten analytischen Fragestellungen und Anforderungen bearbeiten zu können, ist eine Vielzahl komplementärer analytischer Methoden erforderlich.

Die numares AG nutzt einen neuen, innovativen Ansatz, basierend auf der Kernspinresonanzspektroskopie (NMR), um Pflanzenzüchter und die verarbeitende Industrie bei der Analyse und Optimierung von Züchtungsprojekten, Prozessabläufen oder in der Qualitätskontrolle zu unterstützen. Numares-Systeme sind in der Humandiagnostik mittlerweile im Routineeinsatz und erlauben die Analyse von mehreren hundert Proben pro Tag. Auch für die Analytik von Arznei- und Gewürzpflanzen sind erste Projekte erfolgreich umgesetzt und zeigen das Potenzial der numares-Technologie, die etablierten, meist chromatografischen Methoden, sinnvoll zu ergänzen. Bisher war eine gleichzeitige Selektion auf agronomische Merkmale und auf Inhaltsstoffgehalte und -zusammensetzung meist limitiert durch die hohen Kosten für die Analytik und es konnten

nur wenige Pflanzen pro Serie auf Inhaltsstoffmuster und -gehalte analysiert werden. Mit Hilfe der NMR können größere Kollektive von Pflanzen auch inhaltsstoffanalytisch zu vertretbaren Kosten untersucht werden. Nachfolgend werden anhand ausgewählter Beispiele die Technologie und deren Möglichkeiten und Anwendungsgebiete vorgestellt.

### **Grundlagen der numares-Methode**

Mit Hilfe der numares-Plattform können in nur einer Messung alle organischen Inhaltsstoffe in einer Probe simultan, in identischer Matrix und über einen großen dynamischen Konzentrationsbereich von 6 Größenordnungen erfasst werden. Frischpflanzenmaterial kann ebenso verarbeitet werden wie Droge oder Extrakt. Das entsprechende Probenmaterial (Trockenmasse ~50-200 mg) wird nur extrahiert (bzw. gelöst) und abzentrifugiert bzw. gefiltert. Das Filtrat wird dann direkt zur NMR-Probe verarbeitet. Einschränkungen bzgl. Lösungsmittel bestehen kaum, teure deuterierte Lösungsmittel sind nur in Zusätzen enthalten und werden nicht in großen Mengen benötigt, da mittels entsprechender Messtechnik mit nicht-deuterten Lösungsmitteln gearbeitet werden kann. Die Messung der 1D <sup>1</sup>H-Spektren erfolgt, je nach Komplexität der Matrix, bei 400 oder 600 MHz und dauert nur wenige Minuten. Das resultierende Spektrum beinhaltet die Signale aller in der Probe vorhandenen organischen Substanzen, d. h. es bildet die qualitative und quantitative Information aller Substanzen der Probe, die über der Nachweisgrenze liegen, ab. Mittels numares-Software werden im Folgenden Signalüberlagerungen verrechnet und so die Signale einzelner Substanzen zugänglich. Nach einmaliger Signalzuordnung mittels Referenzspektren/oder der numares-Datenbank, kann eine voll automatisierte Quantifizierung erfolgen.

Neben der quantitativen Erfassung einzelner Wertkomponenten im Multiparameteransatz, werden mit Hilfe dieser Analyse-Technik auch qualitative Fingerprints der detektierten Pflanzeninhaltsstoffe aufgezeichnet. Diese tiefergehende Charakterisierung von Pflanzenextrakten dient beispielsweise der Klassifizierung einer bestimmten Droge bzw. eines Pflanzenextraktes (z. B. im Vergleich zu einer Referenz-Probe). Auf diese Weise kann z. B. sehr schnell erkannt werden, ob die analysierte Probe unerlaubte Zusätze enthält oder ein von der Spezifikation abweichendes Inhaltsstoff-Profil aufweist. Die Summe an Informationen kann weiterhin genutzt werden, um Stoffwechselprofile zu erstellen und mit eigenen automatisierten Auswerteverfahren relevante Zusammenhänge zu extrahieren. In diesem Rahmen sind neben zielgerichteten Analysen, auch Metabolom-Analysen möglich und erlauben die Beantwortung komplexer Fragestellungen (agronomische Merkmale, Herkunft, heterotische Gruppen, kontrollierte Replikation, u. v. m.).

### **Anwendungsbeispiele**

Obwohl die NMR seit vielen Jahren in zahlreichen wissenschaftlichen Disziplinen eingesetzt wird, finden deren Anwendung auf komplexere biologische Fragestellungen, sowie der Einsatz in der analytischen Routine, erst langsam den Weg in die tägliche und breite Anwendung. Insbesondere in der Lebensmittelanalytik (DAIS und HATZAKIS, 2013; GODELMANN et al., 2013; LACHENMEIER et al., 2009; LACHENMEIER, 2012; MINOJA und NAPOLI, 2014; SPRAUL et al., 2008) und der Diagnostik (eigenes Portfolio) wird aber in den letzten Jahren verstärkt die Vielfältigkeit der NMR genutzt.

Auch im Bereich der Pflanzenanalytik unterstützt numares bereits verschiedene Projekte und Kundenlabore und liefert wertvolle Daten zur Qualität von pflanzlichen Rohstoffen oder Selektionskriterien im Züchtungsprozess.

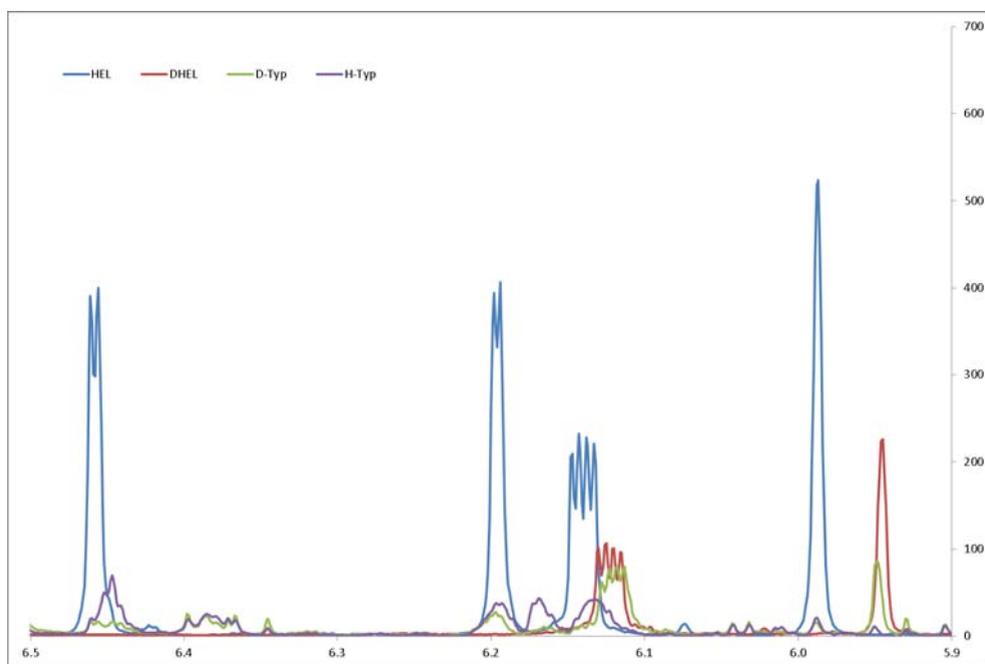
#### **Beispiel – Arnika**

Der Gehalt und das relative Verhältnis der Sesquiterpenlaktone-Gruppen (Helenalide und Dihydro-Helenalide) als Hauptwirkstoffe von *Arnica montana* variiert je nach Herkunft, aber auch zwischen den einzelnen Pflanzenteilen und während der Entwicklung der Pflanze. Mit Hilfe des numares-Systems können beispielsweise Unterschiede in der Wirkstoffverteilung und des relativen Verhältnisses der Helenalin- und Dihydrohelenalin-Verbindungen zueinander umfassend bestimmt werden. Die Möglichkeit, mit dieser Technologie im Hochdurchsatz einfach und

simultan Inhaltsstoffe zu erfassen, ermöglicht die Charakterisierung der unterschiedlichen zu erntenden Pflanzenteile, eine Genotypen-Bestimmung und die Bestimmung des optimalen Erntezeitpunktes.

Diese Informationen werden sowohl in der Züchtung als Selektionskriterien als auch zur Charakterisierung der Drogen herangezogen. Schnellere und umfangreichere Charakterisierungen von Pflanzen und Extrakten sind so möglich.

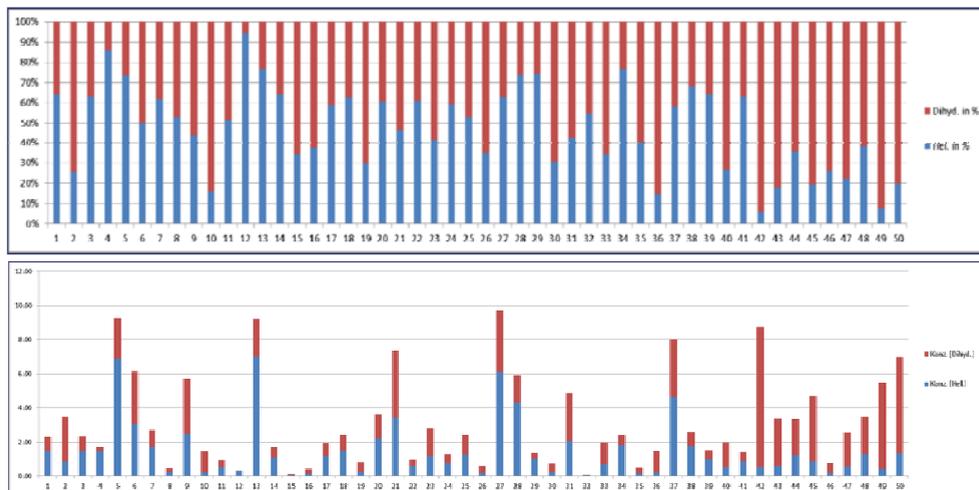
In der Routine werden die Untersuchungen an frisch geernteter und eingefrorener Ware durchgeführt. Die Identifizierung der Helenalin/Dihydrohelenalin-Signale in den NMR-Spektren (methanolisch-wässriger Extrakt) erfolgte gegen Referenzspektren der Sesquiterpenlaktone (Abb. 1). Diese Referenzierung ist nur einmalig nötig. Um die gewünschten Gruppenparameter zu bestimmen wurden Signale aus dem gemeinsamen Grundgerüst der Moleküle selektiert und werden vollautomatisch integriert. Zur Quantifizierung werden im weiteren Verlauf nahezu beliebige, kostengünstige Substanzen als interner Standard verwendet.



**Abb. 1** *Arnica montana* – Spektraler Ausschnitt von Dihydrohelenalin- (rot) und Helenalinmethacrylat (blau) Referenzspektren, sowie zweier Arnika-Frischpflanzenextrakte (D-Typ/H-Typ). Gesamtsesquiterpenlaktongehalt sowie D- und H-Summe können quantifiziert werden.

**Fig. 1** *Arnica montana* – Dihydrohelenaline (red) and Helenalinmethacrylate (blue) reference spectra, and spectra of two arnica fresh plant extracts (D-Typ/H-Typ). Total sesquiterpenlactone content as well as D- and H-sum can be quantified.

Die relativen und absoluten Werte können für über 100 Proben pro Tag ermittelt und dem Züchter bzw. Verarbeiter zur Verfügung gestellt werden. Abb. 2 zeigt exemplarisch das relative Verhältnis von Dihydrohelenaliden zu Helenaliden in 50 Pflanzen, sowie den relativen Gesamtgehalt an Sesquiterpenlaktonen.



**Abb. 2** *Arnica montana* – Verhältnis von Inhaltsstoffen (z. B. Dihydrohelenalin/Helenalin) (oben), sowie Gesamtgehalt (Summe Sesquiterpenlaktone)(unten) auf Einzelpflanzenbasis.

**Fig. 2** *Arnica montana* – ratio of ingredients (eg dihydrohelenaline/helenaline) (top) and total content (sum sesquiterpenolactones) (below) for single plants.

Neben Information auf Einzelpflanzenbasis kann beispielsweise auch die Verteilung der Inhaltsstoffe in der Pflanze bestimmt werden. Tabelle 1 zeigt die relativen Sesquiterpenlaktongehalte in unterschiedlichen Pflanzenorganen zur Zeit der Blüte – gemittelt über 3 Arnika-Klone (des spanischen Chemotyps). Es ist ein weitgehend konstantes Verhältnis der unterschiedlichen Sesquiterpenlaktonformen mit einem hohen Gehalt der Dihydrohelenalinform in allen Proben über alle Organe zu erkennen. Lediglich im mittleren und unteren Stängelbereich sind die Konzentrationen so niedrig, dass sich hier im prozentualen Verhältnis leichte Abweichungen ergeben. Des Weiteren ist zu erkennen, dass die Gehalte in folgender Reihenfolge der Organe abnehmen: Blüte voll aufgeblüht > Blüte Frischdroge (2 Röhrenblütenkränze aufgeblüht) > Knospe = Blatt > Stängel unter der Blüte > Stängel Mitte > Stängel Basis.

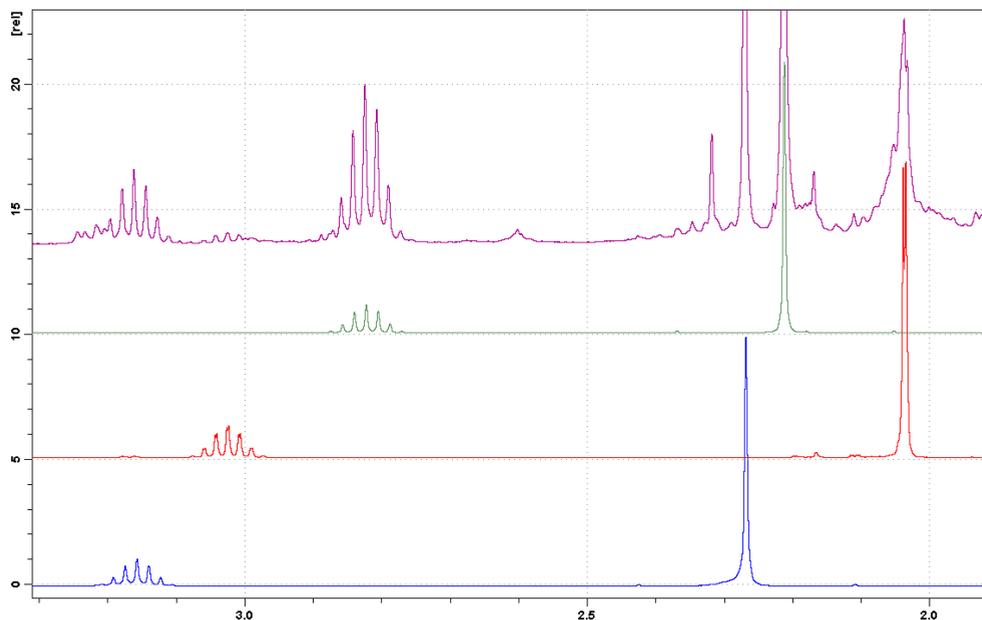
**Tab. 1** Relative Sesquiterpenlaktongehalte in unterschiedlichen Pflanzenorganen zur Zeit der Blüte – gemittelt über 3 Arnika-Klone.

**Tab. 1** Relative Sesquiterpenlactone content in different plant organs at flowering – averaged over 3 arnica clones.

Pflanzenorgan	Rel. Konzentration Dihydrohelenalide (Ø)	% Dihydrohelenalide (Ø)
Knospe	573 ± 59	97 ± 3
Blüte Frischdroge	686 ± 21	94 ± 1
Blüte voll aufgeblüht	1141 ± 118	96 ± 1
Blatt	576 ± 23	97 ± 1
Stängel unter Blüte	274 ± 52	95 ± 2
Stängel Mitte	99 ± 11	93 ± 3
Stängel unten	20 ± 5	74 ± 9

### Beispiel – Oregano

Eine weitere Anwendung auf dem Weg in die Routine ist die Bestimmung des Thymol-, Thymochinon- und Carvacrol-Gehalts in Oreganoproben. Getrocknete und gerebelte Proben (~200 mg) wurden mittels Chloroform extrahiert und die Zielsubstanzen gegen einen internen Standard quantifiziert. Die Identifizierung und Zuordnung der relevanten Signale erfolgte gegen Referenzspektren. Trotz der strukturellen Ähnlichkeit der Substanzen bieten die Extraktsspektren genug Informationen, um die drei Zielsubstanzen zu unterscheiden und einzeln zu erfassen (Abb. 3). Die Methode wurde gegen HPLC-Referenzdaten geprüft ( $R^2 < 0,9$ ). Der lineare Arbeitsbereich erstreckt sich über 5 Größenordnungen, bei einer Nachweisgrenze unter 0,01 % (w/w).

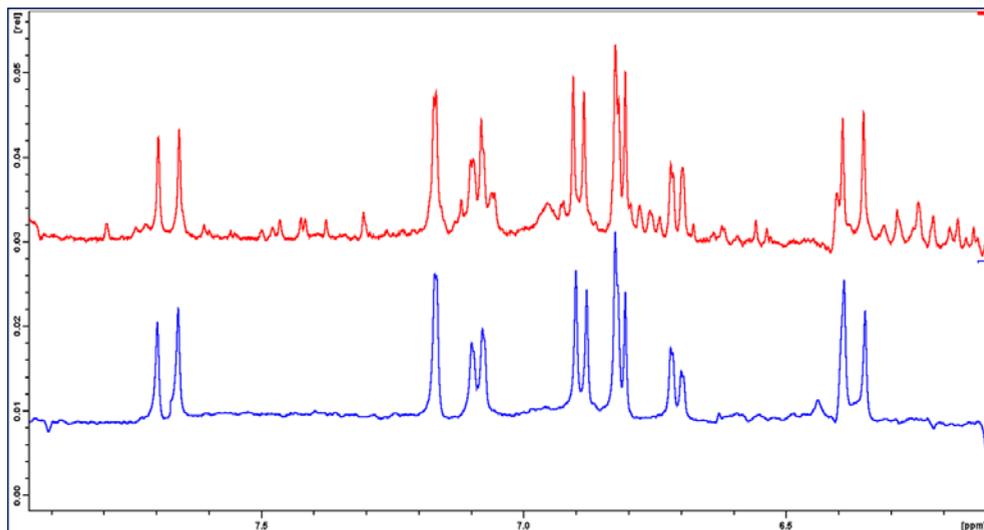


**Abb. 3** *Origanum vulgare* – Pflanzenextrakt (lila) gegen Carvacrol- (grün), Thymochinon- (rot) und Thymol-Referenz (blau).

**Fig. 3** *Origanum vulgare* – Spectra of plant extract (violet), Carvacrol- (green), Thymochinone- (red) and Thymol-reference (blue).

### Weitere Beispiele

Diverse weitere Anwendungen wurden oder werden von numares bearbeitet. Aktuelle Studien an *Glycyrrhiza glabra*, *Echinacea angustifolia*, *Tanacetum parthenium* oder *Baptisia tinctoria* zeigen vielversprechende Resultate. In Abb.4 ist beispielhaft ein methanolisch-wässriger *Echinacea*-Extrakt gegen das Echinacosid-Referenzspektrum aufgetragen. Die relevanten Signale sind eindeutig zuzuordnen und können mittels numares-Software einer Quantifizierung zugänglich gemacht werden.



**Abb. 4** *Echinacea angustifolia* – Pflanzenextrakt (rot, oben) gegen Echinacosid-Referenz (blau, unten).

**Fig. 4** *Echinacea angustifolia* – Spectra of plant extract (red) and Echinacoside-reference (blue).

Die bisherigen eigenen Arbeiten ebenso wie die steigende Zahl an Publikationen (CHAN et al., 2014; KIM et al., 2012; LI et al., 2013; PIERI et al., 2011; PIERI et al., 2012; SIMMLER et al., 2014; TANAKA et al., 2013; VAN DER KOOP et al., 2009; WISHART, 2013), zeigen das große Potenzial der NMR auch für die Arznei- und Gewürzpflanzenanalytik. Das analytische Repertoire, das nötig ist um aktuelle aber auch neue Aufgabenstellungen und höhere Probenzahlen bearbeiten zu können, wird in den nächsten Jahren durch diese Technologie sicherlich um einen weiteren vielfältigen Player ergänzt.

## Literatur

- CHAN, P.H., ZHANG, W.L., CHEUNG, C.Y., TSIM, K.W. und H. LAM, 2014: Quality Control of Danggui Buxue Tang, a Traditional Chinese Medicine Decoction, by-NMR Metabolic Profiling. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2014: 567893.
- DAIS, P. und E. HATZAKIS, 2013: Quality assessment and authentication of virgin olive oil by NMR spectroscopy: A critical review. *Anal. Chim. Acta* **765**: 1–27.
- GODELMANN, R., FANG, F., HUMPFER, E., SCHÜTZ, B., BANSBACH, M., SCHÄFER, H. und M. SPRAUL, 2013. Targeted and Nontargeted Wine Analysis by 1H NMR Spectroscopy Combined with Multivariate Statistical Analysis. Differentiation of Important Parameters: Grape Variety, Geographical Origin, Year of Vintage. *J. Agric. Food Chem.* **61** (23): 5610–5619.
- KIM, H.E., CHOI, Y.H., CHOI, K.H., PARK, J.S., KIM, H.S., JEON, J.H. und J.H. LEE, 2012: Metabolic classification of herb plants by NMR-based metabolomics. *Journal of the Korean Magnetic Resonance Society* **16**(2): 91–102.
- LACHENMEIER, D., HUMPFER, E., FANG, F., SCHÜTZ, B., DVORTSAK, P., SPROLL, C. und M. SPRAUL, 2009: NMR Spectroscopy for nontargeted screening and simultaneous quantification of health-relevant compounds in foods: The example of melamine. *J. Agric. Food Chem.* **57**: 7194–7199.
- LACHENMEIER, D., 2012: (CVUA Karlsruhe) Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)-Profiling in der Lebensmittelüberwachung. 13. BfR-Forum Verbraucherschutz, 14.06.2012.
- LI, W., RUAN, C.-J., TEIXEIRA DA SILVA, J.A., GUO, H. und C.E. ZHAO, 2013: NMR metabolomics of berry quality in sea buckthorn (*Hippophae* L.). *Mol. Breeding* **31**(1): 57–67.
- MINOJA, A.P. und C. NAPOLI, 2014: NMR screening in the quality control of food and nutraceuticals. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.04.056.
- PIERI, V., BELANCIC, A., MORALES, S. und H. STUPPNER, 2011: Identification and Quantification of Major Steviol Glycosides in *Stevia rebaudiana* Purified Extracts by 1H NMR Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* **59**(9): 4378–4384.
- PIERI, V., STURM, S., SEGER, C., FRANZ, C. und H. STUPPNER, 2012: 1H NMR-based metabolic profiling and target analysis: a combined approach for the quality control of *Thymus vulgaris*. *Metabolomics* **8**(2): 335–346.
- SIMMLER, C., NAPOLITANO, J.G., McALPINE, J.B., CHEN, S. und G.F. PAULI, 2014: Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples. *Curr. Opin. in Biotechnol.* **25**: 51–59.

- SPRAUL, M., HUMPFER, E., SCHÄFER, H., SCHÜTZ, B., MÖRTTER, M. und P. RINKE, 2008: NMR-Based Mixture Analysis on the Example of Fruit Juice Quality Control Using Statistics and Quantification. In: Holzgrabe, U., Wawer, I. und B. Diehl, B. (Eds.): *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*. Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, S 319–339.
- TANAKA, R., YAMAZAKI, M., HASADA, K. und A. NAGATSU, 2013: Application of quantitative <sup>1</sup>H-NMR method to determination of paeoniflorin in *Paeoniae radix*. *J. Nat. Med.* **67** (3): 657–661.
- VAN DER KOOY, F., MALTESE, F., CHOI, Y.H., KIM, H.K. und R. VERPOORTE, 2009: Quality Control of Herbal Material and Phytopharmaceuticals with MS and NMR Based Metabolic Fingerprinting. *Planta Med.* **75**(7): 763–775.
- WISHART, D.S., 2013: Characterization of biopharmaceuticals by NMR spectroscopy. *Trends Analyt. Chem.* **48**: 96–111.

## ESL 23 CO<sub>2</sub> – ein ‚grünes‘ Lösemittel für die Gewinnung naturreiner, empfindlicher Phytoextrakte

CO<sub>2</sub> – a green solvent for the recovery of sensitive plant ingredients

**Dieter Gerard**

Nordstrasse 7, 66780 Rehlingen-Siersburg, Deutschland  
dg@flavex.com



DOI 10.5073/jka.2014.446.023

### Zusammenfassung

Pflanzenextrakte werden in vielen Feldern des menschlichen Lebens genutzt. Phytoextrakte finden ihre Anwendung als Flavourings in Lebensmitteln, sind Wertstoffe in Functional Food und Nutraceuticals oder zeigen ihre Wirksamkeit in Phytopharmaka. Ein nicht zu unterschätzender Markt für Pflanzenextrakte ist auch der Bereich Parfümerie und Kosmetik.

Entsprechend der europäischen Gesetzgebung ist nur eine kleine Zahl von Lösemitteln zur Gewinnung der Extrakte erlaubt. Für zertifiziert ökologische Produkte sind es sogar nur die Stoffe Wasser, Ethanol und Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>). Bei der Extraktion pflanzlicher Rohstoffe orientiert man sich bei der Wahl des Lösemittels an den gewünschten, zu gewinnenden Wertstoffen des Pflanzenmaterials. Die rein lipophilen und wenig polaren Komponenten lassen sich mit reinem CO<sub>2</sub> gewinnen. Die CO<sub>2</sub>-Extraktion ist als schonendes Verfahren zur Gewinnung von Phytoextrakten aus Arzneipflanzen und Gewürzen sowie von wertvollen fetten Ölen bereits seit Jahren etabliert.

Polarität:	unpolar		polar	wasserlöslich
	Öle	Sterole	Flavonoide	Zucker
	Fette	Phospholipide	Phenole	Glykoside
Lösemittel:	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub> /EtOH	EtOH	H <sub>2</sub> O

Wenn die Gewinnung etwas polarerer Komponenten wie Sterole oder Phospholipide gewünscht ist, dann ist es von Vorteil dem Extraktionsmittel CO<sub>2</sub> einige Prozente an Ethanol beizumischen. Mit einem Gehalt von 10 bis 15 % Ethanol im CO<sub>2</sub> ist es möglich Phospholipide zu gewinnen, die in reinem CO<sub>2</sub> vollständig unlöslich sind.

Zur Gewinnung polarerer pflanzlicher Wirkstoffe wie Flavonoide oder phenolischer Komponenten ist ein polares Lösemittel nötig. Um bei den grünen Lösemitteln zu bleiben, bietet sich für diese Anwendung Ethanol an. Eine weiter steigende Polarität des gewünschten Extraktes erfordert die Zugabe von Wasser zum Ethanol oder sogar eine Wasserextraktion. Polare und wasserlösliche Extrakte sind aber nicht der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit.

Was ist darunter zu verstehen: CO<sub>2</sub> – ein Lösemittel!

Kohlendioxid – CO<sub>2</sub> ist das Gas, das man aus Erfrischungsgetränken kennt und das als Stoffwechselprodukt der Atmung im natürlichen Kreislauf vorkommt. CO<sub>2</sub> als Lösemittel ist nicht toxisch, geruch-, geschmack- und farblos, es ist inert, nicht brennbar und hinterlässt keine unerwünschten Rückstände in den Extrakten.

Um es jedoch als Extraktionsmittel einsetzen zu können, muss das Extraktionsgut zusammen mit dem CO<sub>2</sub> in Hochdruckanlagen handgehabt werden, da CO<sub>2</sub> erst unter hohen Drücken Lösungseigenschaften gewinnt. Die Technologie der ‚Supercritical‘ CO<sub>2</sub> Extraktion also der Nutzung von Kohlendioxid im überkritischen Zustand als Extraktionsmittel ist ausreichend bekannt. Der Extraktionsprozess wird möglich durch Änderung der Verfahrensbedingungen Druck

und Temperatur, wobei das CO<sub>2</sub> seine Aggregatzustände flüssig, überkritisch und gasförmig wechselt. Das flüssige CO<sub>2</sub> wird gepumpt, im überkritischen Zustand löst es die Inhaltsstoffe aus der pflanzlichen Matrix. Durch den Übergang in die Gasform verliert es seine Lösungskraft, die Extraktstoffe werden abgetrennt und schließlich wird durch Kondensation das gasförmige CO<sub>2</sub> wieder verflüssigt und damit der Extraktionskreislauf geschlossen.

Ein bisher oft zu hörender Nachteil der Hochdruckextraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> sind hohe Investitionskosten in Apparate und Anlagen, die dazu führen sollen, dass die gewonnenen Phytoextrakte teuer sind. Die Devise dagegen lautet – Beste Qualität vom Anfang bis zum hochkonzentrierten reinen Extrakt.

Nur das bestmögliche pflanzliche Ausgangsmaterial ist gut genug für hochwertige Phytoextrakte. Die Wertschöpfungskette beginnt mit der Selektion des genetischen Pflanzenmaterials und geht über den optimalen Anbau und ausgesuchte Nacherntetechniken. Die ständige Kontrolle der Energieeffizienz und die Anwendung optimierter Prozesse in der Vorbereitung zur Extraktion, der Extraktionsverfahren selbst und auch die Verfeinerung der Extraktaufarbeitung optimieren die Produktionskosten. Die Kooperation von Agrarwissenschaftlern, Prozess- und Chemieingenieuren, Biologen und Chemikern fördert ein möglichst vollständiges Verstehen des ‚Stammbaums‘ des Phytoextraktes und das ist eine wichtige Voraussetzung für kostenoptimierte, wirksame Produkte.

An einigen Beispielen aus dem Bereich der Arznei- und Gewürzpflanzen wird die schonende Verfahrensweise der Hochdruckextraktion mit überkritischem Kohlendioxid demonstriert. So können mit dieser Methode die thermolabilen Kamilleninhaltsstoffe gewonnen werden. Wenn über wirksame Inhaltsstoffe wie Bisabolol oder Matricin gesprochen wird, so sollten diese Stoffe auch in den Produkten wiedergefunden werden. Am Beispiel der Gewinnung des ätherischen Öles aus Majoran wird gezeigt, dass die genuin vorliegenden Terpenalkohole unzersetzt gewonnen werden, die sich bei der Wasserdampfdestillation der Wiederfindung entziehen. Das Aroma des Majoran-CO<sub>2</sub>-Extraktes lässt den Begutachter das frische Blatt wiedererkennen. Durch die Anwendung des CO<sub>2</sub>-Verfahrens zur Herstellung von Extrakten aus Oreganoblättern kann ein hoher Gehalt an den gesundheitsfördernden Wirkstoffen Thymochinon und Carvacrol realisiert werden. Bei alternativen Gewinnungsverfahren wird insbesondere das thermolabile und oxidationsempfindliche Thymochinon stark reduziert.

Stichwörter: Hochdruckextraktion mit CO<sub>2</sub>, grünes Lösemittel, Phytoextrakte, NEM, Nutraceuticals

### **Abstract**

Plant extracts are used in many fields of human life. The use in flavourings for food, in functional foods or nutraceuticals demands for 100 % natural extracts. The versatile CO<sub>2</sub>-extraction technology can help to satisfy the demands for tailor-made highly concentrated pure extracts. CO<sub>2</sub> extracts, with their unique spectrum of ingredients, offer new possibilities especially where quality and added value are important.

Keywords: Supercritical CO<sub>2</sub> extraction, green solvent, phytoextracts, nutraceuticals, health food

## **ESL 24 Charakterisierung von Arznei- und Gewürzpflanzen durch Festphasenextraktion**

*Charakterisation of medicinal and aromatic plants by solid phase extraction*

**Hans Krüger**

Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz des Julius Kühn-Institutes (JKI), Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland  
hans.krueger@jki.bund.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.024

### **Zusammenfassung**

Extraktion und Destillation, zuweilen auch die Kombination von beiden, sind klassische Probenvorbereitungstechniken zur Analyse von Sekundärstoffpflanzen. Die Extraktion mit organischen Lösungsmitteln selektiert aber kaum zwischen nichtflüchtigen und den für viele Arznei- und Gewürzpflanzen typischen, flüchtigen Verbindungen. In den letzten Jahren wurden zum Nachweis flüchtiger Verbindungen oftmals Mikrotechniken eingesetzt (SPME-solid phase microextraction oder SBSE-stir bar sorptive extraction), welche sich durch hohe Empfindlichkeit gegenüber den Analyten auszeichnen, für quantitative Analysen aber nur begrenzt einsetzbar sind. Zur quantitativen Bestimmung ätherischer Öle in Drogen wird daher nach wie vor die Hydrodestillation als Methode herangezogen, obwohl auch hier eine Diskriminierung wasserlöslicher und thermisch empfindlicher Substanzen stattfinden kann. Am Beispiel verschiedener Drogen wird die Kombination von Hydrodestillation mit RP18-Festphasenkartuschen vorgestellt. Die Kombination ist geeignet, Mikrodestillationen und Hydrodestillationen ohne Kohobation durchzuführen sowie Verlustabschätzungen für wasserdampfliche Substanzen bei technischen Wasserdampfdestillationen vorzunehmen.

Stichwörter: SPE, Hydrodesillation, Arznei- und Gewürzpflanzen

---

## Themenkreis F: Pharmazeutische Biologie und Anwendungen

---

### **FPL 25 Drugs from Nature Targeting Inflammation (DNTI) – Ein erfolgreiches interdisziplinäres Österreichisches Netzwerk-Projekt**

*Drugs from Nature Targeting Inflammation (DNTI) – A successful interdisciplinary Austrian network project*

#### **Hermann Stuppner**

Institut für Pharmazie/Pharmakognosie, CCB, Universität Innsbruck,  
Innrain 80-82, 6020 Innsbruck, Österreich  
hermann.stuppner@uibk.ac.at



DOI 10.5073/jka.2014.446.025

#### **Zusammenfassung**

Entzündungen sind Reaktionen des Organismus auf die Einwirkung von unterschiedlichen Reizen, die physikalisch chemischer Art sein können, oder auf Infektionserreger und maligne Neoplasmen zurückzuführen sind. Entzündungen spielen bei einer Vielzahl von Krankheitsbildern wie z. B. Arthritis, Atherosklerose, dem metabolischen Syndrom, Sepsis, Allergien und Autoimmunerkrankungen oder Krebs eine essentielle Rolle. Im Rahmen eines Nationalen Forschungsnetzwerkes arbeiten Wissenschaftler der Universität Innsbruck, der Universität Wien, der Medizinischen Universität Wien, der Veterinärmedizinischen Universität Wien, der Technischen Universität Wien und der Universität Graz zusammen. Finanziert wird das Projekt durch den Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Förderperiode 2008-2014). Zusätzliche Unterstützung erfolgt durch die Standardagentur Tirol. Ziel dieses nationalen Netzwerkes ist die Identifizierung und Charakterisierung von bioaktiven Naturstoffen für die Behandlung entzündlicher Erkrankungen speziell im Bereich des kardiovaskulären Systems. Die Identifizierung und Isolierung von entzündungshemmenden Naturstoffen erfolgt auf Basis von Computertechniken, wie Pharmakophor-Modelling und virtuellem Screening von Naturstoffdatenbanken (molekularer Ansatz) sowie der volksmedizinischen Anwendung von Heilpflanzen (ethnopharmakologischer Ansatz). Wirkstoffkandidaten beider Ansätze werden in In-vivo-Modellen sowie mechanistischen Studien in vitro untersucht. Struktur-Wirkungsbeziehungen isolierter oder synthetisierter Strukturanaloga aktiver Naturstoffe werden analysiert.

Stichwörter: DNTI, Entzündung, Naturstoffe

#### **Abstract**

Inflammation is the body's response to tissue injury, either physical (mechanical, irradiation), by infectious agents, or by malignant or altered normal cells. Thus, various and at first glance diverse pathological conditions involve inflammation. These include arthritis, atherosclerosis, the metabolic syndrome, sepsis, allergies and auto-immune diseases or even cancer. In the course of an ongoing Austrian research network project involving scientists from the University of Innsbruck, the University of Vienna, the Medical University of Vienna, University of Veterinary Medicine Vienna, Vienna University of Technology and the University of Graz. The project is financed (2008-2014 programming period) by the Austrian Science Fund. Additional support is provided by the standard agency Tyrol. The aim of this project is to identify and characterize natural products (NPs) capable to combat inflammatory processes and disorders associated with inflammation. This goal is approached by a unique combination of strategies e.g. i) virtual screening of NP databases using structure- or ligand-based pharmacophore models to identify bioactive NPs against selected anti-inflammatory targets, ii) parallel pharmacophoric profiling to predict desired but also unwanted bioactivities of single NPs and to provide suggestions for their pharmacological mechanisms of action and iii) exploitation of indigenous knowledge of medicinal plants to select promising candidates for phytochemical and subsequent pharmacological investigation.

Keywords: DNTI, inflammation, natural products

#### **Einleitung**

Die Einführung von Hochdurchsatz-Strategien gegen Ende des 20. Jhds führte die Wirkstoffsuche zu einer nie gekannten Effizienz. Heute enttäuscht die geringe Zahl neuer Arzneimittel und zeigt,

dass effiziente Strategien nicht notwendigerweise effektiv sind. Neue Konzepte zur Steigerung der Effektivität in der Wirkstoffsuche sind daher notwendig. Die Entzündung ist Teil zahlreicher Erkrankungen, wie der Atherosklerose, dem Metabolischen Syndrom, der Sepsis oder Krebserkrankungen. Für keine dieser Erkrankungen existiert eine zufrieden stellende Therapie. Naturstoffe waren stets eine wichtige Quelle von neuen Leitstrukturen für Arzneimittel. Ca. 60 % der neuen Arzneistoffe basierten in den letzten 20 Jahren auf molekularen Strukturen natürlichen Ursprungs (NEWMAN und CRAGG, 2012). Ziel dieses nationalen Netzwerkes ist die Identifizierung und Charakterisierung von bioaktiven Naturstoffen für die Behandlung entzündlicher Erkrankungen speziell im Bereich des kardiovaskulären Systems.

## Material und Methoden

Die Identifizierung von aktiven Naturstoffen erfolgt über den kombinierten Einsatz von Computertechniken, wie Pharmakophor-Modelling und virtuellem Screening von Naturstoff-Datenbanken (computational approach) sowie der bio-aktivitätsgeleiteten Fraktionierung von über tradiertem Wissen ausgewählten Heilpflanzen (ethnopharmakologischer Ansatz). Wirkstoffkandidaten beider Ansätze werden *in vivo* sowie mechanistischen Studien und einer weiteren virtuellen Profilierung über verfügbare Pharmakophormodelle zugeführt. Isolierte oder synthetisierte Strukturanaloga von aktiven Naturstoffen werden für die Analyse von Struktur-Wirkungsbeziehungen zur Verfügung gestellt. Extrakte ausgewählter Genera werden, begleitet von entsprechenden biologischen Testungen, einem IR-, LC-MS-, und NMR-basierten Metabolic Profiling unterzogen, um einzelne oder mehrere aktive Komponenten im Extrakt zu identifizieren.

## Ergebnisse

Im Rahmen von DNTI wurde bereits eine Vielzahl neuer natürlicher Wirkstoffkandidaten entdeckt, die zur Entwicklung innovativer Therapien gegen Entzündungsprozesse, insbesondere im Herz-Kreislauf-System, beitragen können. Leoligin aus dem Gewöhnlichen Alpen-Edelweiß (*Leontopodium nivale* subsp. alpinum) wurde als Wirkstoff gegen Gefäßwandverdickungen entdeckt; die Synthese von Strukturanaloga führte zur signifikanten Verbesserung der biologischen Aktivität. Entzündungshemmende Flechteninhaltsstoffe wurden als mPGES-1 Hemmer identifiziert. Selektive mPGES-1 Inhibitoren sollen wenig bzw. nicht die Nebenwirkungen aufweisen, wie sie typischerweise mit COX-Inhibitoren in Verbindung gebracht werden. Auch Plumericin aus dem Regenwaldbaum *Himatanthus sucuuba*, Honokiol aus der Magnolie (*Magnolia officinalis*), Polyacetylderivate aus der Gebirgsangelikawurzel (*Notopterygium incisum*), Isosilybin A aus der Mariendistel (*Silybum marianum*), oxidierte Fettsäuren aus Waldreben (*Clematis*) und Substanzen aus der Afrikanischen Teufelskralle (*Harpagophytum procumbens*) und aus Ratanhia (*Krameria lappacea*) wurden als neue, vielversprechende entzündungshemmende Naturstoffe mit verschiedenen molekularen Angriffspunkten identifiziert [REISINGER et al., 2009; BAUMGARTNER et al., 2011; BAUER et al., 2012; ATANASOV et al., 2013; FAKHRUDIN et al., 2014; www.uibk.ac.at].

## Literatur

- BAUER J., WALTENBERGER B., NOHA S.M., SCHUSTER D., ROLLINGER J.M., BOUSTIE J., CHOLLET M., STUPPNER H. und O. WERZ, 2012: Discovery of Depsides and Depsidones from Lichen as Potent Inhibitors of Microsomal Prostaglandin E2 Synthase-1 Using Pharmacophore Models. *ChemMedChem* **7**(12): 2077-2081.
- NEWMAN, D.J. und G.M. CRAGG, 2012. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J Nat Prod*, **75**: 311-335.
- REISINGER U., SCHWAIGER S., ZELLER I., MESSNER B., STIGLER R., WIEDEMANN D., MAYR T., SEGER C., SCHACHNER T., DIRSCH V.M., VOLLMAR A. M., BONATTI J.O., STUPPNER H., LAUFER G. und D. BERNHARD, 2009: Leoligin, the major lignan from Edelweiss, inhibits intimal hyperplasia of venous bypass grafts. *Cardiovascular Research* **82**(3): 542-549.
- FAKHRUDIN N., WALTENBERGER B., CABARAVDIC M., ATANASOV A.G., MALAINER C., SCHACHNER D., HEISS E.H., LIU R., NOHA S.M., GRZYWACZ A.M., MIHALY-BISON J., AWAD E.M., SCHUSTER D., BREUSS J.M., ROLLINGER J.M., BOCHKOV V., STUPPNER H. und V.M. DIRSCH, 2014: Identification of plumericin as a potent new inhibitor of the NF- $\kappa$ B pathway with anti-inflammatory activity *in vitro* and *in vivo*. *British Journal of Pharmacology* **171**(7): 1676-1686.

- ATANASOV A.G., WANG J.N., GU S.P., BU J., KRAMER M.P., BAUMGARTNER L., FAKHRUDIN N., LADURNER A., MALAINER C., VUORINEN A., NOHA S.M., SCHWAIGER S., ROLLINGER J.M., SCHUSTER D., STUPPNER H., DIRSCH V.M. und E.H. HEISS, 2013: Honokiol: A non-adipogenic PPAR $\gamma$  agonist from nature. *Biochimica et Biophysica Acta* **1830**(10): 4813-4819.
- Baumgartner L., SOSA S., ATANASOV A.G., BODENSIECK A., FAKHRUDIN N., BAUER J., DEL FAVERO G., PONTI C., HEISS E.H., SCHWAIGER S., LADURNER A., WIDOWITZ U., DELLA LOGGIA R., ROLLINGER J.M., WERZ O., BAUER R., DIRSCH V.M., TUBARO A. und H. STUPPNER, 2011: Lignan Derivatives from *Krameria lappacea* Roots Inhibit Acute Inflammation in Vivo and Pro-inflammatory Mediators in Vitro. *Journal of Natural Products* **74**(8): 1779-1786.
- <http://www.uibk.ac.at/pharmazie/pharmakognosie/dnti/>

## **FSL 26 Regulationsmechanismen der Ausprägung von Chemotypen in Thymian (*Thymus vulgaris*)**

*Mechanisms of chemotype formation in thyme (*Thymus vulgaris*)*

**Jette Schimmel, Sandra Krause, Natalie Arndt und Jörg Degenhardt**

Martin-Luther-Universität Halle, Institut für Pharmazie, Hoher Weg 8, 06120 Halle, Deutschland  
joerg.degenhardt@pharmazie.uni-halle.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.026

### **Zusammenfassung**

Das ätherische Öl von Thymianarten hat aufgrund seiner starken antibakteriellen Wirkung vielfältige Anwendungen in der Pharmazie und der Lebensmittelindustrie. Die wertvollsten antibakteriellen Inhaltsstoffe des ätherischen Öls, die Monoterpenalkohole Carvacrol und Thymol, werden nur in einigen Kultivaren des Thymians gebildet und unterliegen einer komplizierten genetischen Kontrolle. Wir wollen die Regulation der Terpenproduktion in Thymian mit molekularen Methoden aufklären und die Züchtung von Thymianarten mit genau definiertem Terpengehalt ermöglichen.

Stichwörter: Terpensynthese, Monoterpene, Chemotypen, Thymian

### **Abstract**

The essential oil of thyme has a strong antibacterial effect and is utilized in pharmaceutical applications as well as food production. Especially the phenolic monoterpene alcohols thymol and carvacrol are valuable due to their antibacterial, antiseptic and spasmolytical effects. Production of these compounds is subjected to a complex genetic control and found only in some cultivars of thyme. We study the molecular basis of terpene production to elucidate the mechanisms of chemotype formation.

Keywords: Terpene biosynthesis, monoterpenes, chemotypes, thyme

### **Einleitung**

Das ätherische Öl von Thymian (*Thymus vulgaris*) variiert stark innerhalb der Art, wobei eine Anzahl von charakteristischen Ölzusammensetzungen, die sogenannten Chemotypen, wiederholt auftreten. Ein gutes Modellsystem für die Untersuchung der Chemotypbildung sind sechs Chemotypen des echten Thymians (*Thymus vulgaris*) aus Südfrankreich. Ihr ätherisches Öl ist durch ein dominierendes Monoterpen charakterisiert, das in den jeweils anderen Chemotypen nicht oder nur in Spuren vorkommt. In Kreuzungsversuchen zeigte sich, dass die sechs Chemotypen in einem dominant-rezessiven Verhältnis zueinander stehen und eine epistatische Reihe bilden. Der Geranioltyp (G) ist dominant über alle anderen Chemotypen. Es folgen mit dem  $\alpha$ -Terpineoltyp (A), dem *trans*-Sabinenhydrattyp (U) und dem Linalooltyp (L) weitere Chemotypen, die durch ein nicht-phenolisches Hauptmonoterpen charakterisiert sind. Am Ende der epistatischen Reihe stehen mit dem Carvacroltyp (C) und dem Thymoltyp (T) zwei Chemotypen, die phenolische Hauptmonoterpene bilden. Der Thymoltyp als rezessiver Chemotyp entsteht demnach nur bei der Kreuzung zweier T-Typen.

Die letzten Jahrzehnte konventioneller Züchtung von Thymian haben eine deutliche Verbesserung des ätherischen Öls gebracht, aber eine weitere Steigerung des Gehaltes und eine Verbesserung der Qualität der ätherischen Öle sind vermutlich nur durch gerichtete Züchtung mit molekularen Markern möglich. Das Verständnis der molekularen Grundlagen der Terpenbiosynthese hilft, die komplexen Mechanismen der Chemotypbildung zu erklären und liefert molekulare Marker, die in Züchtungsprogrammen eingesetzt werden können und den vorwiegend ländlichen Ölproduktionsstätten in Deutschland, Portugal und anderen Ländern helfen können.

## Material und Methoden

Es wurde mit verschiedenen Kultivaren des echten Thymians (*Thymus vulgaris*) gearbeitet, die von John D. Thompson (CNRS Montpellier) zur Verfügung gestellt wurden. Diese Pflanzen exprimierten jeweils den Geranioltyp (G),  $\alpha$ -Terpineoltyp (A), *trans*-Sabinenhydrattyp (U), Linalooltyp (L), Carvacroltyp (C) und Thymoltyp (T). Die Kultivierung der *Thymus vulgaris*-Chemotypen erfolgte im Gewächshaus unter folgenden Bedingungen: 13 h Tag, Temperatur Tag: 20-22 °C, Temperatur Nacht: 18-20 °C, Luftfeuchte ca. 55 %. Um einen jahreszeitlichen Rhythmus zu gewährleisten, wurde von Dezember bis März eine Winter-Temperatur von ca. 15 °C eingestellt. Zu den molekularbiologischen Methoden zählten die Isolation von genomischer RNA und DNA und der Herstellung von Genbanken. Zur Klonierung und heterologen Expression wurden molekulare Standardverfahren genutzt und die Transkriptmengen von Genen mit quantitativer real time polymerase chain reaction bestimmt.

## Ergebnisse

Um Mechanismen zu identifizieren, die zu der Ausprägung der Chemotypen führen, sollten die Enzyme der Terpenbiosynthese identifiziert werden, die für die Produktion der jeweiligen Monoterpene verantwortlich sind. Biochemische Untersuchungen deuteten darauf hin, dass die meisten Monoterpene von Terpensynthasen und Monooxygenasen produziert werden (Polouse und Croteau, 1978, 1978a). Aus den jeweiligen Chemotypen wurden Monoterpensynthasen identifiziert und hinsichtlich ihres Produktspektrums charakterisiert. Die identifizierten Enzyme produzierten die Hauptmonoterpene sowie weitere Bestandteile des ätherischen Öls der jeweiligen Chemotypen. Um die Rolle der Chemotypbildung durch allelischen Polymorphismus zu untersuchen, wurde das Strukturgen der  $\gamma$ -Terpinensynthase TvTPS2 von dem Genom aller Chemotypen isoliert. Alle Chemotypen kodieren mindestens ein enzymatisch aktives Allel TvTPS2, obwohl die Produkte dieses Gens nur in zwei Chemotypen gebildet werden. Allelischer Polymorphismus ist deshalb nicht ausreichend, um die Ausprägung der Chemotypen zu bestimmen. Die katalytischen Eigenschaften der verschiedenen Monoterpensynthasen sind relativ ähnlich, so dass sie nicht zur Bildung der Epistasie beitragen können (Krause et al., 2012). Anschließend wurde die Expression der Terpensynthasen in den verschiedenen Chemotypen untersucht. Die Gene wurden nahezu ausschließlich in den Chemotypen transkribiert, in denen die Enzymprodukte einen hohen Anteil am Gesamtterpengehalt haben. Die differentielle Expression der Terpensynthasen bestimmt daher die Ausprägung eines Chemotyps.

Weitergehend wurde untersucht, welche Mechanismen die Expression der Gene steuert. Ein Fragment des Promotors der  $\gamma$ -Terpinensynthase TvTPS2 wurde aus allen Chemotypen über Genome Walking identifiziert und hinsichtlich ihrer regulatorischen Elemente untersucht. Da in der genomischen Sequenz des Gens und in dessen Promotorregion keine Erklärung für die differentielle Expression in den Chemotypen gefunden werden konnte, sind vermutlich transbindende Faktoren für den Regulationsmechanismus verantwortlich.

## Literatur

- CROCOLL, C., ASBACH, J., NOVAK, J., GERSHENZON, J. und J. DEGENHARDT, 2010: Terpene synthases of oregano (*Origanum vulgare* L.) and their roles in the pathway and regulation of terpene biosynthesis. *Plant molecular biology* **73**: 587-603.
- DEGENHARDT, J., KÖLLNER, T.G. und J. GERSHENZON, 2009: Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry* **70**: 1621-1637.
- GRANGER, R. und J. PASSET, 1973: *Thymus vulgaris* spontane de France: Races chimiques et chemotaxonomie. *Phytochemistry* **12**: 1683-1691.
- KRAUSE, S.T., KÖLLNER, T.G., ASBACH, J. und J. DEGENHARDT, 2012: Stereochemical mechanism of two sabinene hydrate synthases forming antipodal monoterpenes in thyme (*Thymus vulgaris*). *Archives of biochemistry and biophysics* **529**: 112-121.
- LIMA, A.S., SCHIMMEL, J., LUKAS, B., NOVAK, J., BARROSO, J.G., FIGUEIREDO, A.C., PEDRO, L.G., DEGENHARDT, J. und H., TRINDADE, 2013: Genomic characterization, molecular cloning and expression analysis of two terpene synthases from *Thymus caespititius* (Lamiaceae). *Planta* **238**: 191-204.
- POULOSE, A. und R. CROTEAU R, 1978a:  $\gamma$ -Terpinene synthetase: A key enzyme in the biosynthesis of aromatic monoterpenes. *Archives of biochemistry and biophysics* **191**: 400-411.

POULOSE, A. und R. CROTEAU, 1978b: Biosynthesis of aromatic monoterpenes: Conversion of  $\gamma$ -terpinene to p-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. Archives of biochemistry and biophysics **187**: 307-314.

THOMPSON, J.D., MANICACCI, D. und M.L. TARAYRE, 1998: Thirty-five years of thyme: a tale of two polymorphisms. BioScience **48**: 805-815.

## **FSL 27 Karies- und Erosionsschutz durch Thymian? *In vitro* und *in situ* Untersuchungen zur Wirksamkeit**

*Thyme for caries and erosion protection? In vitro and in situ investigations for efficacy testing*

**Gesche Wittpahl<sup>1</sup>, Franziska Gaunitz<sup>1</sup>, Alexandra Gleß<sup>1</sup>, Isabelle Kölling-Speer<sup>1</sup>, Sabine Basche<sup>2</sup>, Sandra Pötschke<sup>2</sup>, Christian Hannig<sup>2</sup>, Karl Speer<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Technische Universität Dresden, Professur für Spezielle Lebensmittelchemie und Lebensmittelproduktion, Bergstraße 66, 01067 Dresden, Deutschland.  
karl.speer@chemie.tu-dresden.de, Tel. 0351 / 463 331 32

<sup>2</sup>Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Professur für Kariologie, Zahnhartsubstanzlehre und Endodontie



DOI 10.5073/jka.2014.446.027

### **Zusammenfassung**

Thymian ist Bestandteil vieler Mundwässer und Zahnpasten. Neben seiner erfrischenden und aromatischen Wirkung werden auch antibakterielle Eigenschaften diskutiert. Insbesondere für *Streptococcus mutans* – den Leitkeim der Kariogenese – konnten für das ätherische Öl von *Thymus vulgaris* bereits *in vitro* antibakterielle Wirkungen nachgewiesen werden. Neben *T. vulgaris* kommen laut dem europäischen Arzneibuch allerdings auch *T. zygis* sowie *T. serpyllum* s.l. für den Einsatz als Arzneidroge in Frage.

Daher wurden die ätherischen Öle von *T. vulgaris*, *T. zygis*, *T. serpyllum* s.l. und auch *T. pulegioides* durch Wasserdampfdestillation extrahiert und mit GC-MS/MS bzw. GC-FID charakterisiert und quantifiziert. Hier gelang mit Hilfe von Standardsubstanzen, Massenspektren, Retentionsindices, Literaturdaten und dem Vergleich mit der NIST-Datenbank die Identifizierung von 60 Verbindungen. Ferner wurden die Öle auf ihre *in vitro* antibakterielle Wirkung gegen *Streptococcus mutans* untersucht. Neben dem weit verbreiteten Trübungstest und der CFU-Bestimmung wurde auch ein schnelles Vitalfärbeverfahren (LIVE/DEAD®BaCLight™) eingesetzt. Alle untersuchten Öle hatten eine gute antibakterielle Wirkung.

Neben den ätherischen Ölen stehen in der Mundhygiene auch wasserlösliche Polyphenole im Fokus. Forschungen ergaben eine sehr gute antibakterielle Wirkung der Polyphenole in *Camellia sinensis* sowie in *Cistus incanus*. Für wässrige Thymian-Extrakte wurden bisher lediglich in einem Literaturbeitrag *in vitro* sowohl eine antibakterielle Wirkung gegen *Streptococcus mutans* als auch ein Adhäsionsschutz durch die reduzierte Bildung eines bakteriellen Biofilms belegt.

Diese Eigenschaften sollten im Rahmen der vorgestellten Arbeit vertieft untersucht werden. Daher wurden der wässrige Extrakt eines Thymian-Tees (*T. vulgaris*) zunächst charakterisiert. Dabei konnten mit HPLC 27 wasserlösliche Polyphenole identifiziert und einige Hauptverbindungen quantifiziert werden. Zudem wurden mit GC-FID auch Spuren von flüchtigen Verbindungen detektiert. Der durchgeführte *in vitro* Trübungstest zur Bestimmung der antibakteriellen Wirkung des wässrigen Extraktes gegen *Streptococcus mutans* konnte allerdings keine Wirksamkeit aufzeigen.

Der wässrige Extrakt wurde weiterhin für die *in situ* Bestimmung der antibakteriellen Wirkung und des Adhäsionsschutzes eingesetzt. Dazu wurden sechs Probanden spezielle Schienen mit Schmelzprüfkörpern aus Rinderschneidezähnen angepasst. Nach dem Einsetzen in den Mund erfolgte die 10-minütige Spülung mit dem wässrigen Extrakt, und anschließend ein 8-stündiges Tragen. Durch Anfärbung mittels DAPI wurde die Bakterienadhäsion beurteilt, die – im Vergleich zur Kontrolle – nach der Spülung deutlich reduziert war. Die Anfärbung der Schmelzplättchen mit der LIVE/DEAD®BaCLight™ Vitalfärbung ergab, wie auch *in vitro*, nur eine geringe antibakterielle Wirkung.

Für einen *in situ* Erosionstest trugen Probanden ebenfalls Schienen mit Schmelzprüfkörpern aus Rinderschneidezähnen. Nach einer 10-minütigen Spülung mit dem wässrigen Extrakt und weiterem Tragen für 19 min wurden die Schmelzprüfkörper in Salzsäure verschiedener Konzentrationen gelegt und die Calcium- und Phosphatfreisetzung beobachtet. Dabei erwies sich das Spülen mit Thymiantee als wenig wirksam.

Somit tragen die wässrigen Extrakte *in situ* zum Adhäsionsschutz bei, während eine *in vitro* antibakterielle Wirkung nur bei den ätherischen Ölen beobachtet wurde.

Stichwörter: Thymian, antibakterielle Wirkung, *Streptococcus mutans*, Kariesprophylaxe, Erosionsschutz

## **FSL 28 Potenziale von Senfsamen bei Food und non-food Anwendungen**

**Ralph Thomann<sup>1</sup>, Frank Kage<sup>1</sup>, Annedore Habel<sup>2</sup>, Nutan Kaushik<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>IGV Institut für Getreideverarbeitung GmbH, A.-Scheunert-Allee 40/41, 14558 Nuthetal, Deutschland

<sup>2</sup>Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung e.V.

<sup>3</sup>The Energy and Resources Institute (TERI), New Delhi, India



DOI 10.5073/jka.2014.446.028

### **Zusammenfassung**

Senfsaaten, sowohl gelbe/weiße (*Sinapis alba*) als auch braune/schwarze (*Brassica juncea* und *Brassica nigra*) sind als Arzneimittel monographiert (Semen Sinapis) [ÖAB]. Von Nutzen sind hierbei die als Glycosinolate (Sinalbin und Sinegrin) gebundenen Senföle, die unter Wassereinwirkung durch das Enzym Myrosinase gespalten werden und als stechend-scharf riechende Substanzen frei gesetzt werden. Diese wirken hautreizend und fördern die Durchblutung. Genutzt werden die Senfsaaten und deren ätherischen Senföle sowohl in der europäischen Kultur bei der häuslichen Zubereitung oder industriellen Herstellung von Speisesenf unterschiedlicher Art (mittelscharfer Senf, Dijon Senf, mustard powder) aber auch in Rezepturen von Fleisch-, Wurst-, Gemüsezubereitungen. In Indien hingegen dient Senfsaat als Quelle für fettes Öl, in und mit dem vegetarische Speisen und Fleischgerichte zubereitet werden. Durch ein spezielles Pressverfahren gelingt es, die Isothiocyanate in das fette Öl zu überführen, wodurch das fette Öl aromatisierend wirkt. Ein nicht zu unterschätzender Effekt ist die antimikrobielle Wirkung der ätherischen Senföle, die je nach Senfart unterschiedliche Zusammensetzung haben und funktionell genutzt werden. Ein dritter nutzbarer Effekt der Senfsaaten beruht auf dem hohen Quellvermögen der Saaten, das vorrangig durch die in den äußeren Schalen lokalisierten Quell- und Schleimstoffe begründet ist. Von zunehmendem Interesse ist der mit etwa 25 % im Samen ermittelte Proteinanteil. Im Vortrag werden typische, aber auch aussichtsreiche neue Applikationsformen von Senf, Senfprodukten und den Koppelprodukten der Verarbeitung mit ihren technologischen Vorteilen aufgeführt.

---

## Workshop

# Innovative Molekulargenetik – Chancen für Arznei- und Gewürzpflanzen

---

### WSL 29 Einführung in Apomixis – Die Verbreitung asexueller Fortpflanzungsmechanismen und ihr wirtschaftliches Potential für Arznei- und Gewürzpflanzen

**Martin Mau, Timothy Sharbel**

IPK Gatersleben, Abteilung Cytogenetik und Genomanalyse, Arbeitsgruppe Apomixis, Corrensstrasse 3, 06466 Gater, Deutschland



DOI 10.5073/jka.2014.446.029

#### Zusammenfassung

Apomixis ist eine natürliche Form asexueller Reproduktion bei Angiospermen und Pteridophyten die zur befruchtungsfreien Samenbildung und zu Nachkommen führt, die genetisch identisch (d.h. klonal) mit ihrer Mutter sind. Dieser Prozess beinhaltet drei Stufen: (1) die fehlende Reduktionsteilung der Meiose führt zu klonalen und unreduzierten Gameten (Apomeiosis), (2) die fehlende Befruchtung der Eizelle (Parthenogenese), und (3) Befruchtung der Zentralzelle mit unreduzierten männlichen Gameten zur Balancierung der elterlichen Chromosomensätze im Endospermgewebe. Das genetische Programm von Apomixis variiert artspezifisch, und verschiedene Theorien über dessen Vererbung mittels Einzel- oder Multigenensystem werden diskutiert.

Alle Apomixisformen zusammen kommen in ca. 1,6 % aller bekannten Angiospermengattungen vor, wobei sich davon etwa 75 % auf die Familien der Asteraceae, Rosaceae und Poaceae konzentrieren. Apomixis ist in nur wenigen vom Menschen genutzten Kulturpflanzen bekannt, so zum Beispiel in *Citrus* sp. und in Arzneipflanzen wie *Hypericum perforatum* L.. Die wichtigsten agronomisch genutzten Getreidearten (Poaceae), wie Reis, Mais, Weizen, Gerste oder Hirse, aber auch die Ölfrüchte (Brassicaceae) wie Senfe und Raps vermehren sich ausschließlich sexuell. Apomixis als Züchtungstechnologie bietet verschiedene potentielle Vorteile: (1) gezielte Fixierung beliebiger genetischer Merkmale, (2) Kostenreduktion, (3) Umstellung auf Samenbildung bei Feldfrüchten mit vegetativer Vermehrung minimiert Pathogentransfer und erweitert Anbauggebiete, (4) Erhaltung lokal-adaptierter Varietäten.

Stichwörter: Apomixis, Züchtung, klonale Samenbildung, Kandidatengene

## **WSL 30 Pharmazeutische Proteine aus Pflanzen**

**Eva Stöger**

Department für Angewandte Genetik und Zellbiologie, Universität für Bodenkultur,  
Muthgasse 18, Wien, Österreich

DOI 10.5073/jka.2014.446.030



### **Zusammenfassung**

Pflanzen und pflanzliche Zellkulturen werden häufig zur Produktion rekombinanter Proteine, insbesondere von Antikörpern, Vakzinen und Enzymen, eingesetzt. Die Produktionstechnologie wurde bislang für zahlreiche Pflanzenarten erfolgreich etabliert, wobei jeweils spezifische Vorteile für bestimmte Anwendungen genutzt werden können. So ist etwa die zeitliche Dauer, die zur Entwicklung der rekombinanten Produktion benötigt wird, je nach Pflanzenart verschieden – ebenso wie Skalierbarkeit, etwaige Aufreinigung und Gesamtkosten der Produktion.

Im Gewächshaus gezogene Pflanzen eignen sich hervorragend für die wirtschaftliche und sichere Produktion von rekombinanten Proteinen, die in grossem Maßstab gebraucht werden und in der konventionellen Produktion zu teuer sind. Hierzu zählen zum Beispiel Antikörper für die passive Immunisierung und pharmazeutische Proteine, die oral, etwa als Futtermittelzusatz, verabreicht werden können.

Die Verwendung von Samen, insbesondere Getreide, bringt den zusätzlichen Vorteil der Lagerfähigkeit. So können trockene Getreidesamen mehrere Monate oder sogar Jahre bei Raumtemperatur gelagert werden, ohne dass das enthaltene rekombinante Protein seine Funktionalität verliert oder abgebaut wird. Der zusätzliche stabilisierende Effekt von Speichergeweben und Speicherorganellen kann auch genutzt werden, um etwa Antikörper und Vakzine bei der oralen Verabreichung im Gastrointestinaltrakt zu schützen, sodass ein besserer Effekt erzielt wird.

Im Rahmen des Vortrages werden die aktuellen technischen Möglichkeiten zur Herstellung von Biopharmazeutika-produzierenden „Arzneipflanzen“ anhand von Beispielen vorgestellt.

---

## Poster

---

### **P 1 In-vitro-Sprossregeneration an männlichen Blütenknospen von *Cannabis sativa* (L.) ,USOS'**

**Benjamin Wedeking<sup>1</sup>, Ina Pinker<sup>1</sup>, Giampaolo Grassi<sup>2</sup>, Regina Schenk<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Humboldt Universität zu Berlin

<sup>2</sup>CRA-CIN, Industrial crop research center, Rovigo

DOI 10.5073/jka.2014.446.031



#### **Zusammenfassung**

*Cannabis sativa* L. – Hanf – ist eine Kulturpflanze zur Fasergewinnung und für medizinische Anwendungen. Für die Neu- und Erhaltungszüchtung könnte die Etablierung von In-vitro-Methoden sehr nützlich sein. Es gibt bisher nur wenige Publikationen über Sprosskulturen, Sprossregeneration u. ä. bei Hanf. In der Regel gelingt es sehr leicht, gut proliferierenden Kallus zu induzieren, der Wurzeln bildet, über eine gelungene Pflanzenregeneration wird kaum berichtet. Es wurde erstmals mit männlichen Blütenknospen als Ausgangsmaterial für die In-vitro-Kultur experimentiert. Männliche Blütenknospen wurden nach der Desinfektion mit 2 % Ca(OCl)<sub>2</sub> für 8 min auf ein modifiziertes Medium nach Murashige und Skoog (1962) mit ½ Makronährstoffen gelegt, das 20 g/l Saccharose und 7 g/l Agar (SERVA, Kobe I) enthielt und mit verschiedenen Wachstumsregulatoren versetzt wurde: a.) 2 mg/l BAP+ 0,025 mg/l IES; b.) 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l TDZ + 0,025 mg/l IES; c.) 0,5 mg/l TDZ + 0,025 mg/l IES; d.) 2 mg/l MT + 0,025 mg/l IES. Die Blütenknospen wurden für 38 Tage bei 24 °C und 10 µmol m-2s-1 PAR-Strahlung im 16-Stunden Tag kultiviert. Das Medium b erwies sich als die einzig geeignete Variante, um Adventivsprosse zu induzieren. Die Adventivsprosse wurden isoliert und für weitere 28 Tage auf ein MS-Medium mit 0,1 mg/l TDZ gesetzt zur Sprossentwicklung. Danach bewurzelten die isolierten Sprosse auf einem modifizierten MS-Medium mit 1/3 MS-Makronährstoffen und 0,5 mg/l IBA. Nach 28 Tagen konnten sie akklimatisiert werden.

### **P 2 Zum Blühverlauf und Befruchtungsverhalten von *Actaea racemosa* L. (syn. *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.)**

**Regina Schenk, Ina Pinker, Teresa Degischer**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Albrecht-Thaer-Weg 5, 14195 Berlin, Deutschland  
regina.schenk@agrar.hu-berlin.de

DOI 10.5073/jka.2014.446.032



#### **Zusammenfassung**

*Actaea racemosa* L. (syn. *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.) wird in der Literatur als Fremdbefruchter beschrieben. Blühende Bestände werden stark von Bienen und Hummeln befliegen, was vermutlich auf den reichlich vorhandenen Pollen zurückzuführen ist. Zu überprüfen war, ob eine Selbstbefruchtung möglich ist. Dazu wurden der Blühverlauf kontrolliert, die Vitalität des Pollens über eine Pollenschlauchkeimung beurteilt und einzelne Blüten als auch Infloreszenzen isoliert. Die Lebensfähigkeit der Samen wurde mit Hilfe des topographischen Tetrazoliumtestes untersucht.

Die Blühdauer einer Einzelblüte beträgt 2 bis 10 Tage, eine Infloreszenz blüht 20 bis 30 Tage. Der Pollen besitzt eine hohe Vitalität und Lebensdauer. Selbst unter Stressbedingungen im Labor ist bei einer Lagerung von 14 Tagen noch lebensfähiger Pollen vorhanden. Eine Selbstbefruchtung scheint möglich. Bei isolierten Einzelblüten enthielten 45 % der untersuchten Samen einen lebensfähigen Embryo. Wurden gesamt Infloreszenzen isoliert, war der Anteil der lebensfähigen Samen fast so hoch wie bei einer freien Abblühte.

### **P 3 Ergebnisse aus Herbizidprüfungen in Thymian in Sachsen-Anhalt**

**Marut Krusche, Annette Kusterer, Isolde Reichardt**

Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau Sachsen-Anhalt

DOI 10.5073/jka.2014.446.033



#### **Zusammenfassung**

Ein großes Anbaugebiet von Thymian befindet sich in Sachsen-Anhalt. Für die Verarbeitung ist ein unkrautfreier Bestand Voraussetzung. Meist ist der Unkrautdruck auf den zur Verfügung stehenden Flächen so hoch, dass alleinige mechanische Maßnahmen nicht ausreichen bzw. nicht vertretbare Kosten verursachen. Die wirtschaftliche Erzeugung ist in diesen Fällen ohne den Einsatz von Herbiziden bei der Bekämpfung von Unkräutern und Ungräsern nicht möglich. Aus diesem Grund wurden seit 1994 Versuche zum Einsatz von Herbiziden in Thymian durchgeführt. Das Ziel war zunächst die Verträglichkeit der Präparate zu prüfen und anschließend die Erarbeitung der erforderlichen Daten für das Verfahren zur Genehmigung der Anwendung gemäß Art. 51 EU-VO 1107/2009 (vormals Genehmigung nach § 18a PflSchG). Dabei spielten die verschiedenen Einsatzzeitpunkte (VSE=vor der Saat mit Einarbeitung, VA=vor dem Auflaufen, NA=nach dem Auflaufen) eine wichtige Rolle. Insgesamt wurden über 50 Präparate getestet, davon stehen dem Anbauer auf Grundlage der oben genannten Verfahren im Augenblick 7 Präparate zur Verfügung. Dies sind: Fusilade MAX, Targa Super, Ethosat 500, Follow, Goltix Gold, Kontakt 320 SC und Trammat 500. Die übrigen mit positivem Ergebnis getesteten Mittel konnten aus verschiedenen anderen Gründen nicht bis zur Genehmigung/Zulassung geführt werden (fehlende Grundzulassung, Finanzierung der Rückstandsuntersuchung, Einvernehmen des Herstellers, Widerruf der Zulassung...). Diese Herbizide reichen jedoch erfahrungsgemäß nicht aus, um die Unkrautprobleme in Thymian zu lösen. Mechanische Maßnahmen zur Unkrautregulierung werden auch weiterhin nötig sein.

#### **P 4 Zitronenmelisse: Einfluss der Agrotexilabdeckung auf den Ertrag an Blättern, ätherischem Öl und Rosmarinsäure**

**Claude-Alain Carron, José Vouillamoz, Catherine Baroffio; Christoph Carlen**

Agroscope, Institut für Pflanzenbauwissenschaften, 1964 Conthey, Schweiz  
christoph.carlen@agroscope.admin.ch

DOI 10.5073/jka.2014.446.034



##### **Zusammenfassung**

Zitronenmelisse (*Melissa officinalis* L.) wird in höher gelegenen Regionen während der Vegetationsperiode mit Agrotexilien abgedeckt, um die Wachstumsbedingungen zu verbessern und Frostschäden im Mai zu vermeiden. Das Ziel dieser Studie war die Auswirkungen dieser Anbautechnik auf den Ertrag und auf die Qualität, insbesondere den Gehalt an ätherischem Öl und an Rosmarinsäure in zwei Höhenlagen (790 und 1100 m) aufzuzeigen.

Während der Versuchsphase in den Jahren 2010 und 2012 wurden keine Frostereignisse registriert. Die Agrotexilien haben durch den leichten Beschattungseffekt der Abdeckung die Blattproduktion um 5-10% reduziert. Dagegen wurde der Gehalt und der Ertrag an ätherischem Öl mehr als verdoppelt. Die Gehalte an ätherischem Öl standen in enger Beziehung zur Temperatur. Zwischen dem Gehalt an ätherischem Öl in den Blättern und der Durchschnittstemperatur 4 Wochen vor der Ernte konnte eine enge Wechselbeziehung ( $R^2 = 0,74$ ) festgestellt werden. Die Sommerschnitte ergaben dementsprechend die höchsten Gehalte an ätherischem Öl. Der Ertrag an Rosmarinsäure ist durch die Abdeckung signifikant reduziert worden. Im Vergleich zur Variante ohne Abdeckung war der Gehalt um 10–15% geringer.

Unter Bedingungen ohne Frostereignisse im Mai, hat die Abdeckung mit Agrotexilien zu einer leichten Reduktion der Blattproduktion (5-10%), sowie zu einer Abnahme des Gehaltes (10-15%) und des Ertrages (20-30%) an Rosmarinsäure geführt. Dagegen wurden der Gehalt und der Ertrag an ätherischem Öl mehr als verdoppelt.

## **P 5 *Saxifraga rotundifolia* L.: Bestimmung des optimalen Erntezeitpunktes zur Verbesserung der Qualität von pflanzlichem Rohmaterial für Kosmetikfirmen**

**Christèle Bastian<sup>1</sup>, Alain Grogg<sup>1</sup>, Claude-Alain Carron<sup>2</sup>, José Vouillamoz<sup>2</sup>, Christoph Carlen<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>HES-SO/Valais, Institut Life Technologies, 1950 Sion, Schweiz.

<sup>2</sup>Agroscope, Institut für Pflanzenbauwissenschaften, 1964 Conthey, Schweiz  
christoph.carlen@agroscope.admin.ch



DOI 10.5073/jka.2014.446.035

### **Zusammenfassung**

Der Rundblättrige Steinbrech (*Saxifraga rotundifolia* L.) zeichnet sich durch beachtenswerte antiradikale und antioxidative Eigenschaften aus, was das Interesse von Kosmetikfirmen weckte. Die Studie hatte zum Ziel, die Variabilität der Wirkstoffgehalte in den oberirdischen Pflanzenteilen in Abhängigkeit der phänologischen Entwicklung im Jahr 2007 zu bestimmen. Dabei wurden die Gehalte an Phenylpropionsäuren und Flavonoiden berücksichtigt.

Im Stadium ‚volle Blüte‘ wurden hohe Gehalte an Chlorogensäure (0,12% der Trockenmasse, TM), Quercitrin (0,45% TM), Luteolin-rhamnosid (0,02% TM) und Myricitrin (1,31% TM) gemessen. In den Stadien ‚Ende Blüte‘ und ‚Samenreife‘ waren die Gehalte tiefer mit Ausnahme des Gehaltes an Myricitrin im Stadium ‚Samenbildung‘ (1,38% TM). Im Knospenstadium waren die Gehalte an den verschiedenen Wirkstoffen am geringsten mit Ausnahme der Chlorogensäure (0,15% TM). Die antiradikale (DPPH) und antioxidative (FREC) Wirkung waren am niedrigsten im Knospenstadium und am höchsten bei Samenreife. Die Unterschiede zwischen den Stadien ‚Samenreife‘ und ‚volle Blüte‘ waren aber gering. Die TM-Bildung stieg an vom Knospenstadium bis Ende Blüte und veränderte sich kaum mehr bis zur Samenreife.

Die erzielten Ergebnisse zeigen, dass die Ernte im Stadium ‚volle Blüte‘ ein guter Kompromiss ist zwischen hohen Gehalten an Phenylpropionsäuren und Flavonoiden und dem Ertrag an Trockenmasse. Der Erntezeitpunkt im Stadium ‚volle Blüte‘ sichert den Abnehmerfirmen eine hohe Qualität dieses pflanzlichen Rohmaterials.

## P 6 Pharmakobotanische Untersuchungen von Lavendelsorten auf dem Plattensee-Plateau

*Pharmacobotanical investigations on lavender cultivars in the Balaton highland region*

**Frida Tóth<sup>1</sup>, Szilvia Sárosi<sup>2</sup>, Ildikó Demján<sup>3</sup>, Mária Tulok<sup>1</sup> und Noémi Koczka<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Szent István Universität, Institut für Gartenbau, 2100 Gödöllő, Péter K. Str. 1, Ungarn  
koczka.noemi@mkk.szie.hu

<sup>2</sup> Corvinus Universität Budapest, Lehrstuhl für Arznei- und Aromapflanzen, 1118 Budapest, Villányi Str. 29-43, Ungarn  
sarosi.szilvia@uni-corvinus.hu

<sup>3</sup> Dörgicsei Levendula Major GmbH, Dörgicse



DOI 10.5073/jka.2014.446.036

### Zusammenfassung

Auf dem Hof Dörgicsei Levendula Major GmbH wurden 9 Lavendelsorten (6 Sorten von *Lavandula angustifolia* und 3 Sorten von *Lavandula x intermedia*) untersucht. Neben den morphologischen und Wachstumseigenschaften wurden auch Frisch- und Trockengewichte bewertet. Quantitative und qualitative Untersuchungen von den Blüten- und Ätherischöldrogen wurden auch durchgeführt. Die statistische Analyse zeigte signifikant höhere Erträge bei den Sorten *L. angustifolia* 'Essence Purple' und *L. x intermedia* 'Edelweiss'. Gehalt und Zusammensetzung von ätherischem Öl war eindeutig bei der Sorte *L. angustifolia* 'Ellagance Purple' am günstigsten.

Stichwörter: *Lavandula angustifolia*, *Lavandula x intermedia*, Lavendel, ätherisches Öl

### Abstract

Nine lavender cultivars (6 *Lavandula angustifolia* and 3 *Lavandula x intermedia*) were investigated in the plantation of the Dörgicsei Levendula Major Ltd., situated in the Balaton highland region. Beside morphological and growing parameters, fresh weight and dry weight of the drugs were also measured. Quantitative and qualitative analyses of the flower and essential oil drugs were carried out as well. *L. angustifolia* 'Essence Purple' and *L. x intermedia* 'Edelweiss' had significantly the highest drug production. Essential oil content and composition were the most favourable for *L. angustifolia* 'Ellagance Purple'.

Keywords: *Lavandula angustifolia*, *Lavandula x intermedia*, lavender, essential oil

### Einleitung

Lavendelarten gehören zu den Lippenblütlern (Fam. *Lamiaceae*). Die mehrjährigen Halbsträucher sind für Bewirtschaftung von schwachen Böden und von Hängen besonders geeignet.

Lavendeldrogen (Blüten und ätherisches Öl) werden weitgehend in der Medizin, in der Kosmetik- und Parfümindustrie genutzt. *Lavandulae flos* und *Lavandulae aetheroleum* sind in den meisten Arzneibüchern der Welt beschrieben. Lavendelblüten wirken als leichtes Sedativum und werden bei Unruhe, nervöser Erschöpfung und Schlafstörungen sowie bei Verdauungsproblemen eingesetzt. Lavendelöl zeigt sedative, spasmolytische und antimikrobielle Eigenschaften, es kann auch bei verschiedenen Hauterkrankungen und zur Wundbehandlung genutzt werden. (WYK und WINK, 2004; TÓTH, 2008)

In Ungarn werden immer mehr Lavendel für Drogengewinnung und als Zierpflanze gepflanzt, doch ist nur je eine Sorte von den zwei genutzten Lavendelarten (*Lavandula angustifolia* Mill. und *Lavandula x intermedia* Emeric) in der Sortenliste (NEMZETI FAJTAJEGYZÉK, 2012) zugelassen. Verarbeiter und Verbraucher benötigen aber eine breitere Sortenauswahl von Sorten stabiler und guter Drogenqualität. Lavendelanbauer möchten sich auch über neue und perspektivische Sorten mit heimischen Anbauerfahrungen informieren lassen.

Unser Ziel war neun verschiedene ausländische Lavendelsorten (6 Sorten von *Lavandula angustifolia* und 3 Sorten von *Lavandula x intermedia*) bezüglich ihrer morphologischen Eigenschaften, Blüten- und Ätherischöldrogen sowie ihrer Inhaltsstoffe zu vergleichen.

## Material und Methoden

Die Lavendel-Plantage befindet sich in Dörgicse auf dem Plattensee-Plateau, wo traditionell viel Lavendel angebaut wird. Auf dem Hof Dörgicsei Levendula Major GmbH wurde das Vermehrungsmaterial aus Deutschland für ein Jahr weitergezüchtet und im September 2012 ausgepflanzt. Die Gesamtfläche beträgt 350 m<sup>2</sup>, jeweils mit einer Fläche von 0,5 m<sup>2</sup> pro Pflanze.

Sechs Sorten von *Lavandula angustifolia* ('Aromatico Silver', 'Dwarf Blue', 'Elegance Purple', 'Essence Purple', 'Hidcote Blue Strain', 'Lavance Purple') und drei Sorten von *Lavandula x intermedia* ('Edelweiss', 'Grappenhall', 'Grosso') wurden zum Versuch ausgewählt. Die Untersuchungen wurden dreimal in der Vegetationsperiode bei je 5 Pflanzen (randomisiert) pro Sorte durchgeführt.

Von den morphologischen Eigenschaften, die den Zierwert der Sorte bestimmen, wurden Blattgröße, Blattfarbe, Blütenfarbe, Blütenstandlänge und Zahl der Scheinquirlen untersucht. Wachstumsmerkmale wurden zweimal durch Wuchshöhe, Strauchbreite und Blütenstandzahl pro Pflanze charakterisiert. Bei der Ernte wurden Frisch- und Trockengewicht, Blüten-Blütenstand-Rate und Trocknungsrate gemessen.

Gehalt an ätherischem Öl wurde durch Destillation anhand der Vorschriften des Ungarischen Arzneibuches (Ph.Hg.VIII., 2004) bestimmt. Zusammensetzung des Öls wurde mit Hilfe des Gaschromatographen Agilent Technologies 6890N GC System (GC-FID) ermittelt und durch das Analysenprogramm Class up bewertet. Bei der Analyse der Messungen wurden Durchschnitt-, Streuungs- und Variationskoeffizient berechnet. Zu statistischer Bewertung der Sorten wurden einfaktorielle Varianzanalyse und Clusteranalyse durchgeführt.

## Ergebnisse

Anhand der Phänophasen und der morphologischen Eigenschaften unterschieden sich die zwei Arten gut voneinander. *L. angustifolia*-Sorten erreichten die Vollblüte Ende Mai, die *L. x intermedia*-Sorten aber erst einen Monat später. Die Blütenfarbe der Sorten zeigte eine große Variabilität von Rosa durch Blau bis Purpur.

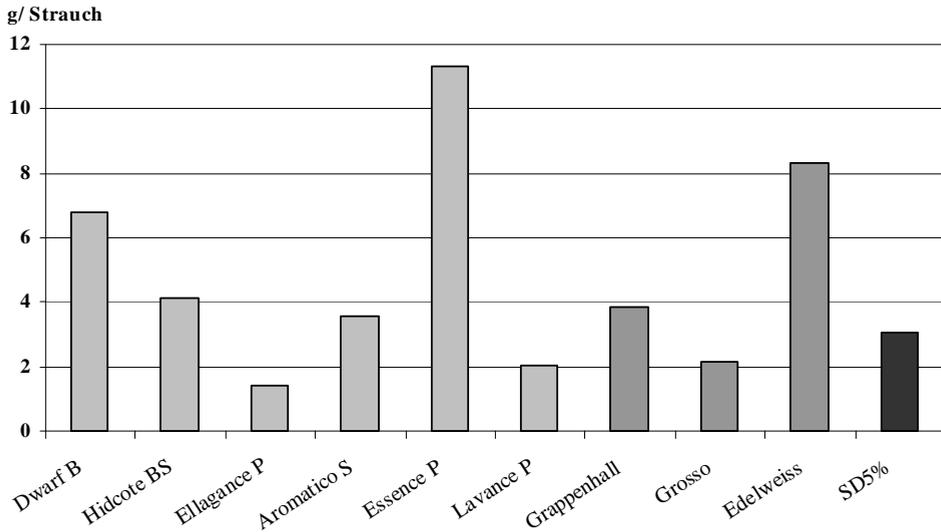
Das stärkere Wachstum der *L. x intermedia*-Sorten hinsichtlich der Wuchshöhe, Blütenstandlänge und Zahl von Scheinquirlen wurde statistisch bestätigt. In dem zweijährigen Bestand unterschieden sich die Sorten aber in der Strauchbreite und Zahl von Blütenständen nicht.

Blütentrockengewichte wurden zwischen 1,4 und 11,3 g pro Strauch gemessen. Die Erträge von *L. angustifolia* 'Essence Purple' und von *L. x intermedia* 'Edelweiss' waren am höchsten (Abb. 1).

Im Ungarischen Arzneibuch (Ph.Hg.VIII., 2004) wird der Mindestölgehalt von *Lavandulae flos* für 13,0 ml/kg bestimmt, dieser Wert wurde bei jeder Sorte erreicht, der Ätherischölgehalt wurde zwischen 13,10-32,87 ml/kg ermittelt.

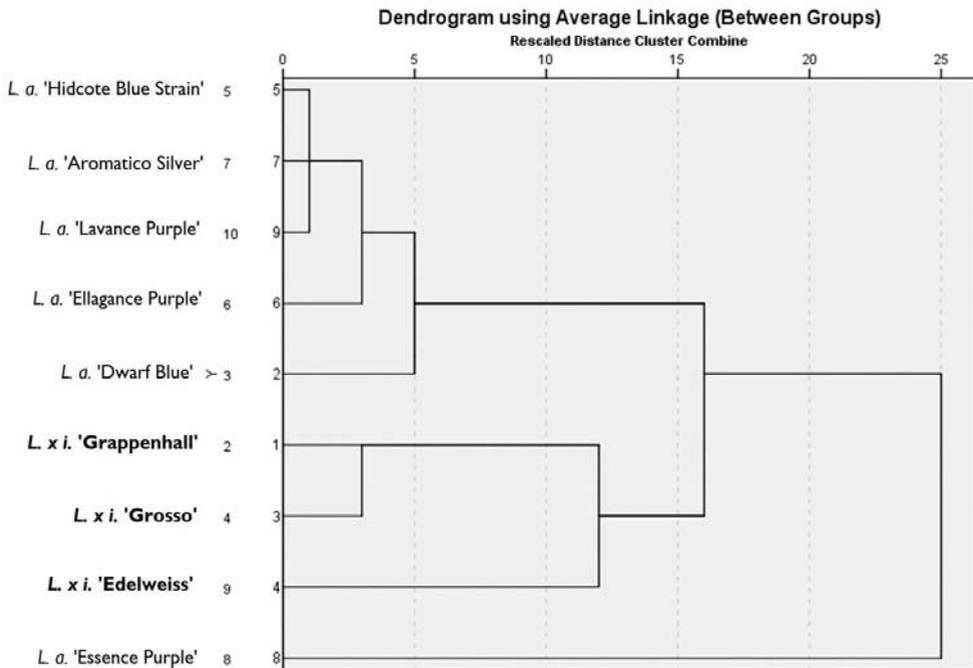
Hinsichtlich der bestimmten ÖlkompONENTEN entsprachen den Vorschriften des Ungarischen Arzneibuches (Ph.Hg.VIII., 2004) am meisten die Sorten 'Dwarf Blue' (Linalylacetat 30,3 %, Linalool 35,6 %, Terpinen-4-ol 3,6 %, Campher 0,3 %, Limonen 0,5 %, Lavandulylacetat 4,0 %, 1,8-Cineol 4,3 %) und 'Essence Purple' (Linalylacetat 25,1 %, Linalool 40,2 %, Terpinen-4-ol 3,8 %, Campher 0,3 %, Limonen 0,4 %, Lavandulylacetat 5,1 %, 1,8-Cineol 4,9 %).

Die *L. x intermedia*-Sorten wiesen einen Gehalt an ätherischem Öl von 46,1-59,0 ml/kg auf. Von den drei Sorten hatte die Sorte 'Edelweiss' den höchsten Gehalt an Linalylacetat (13,1 %) und zeigte einen niedrigen Anteil an Linalool (21,3 %) und einen hohen Anteil an Campher (14,5 %).



**Abb. 1** Blütendrogenenertrag von Lavendelsorten, Dörgicse, 2013

**Fig. 1** Flowerdrug yield of lavender cultivars, Dörgicse, 2013



**Abb. 2** Clusteranalyse von Lavendelsorten, Dörgicse, 2013

**Fig. 2** Cluster analysis of lavender cultivars, Dörgicse, 2013

Die Clusteranalyse wurde anhand der Bestimmung von 17 Merkmalen der neun Sorten durchgeführt. Wie erwartet, bildeten die zwei Arten zwei Gruppen, die Sorte *L. angustifolia* 'Essence Purple' scheidet aber von ihrer Gruppe eindeutig ab (Abbildung 2). So stellt sich die Frage, ob es sich bei dieser Sorten tatsächlich um *L. angustifolia* handelt.

In diesem Versuch erwiesen sich in Hinsicht auf die beobachteten Merkmale die Sorten *L. angustifolia* 'Dwarf Blue' und 'Essence Purple' sowie die Sorte *L. x intermedia* 'Edelweiss' sehr vielversprechend. Weitere Beobachtungen sind für mehrere Jahre beabsichtigt, um die Anbaueigenschaften der ausgewählten Sorten gründlich ermitteln zu können.

### **Danksagung**

Die Experimente wurden vom Projekt Research Centre of Excellence 17586-4/2013/TUDPOL Szent Istvan University gefördert.

### **Literatur**

NEMZETI FAJTAJEGYZÉK Zöldségnövények, gyógy- és fűszernövények [Nationale Sortenliste Gemüse, Arznei- und Gewürzpflanzen], 2012, Budapest, NÉBIH, 58 S.

PHARMACOPOEA HUNGARICA [Ungarisches Arzneibuch], VIII. Auslage, Budapest, Medicina, 2171-2172 S.

TÓTH L.: Gyógynövények, drogok, fitoterápia [Arzneipflanzen, Drogen, Phytotherapie]. Debrecen, Kossuth Egyetemi Kiadó, 77-79 S.

WYK, B.E. und M. WINK, 2004: Medicinal plants of the world. Pretoria, Bryza Publications, 189 S.

## **P 7 Perspektiven der Auxine im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau**

**Elena Malankina**

Landwirtschaftliche Universität zu Moskau

DOI 10.5073/jka.2014.446.037



### **Zusammenfassung**

In Gewächshäuser- und Feldversuchen wurde die Wirkung der Auxine an Arznei- und Gewürzpflanzen geprüft: *Eleutherococcus senticosus*, *Bergenia crassifolia* L., *Coriandrum sativum* L., *Dracocephalum moldavica* L., *Fagopyrum esculentum* Gilib., *Plantago major* L., *Hyssopus officinalis* L.

Nach verschiedenen Anwendungsmethoden der Indolylessigsäure (IES),  $\beta$ -Indolylbuttersäure (IBS) und anderen Mitteln mit auxinähnlicher Wirkung wurde eine bedeutende Erhöhung der Bewurzelung von Grün- und Wurzelstecklingen von Taigawurzel, der Grünstecklinge von Ysop und Thymian, sowie von Rhizomstecklingen von *Bergenia* beobachtet.

Nach der Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen und in verschiedenen Vegetationsperioden wurde der Ertrag von Buchweizen und von drei Sorten von Koriander in signifikanten Mengen erhöht und sogar der Gehalt an Flavonoiden und Rosmarinsäure im Drachenkopf gesteigert.

## **P 8 Nachweis von *Verticillium dahliae* an Pfefferminze (*Mentha x piperita* L.)**

*Detection of Verticillium dahliae on Peppermint (Mentha x piperita L.)*

### **Ute Gäerber**

Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Stahnsdorfer Damm 81,  
14532 Kleinmachnow, Deutschland

ute.gaerber@jki.bund.de

DOI 10.5073/jka.2014.446.038



### **Zusammenfassung**

In Beständen von Pfefferminze wurden Krankheitssymptome beobachtet, die sich in Wuchshemmungen, Stängelverbräunungen, Blattchlorosen und Welke zeigten. Teilweise starben die Pflanzen bzw. einzelne Triebe ab. Als Ursache konnte *Verticillium dahliae* nachgewiesen werden. In einem Infektionsversuch im Gewächshaus wurden sieben Wochen alte Pfefferminzpflanzen der Sorte Multimentha durch Angießen mit einer Konidiensuspension ( $10^6$  Konidien/ml Suspension) inokuliert. Erste Krankheitssymptome erschienen acht Wochen nach Inokulation. Innerhalb kurzer Zeit nahm der Befall stark zu. Aus den kranken Pflanzenteilen wie Stängel und Blatt konnte der Erreger reisoliert werden.

Stichwörter: Pfefferminze, *Verticillium dahliae*; Nachweis, Pathogenitätstest

### **Abstract**

Disease symptoms, which appear in the form of stunting, brown stems, leaf chlorosis and wilting, were observed in peppermint crops. Several plants or shoots thereof died. *Verticillium dahliae* could be proved as the cause of the disease. In an infection test in the greenhouse, seven-week old peppermint plants cv. Multimentha were inoculated by pouring a conidial suspension ( $10^6$  conidia/ml suspension). First disease symptoms appeared after eight weeks on inoculation. Thereafter, the infection increased dramatically within a short time. The pathogen could be reisolated from infected parts of the plants like stem and leaf.

Keywords: Peppermint, *Verticillium dahliae*, detection, pathogenicity test

### **Einleitung**

Pfefferminze gehört in Deutschland bei den Heil- und Gewürzpflanzen zu den 12 wichtigsten Pflanzenarten und wird auf einer Gesamtfläche von 312 ha (2011) in sieben Bundesländern angebaut (PLESCHER et al., 2013). In Deutschland wurde im vergangenen Jahr Krankheitsbefall beobachtet, der in älteren Beständen flächenmäßig und auf einer Fläche mit Kopfstecklingen nesterweise auftrat. Die Pflanzen wiesen Chlorosen auf bzw. blieben im Wuchs zurück. Verbräunungen zeigten sich sowohl am Stängelgrund, als auch an den oberen Pflanzenteilen. Teilweise waren die Stängel innen braun. Die Blätter nekrotisierten und zeigten eine fahlgrüne Verfärbung. Einige Pflanzen welkten und starben letztendlich ab. Das Ziel war es, die Krankheitsursache zu identifizieren, um zielgerichtet Gegenmaßnahmen einleiten zu können.

### **Material und Methoden**

Kranke Pflanzenteile wie Stängel und Blätter wurden auf verschiedene Nährböden (Wasseragar, Kartoffel-Dextrose-Agar, Synthetisch Nährstoffarmer Agar) ausgelegt und unter Laborbedingungen bei Temperaturen von 20 °C und natürlichem Tageslicht inkubiert. Täglich wurden die Platten auf auswachsende Pilzkolonien kontrolliert. Einzelne Pilzkolonien wurden zur Identifizierung auf Wasseragar abisoliert.

Die aus Pfefferminze isolierten Stämme wurden hinsichtlich ihrer Pathogenität an Pfefferminze geprüft. Hierfür wurden befallsfreie Stolone der Sorte Multimentha im Gewächshaus in 13-er Töpfe in Frühstorfer Topferde bei Temperaturen von 15 bis 18 °C und achtstündiger Zusatzbelichtung (Philips: Master SON-T Plus 600W/220 E40 1SL) kultiviert. Nach sieben Wochen wurden die Pflanzen durch Angießen mit einer Konidiensuspension des Pilzes ( $10^6$  Konidien/ml Suspension) inokuliert. Pro Topf wurden 50 ml Suspension ausgebracht. Die Herstellung der

Konidien suspension erfolgte in Schüttelkultur in Czapek-Dox-Lösung bei 20 °C und 14-stündiger Zusatzbelichtung (Philips TLD 58 W). Bereits nach fünf bis sieben Tagen bildete sich eine hohe Anzahl an Konidien. In die Tests wurden zwei Isolate (927, 932) einbezogen. Zum Vergleich wurden nicht inokulierte Pflanzen, die mit Wasser angegossen wurden, als Kontrollvariante mitgeführt. Die Reisolierung des Pilzes aus kranken Pflanzenteilen erfolgte sowohl in der feuchten Kammer als auch auf Wasseragar unter den wie oben beschriebenen Bedingungen. Parallel hierzu wurden Pflanzenteile aus der Kontrollvariante auf Pilzauswuchs untersucht.

## Ergebnisse

Sowohl aus dem Stängel als auch aus dem Blatt wurde fast ausschließlich eine sklerotienbildende *Verticillium*-Art isoliert, die als *V. dahliae* (HAWKSWORTH und TALBOYS, 1970) identifiziert wurde. In dem Infektionsversuch im Gewächshaus traten etwa acht Wochen nach Inokulation an den Testpflanzen Symptome auf, während die Kontrollpflanzen gesund blieben. Erste Symptome wurden vielfach an den Triebspitzen beobachtet, welche erschlafften, sich braun verfärbten und zu welken begannen (Abb. 1).



**Abb. 1** Triebspitzenwelke an Pfefferminzpflanzen 'Multimentha' acht Wochen nach Inokulation mit *V. dahliae* im Gewächshaus.

**Fig. 1** *Shoot tips wilt of peppermint cv. Multimentha eight weeks after inoculation with V. dahlia in greenhouse.*

Nach Ausbruch der Krankheit nahm der Befall an den Pflanzen rasch zu. Der Befall war teilweise sehr massiv und führte zum Absterben einzelner Triebe (Abb. 2).



**Abb. 2** Welke und Absterben einzelner Triebe von Pfefferminze ('Multimetha') nach Inokulation mit *V. dahliae* im Gewächshaus (links) im Vergleich zur gesunden, nicht inokulierten Kontrollpflanze (rechts).

**Fig. 2** Wilt and death of several peppermints shoots ('Multimetha') after inoculation with *V. dahliae* in greenhouse (left) compared with healthy, non inoculated control plants (right).

Zum Teil waren die Stängel im Inneren braun verfärbt. Einige inokulierte Pflanzen blieben im Wuchs zurück. Sowohl aus dem Stängel als auch aus dem Blatt der kranken Pflanzen konnte der Pilz reisoliert werden, nicht jedoch aus den nicht inokulierten Pflanzen. Damit wurde der Nachweis einer Infektion von Pfefferminze durch *V. dahliae* erbracht. In dem Gewächshausversuch betrug die Zeitdauer von Inokulation der Pflanzen bis zum Ausbruch der Krankheit acht Wochen. *V. dahliae* ist ein wärmeliebender Pilz (BERLANGER und POWELSON, 2000). Möglicherweise waren die im Gewächshaus vorherrschenden Temperaturen von 15 bis 18 °C für die Infektion mit *V. dahliae* nicht optimal. Andererseits kann auch die Inokulationsmethode den Infektionsverlauf beeinflussen. SINK und GREY (1999) entwickelten eine Methode mit Injektion der Wurzeln, die sich aufgrund einer schnellen Krankheitsentwicklung besonders für die Prüfung von Pfefferminzklonen auf Resistenz gegenüber *Verticillium*-Welke als geeignet erwies. Beide Isolate von *V. dahliae*, die in den Gewächshausversuch einbezogen wurden, führten zu Infektionen an Pfefferminze, wobei das Isolat 927 aggressiver war.

Der Erreger kann mit seinen Mikrosklerotien bis zu 10 Jahre und länger im Boden überdauern. *Verticillium dahliae* besitzt einen sehr großen Wirtspflanzenkreis. Eine chemische Bekämpfung des Erregers ist nicht möglich. Daher sind vorbeugende Maßnahmen von großer Bedeutung. Eine geeignete Fruchtfolge, gesunde Vermehrungsflächen und gesundes Pflanzmaterial sind wichtige Voraussetzungen für gesunde Bestände. Befallsfreie Flächen können mit Hilfe von Bodenuntersuchungen zum Verseuchungsgrad (NERBAUER und HEITMANN, 2011) gezielt ausgewählt werden, womit eine Hilfe zur Sicherung der Produktqualität gegeben wird.

## Danksagung

Für die Versuchsdurchführung geht der Dank an Frau Eveline Büttner und für die Bereitstellung von Stolonen an Agrarprodukte Ludwigshof e.G. Frau Kristin Schöffler von der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft danken wir für die Kooperation.

## Literatur

- BERLANGER, I. und M.L. POWELSON, 2000: *Verticillium* wilt. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-PHI-I-2000-0801-01, Updated 2005.
- HAWKSWORTH D.L. und P.W. TALBOYS. 1970: *Verticillium dahliae*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria 256.
- NEUBAUER, C. und B. HEITMANN, 2011: Quantitativer Nachweis von *Verticillium dahliae* im Boden als Grundlage der Flächenauswahl im Gartenbau. Journal für Kulturpflanzen **63**, 1-8.
- PLESCHER, A., SCHMITZ, N. und L. PFORTE, 2013: Entwicklung der Anbauflächen und Kulturartenvielfalt von Arzneipflanzen in Deutschland. 2. Tagung- Arzneipflanzenanbau in Deutschland, Bad Blankenburg 16./17.10.2013, Tagungsband, 8-10

7. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung, 14. bis 17. September 2014, Wien - Innovation entlang der Produktionskette

SINK, K. C. und W. E. GREY, 1999: A root-injection method to assess *Verticillium* wilt resistance of peppermint (*Mentha x piperita* L.) and its use in identifying resistant somaclones of cv. Black Mitcham. *Euphytica* **106**, 223-30.

## **P 9 Nachweis von *Mycosphaerella anethi* an Arzneifenchel mittels quantitativer PCR (qRT-PCR)**

**Kerstin Taubenrauch, Thomas Kühne**

Julius Kühn-Institut Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Erwin-Baur-Sr. 27, 06484 Quedlinburg, Deutschland  
kerstin.taubenrauch@jki.bund.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.039

### **Zusammenfassung**

Arzneifenchel wird von nur wenigen, spezialisierten Erregern mit hohem jährlichen Schadumfang befallen. Der pilzliche Erreger *Mycosphaerella anethi* (anamorph *Passalora punctum*) führt im Fenchelanbau in Deutschland seit ca. 20 Jahren regelmäßig zu großen Ertragsausfällen, bis hin zum Totalausfall. *M. anethi* verursacht eine Blatt- und Stängelanthraknose, häufig mit qualitätsmindernder Mycel- und Konidientwicklung an den Fruchtoberflächen. Die hohen Ertragsausfälle werden durch eine Verminderung der Photosyntheseleistung als Folge vorzeitiger Blattverluste und durch direkte Gewebeerstörung während der Fruchtbildung verursacht. Bei *M. anethi* handelt es sich um einen hochgradig samenübertragbaren Erreger. Das Ziel des Projektes ist die Entwicklung einer quantitativen Real-Time PCR (qRT-PCR) zum Nachweis und zur Quantifizierung von *M. anethi* an Fenchelfrüchten und -pflanzen. Für die Praxispartner steht der Feinnachweis des Erregers an ausgewählten Chargen im Vordergrund des Interesses, damit zukünftig unbefallenes Saatgut selektiert werden kann. In Feldversuchen sollen praxisorientierte Maßnahmen zur Minderung des Pilzbefalls erprobt werden. Der Befall der jeweiligen Ernteproben soll mittels qRT-PCR quantifiziert werden. Ein weiterer Arbeitsschwerpunkt liegt in der Erzeugung und Vermehrung von erregerefreiem Ausgangssaatgut, welches aus vorliegenden Gewebekulturen erzeugt werden soll. Aktuelle Ergebnisse zur Sameninfektion, zur Erregerverbreitung und Erzeugung erregerefreier Pflanzen aus Gewebekultur sollen präsentiert werden.

## **P 10 Selbstinkompatibilität bei Kamille (*Matricaria recutita* (L.) Rauschert)**

**Bettina Fähnrich, Claudia Kraxner, Chlodwig Franz**

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

DOI 10.5073/jka.2014.446.040



### **Zusammenfassung**

Selbstinkompatible Linien einer zwittrigen Pflanzenart eignen sich als maternale Grundlage einer gezielten Hybridzüchtung, als auch im Reinbestand als Möglichkeit zur Blütenproduktion ohne fertile Samenproduktion. Dies wäre für die Drogenernte im Arzneipflanzenanbau bei Kamille wünschenswert. Im Anschluss an vorangegangene Versuche, bei denen eine Affinität diploider Sorten zur Selbstinkompatibilität festgestellt wurde, wurden 200 Pflanzen der echten Kamille aus sechs Sorten (4 diploid, 2 tetraploid) nach Stecklingschnitt und nach mehrfacher Handbestäubung im Crispac-Beutel durch mikroskopisches Auszählen des Samenansatzes auf Selbstinkompatibilität (SI) überprüft und selektiert. Das tatsächliche Pollenschlauchwachstum im Narbengewebe wurde begleitend mittels Hellfeld- und Fluoreszenzmikroskopie kontrolliert, mit dem Ziel, eine Schnell-Methode zur Erkennung der SI zu entwickeln. Statistisch ergab sich wieder eine Tendenz ohne Signifikanz zur Erscheinung der SI bei diploiden Pflanzen ( $p=0,07$ ). Durch mögliche Fehlerquellen bei beiden Untersuchungsarten konnte keine eindeutige Übereinstimmung (64 %) zwischen Abwesenheit eines Pollenschlauchs und der SI hergestellt werden. Durch das mikroskopische Betrachten des Narbengewebes in verschiedenen Stadien der Befruchtung ergaben sich jedoch Hinweise zur Art der SI, zum Ort des Keimens und Eindringens des Pollenschlauches in das Narbengewebe, zum Wachstum und Aufbau der Pollenschläuche, sowie zur Lage und zum Aussehen des wachsenden Keimlings im Fruchtknoten.

## **P 11 Die Verwendung von Isoenzym-Polymorphismen - eine Herausforderungen bei der Züchtung neuer Baldriansorten (*Valeriana officinalis* L. s.l.)**

*The Application of Isozyme-Polymorphism – a challenge in the breeding of new varieties of valerian (*Valeriana officinalis* L. s.l.)*

**Michael Penzkofer<sup>1</sup>, Heidi Heuberger<sup>1</sup>, Manuel Geyer<sup>1</sup>, Berta Killermann<sup>1</sup>, Monika Konnert<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung (IPZ 3d Arbeitsgruppe Heil- und Gewürzpflanzen, IPZ 6d Arbeitsgruppe Saatgutforschung und Proteinelektrophorese), Vöttlinger Str. 38, 85354 Freising, Deutschland

Michael.Penzkofer@LfL.bayern.de, www.lfl.bayern.de

<sup>2</sup>Bayerisches Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht (ASP),

Forstamtsplatz 1, 83317 Teisendorf, Monika.Konnert@asp.bayern.de,

www.asp.bayern.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.041

### **Zusammenfassung**

Mit Hilfe von Isoenzym-Polymorphismen sollte versucht werden, biochemische Unterschiede (Fingerprint) zwischen verschiedenen Baldrianherkünften darzustellen, um im Anschluss diejenigen Individuen zu finden, die durch Kreuzung und nicht durch Selbstung entstanden sind. Bei Baldrian konnte für diese Methode kein Verfahrensprotokoll etabliert werden, womit auch eine Untersuchung von Kreuzungsnachkommen nicht erfolgte.

### **Abstract**

The aim of this work was to develop a method to distinguish different origins of valerian by isozyme polymorphisms (fingerprint) in order to identify selfings and crossings in breeding generations. In valerian a protocol could not be established, whereby an analysis in crossbreed descendants also did not happen.

### **Einleitung**

Die 2008 begonnene Züchtungsarbeit an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Arbeitsgruppe Heil- und Gewürzpflanzen hat zum Ziel, durch die Züchtung von neuen Baldriansorten die Rentabilität für den heimischen Anbau zu steigern. Durch Auslese und Kreuzungszüchtung soll die Drogenqualität dahingehend verbessert werden, dass auf Grund groberer Wurzeln der hohe personelle und technische Aufwand in der Nachernteaufbereitung verringert und gleichzeitig die Qualitätsanforderungen des Europäischen Arzneibuches sicher eingehalten werden.

Die züchterische Arbeit wird durch vielerlei Eigenheiten des Baldrians erschwert. So zum Beispiel durch die Ontogenese – die generative Phase setzt erst nach einer Überwinterung im zweiten Standjahr ein; durch die Blühbiologie – in der Infloreszenz befinden sich gleichzeitig alle Entwicklungsstufen; und durch eine vielfältige morphologische, genetische und cytologische (di-, tetra- und oktoploide Ploidiestufen sind bekannt) Variationsbreite. Diese Variationsbreite erleichtert einerseits das Erzeugen von neuer Variabilität, andererseits kann die Fixierung von gewünschten Merkmalen dadurch auch erschwert und die Züchtungsarbeit langwierig werden.

Baldrian wird in der Literatur als Fremdbefruchter beschrieben (HEEGER 1956), jedoch sind keine Angaben zu finden ob und in welchem Ausmaß es bei freier, zufälliger Bestäubung (Panmixie) auch zur Selbstbefruchtung innerhalb einer Pflanze kommt. Diese Information ist jedoch für die geplante Züchtungsarbeit von großer Bedeutung, da bei der Produktion von Hybridsaatgut im Idealfall nur Samen aus der Kreuzung zwischen den Elternlinien entstehen sollen.

Zur Überprüfung ob Saatgut durch Selbstung oder Fremdbefruchtung entstanden ist, können Polymorphismen unterschiedlichster Art genutzt werden. Es ist in diesem Zusammenhang nur wichtig, dass sich die Eltern in mindestens einem homozygot vorliegenden morphologischen

Merkmal, molekularen oder biochemischen Marker unterscheiden. Es wurde zunächst versucht, biochemische Marker (Isoenzyme) zu nutzen.

Isoenzyme sind Genexpressionen, mit deren Hilfe Polymorphismen im Phänotyp und damit auch im Genotyp gefunden werden können. Nach MARKERT und MÖLLER (1959) sind Isoenzyme multiple molekulare Formen eines Enzyms mit ähnlicher oder gleicher Funktion. Einzelne Isoenzyme können gewebe-, entwicklungs- oder artspezifisch sein und unterscheiden sich in ihrer elektrophoretischen Mobilität.

Da es bislang für Baldrian kein Verfahrensprotokoll gab, wurden zunächst verschiedene Extraktions- und Elektrophoreseverfahren für die unterschiedlichen Isoenzymssysteme geprüft. Diese Arbeiten wurden an der LfL in Freising in Zusammenarbeit mit Prof. Müller-Starck (ehemals Fachbereich für Forstgenetik an der TU München) sowie am Bayerischen Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht in Teisendorf durchgeführt.

### **Material und Methoden**

2009 wurden in Freising je 40 Pflanzen aus vier tetraploiden Baldrianherkünften (BLBP 45, 58, 60, 85) auf mögliche Polymorphismen zwischen den Herkünften und auch innerhalb der Herkünfte untersucht. Das Saatgut der Herkünfte stammte aus einer panmiktischen Vermehrung 2008. Die Anzucht der Jungpflanzen erfolgte im Sommer 2009 als pikierete Einzelpflanzen. Im 2- bis 4-Blattstadium (etwa sieben Wochen nach der Aussaat) wurden die Pflanzen für eine Woche bei etwa 5 °C in einer Klimakammer mit 16 h/Tag Belichtung kühl gestellt. Intern gesammelte Erfahrungen zeigten, dass die Ergebnisse der Gel-Elektrophorese sich nach einer Kälte-Vorbehandlung besser auswerten lassen sollten. Die Beprobung erfolgte an den jüngsten Blättern da diese nach SOLTIS und SOLTIS (1989) eine höhere enzymatische Aktivität aufweisen als älteres Blattmaterial. Für die Herstellung des Extrakts wurden für die Stärkegel-Elektrophorese (SGE) pro Pflanze Blattmaterial in der Größe von etwa 2 cm<sup>2</sup>, für die Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE) von etwa 7 cm<sup>2</sup> entnommen und bis zur Extraktion kühl aufbewahrt.

Die SGE erfolgte in horizontalen Elektrophorese-Kammern (Model Desaphor HE 125) bei Stromstärken zwischen 60 und 180 mA, einer Spannung von 500 V und einer Laufzeit von 5-6 Stunden. Die PAGE der Superoxid-Dismutase (SOD) wurde bei 25 mA und 300 V für 3,5 Stunden in einer Multigel-Long-Kammer der Firma Biometra durchgeführt. Im Anschluss an die Trennung wurden die Gele, nach kurzem Einwirken eines Vorpuffers, mit der jeweils enzymespezifischen Färbelösung bei 39 °C, Dunkelheit und stetigem Schütteln für 0,5 Stunden (PAGE) bzw. 1-2,75 Stunden (SGE) gefärbt.

Zusätzlich wurden anfang Februar 2011 zehn sich in Winterruhe befindende Baldrian Pflanzen aus BLBP 14, 20, 21, 83, 89, 90, 96 und 99 nach dem SGE-Protokoll für Buche des ASP untersucht. Es wurden Proben von kleinen Blattaustrieben (sofern vorhanden) oder von noch nicht ausgetriebenen Blattknospen der im Gewächshaus überwinterten Pflanzen für die Untersuchungen verwendet. An zwei Pflanzen der Herkünfte BLBP 20 und 99 erfolgte zusätzlich die Beprobung von Adventivwurzeln.

Die Trennung erfolgte mittels SGE bei 60-180 mA, mittels PAGE bei 25 mA. Für Isocitrat-Dehydrogenase (IDH), Aconitase (ACO), Malat-Dehydrogenase (MDH) und 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-PGDH) wurde 2011 der Tris-Citro Puffer, sowie Gerbu-Stärke oder ein Gemisch von Gerbu- und Biomol-Stärke verwendet. Bei Phosphogluco-Isomerase (PGI) und Glutamat-Oxalacetate-Dehydrogenase (GOT) erfolgte die Trennung mit dem Ashton-Puffer und Biomol-Stärke. 2009 wurde für die Trennung Toronto-Stärke verwendet. Die Laufzeit betrug zwischen 3,5 und 6,0 Stunden. Die Färbung erfolgte mit der jeweiligen enzymespezifischen Reaktionslösung.

Die in Freising und Teisendorf untersuchten Isoenzymssysteme sind in Tabelle 1 aufgeführt. Das GDH (Isoenzymssystem Glutamat-Dehydrogenase) und SOD wurden nur in Freising, das Isoenzymssystem GOT nur in Teisendorf untersucht.

**Tab. 1** Elektrophoresemethode und Puffersystem zur Trennung der jeweiligen Isoenzyme für die Suche nach Polymorphismen in den Baldrianherkünften BLBP 45, 58, 60, 85 in 2009 und BLBP 14, 20, 21, 83, 89, 90, 96, 99 in 2011

Labor \ Jahr	Abkürzung	Isoenzymssystem	Trennmethode	Puffersystem	pH-Wert		Stromstärke [mA]		Trenndauer [h]	
					2009	2011	2009	2011	2009	2011
Freising \ 2009	GDH	Glutamat-Dehydrogenase	SGE	Tris-Citro	7,5		180		5,5	
	SOD	Superoxid-Dismutase	PAGE	Tris-Borsäure	7,1		25		3,5	
	ACO	Aconitase	SGE	Ashton	8,1	8,1	60	180	5	5,75
	IDH	Isocitrat-Dehydrogenase	SGE	Tris-Citro	7,5	7,5	180	180	5,5	5,75
	MDH	Malat-Dehydrogenase	SGE	Tris-Citro	7,8	7,5	160	180	6	5,75
	MNR	Menadion-Reduktase	SGE	Ashton	8,1	8,1	60	100	5	5,75
	PGI	Phosphogluco-Isomerase	SGE	Ashton	8,1	8,1	60	100	5	5,75
	PGM	Phosphoglucomutase	SGE	Tris-Citro	7,8	7,5	160	180	6	5,75
	SKDH	Shikimat-Dehydrogenase	SGE	Tris-Citro	7,5	7,5	180	180	5,5	5,75
	6-PGDH	6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	SGE	Tris-Citro	7,8	7,5	160	180	6	5,75
Teisendorf \ 2011	GOT	Glutamat-Oxalacetate-Dehydrogenase	SGE	Ashton		8,1		100		5,75

### Ergebnisse und Diskussion

Die Intensität der Färbung, die Interpretation der Bandenmuster und die Anzahl der beobachteten Färbezonen (d. h. Loci) sind in Tabelle 2 für die 170 Individuen aus 12 Baldrianherkünften dokumentiert. Details wie die Anzahl kodierender Allele und die Struktur der Isoenzyme konnten 2009, mit Ausnahme von ACO, MNR und PGI, wegen der schlechten Interpretierbarkeit der Zymogramme nicht ausgewertet werden. Im System SOD konnte keine Färbung der Gele erzielt werden.

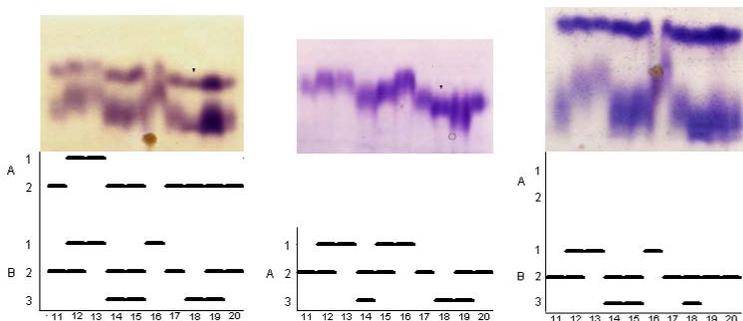
In Abb. 1 sind die 2009 entstandenen Zymogramme der Individuen 10 bis 20 von BLBP 45 für die Isoenzymssysteme ACO, MNR und PGI abgebildet. Insgesamt sind bei Betrachtung aller Individuen bei ACO zwei Loci zu beobachten. Locus A weist zwei Allele auf, ist jedoch überwiegend monomorph (kaum Variationen). Bei Locus B werden drei Allele vermutet. Die vorliegende Enzymstruktur ist monomer. MNR weist nur einen Locus auf, bei welchem drei Allele vermutet werden. Die beobachtete Enzymstruktur von MNR ist monomer. Bei PGI konnten, wie bei ACO, zwei Färbezonen beobachtet werden. Während Zone A vermutlich zwei Allele aufweist, finden sich in Zone B drei Allele. Die Enzymstruktur ist aufgrund schlechter Trennschärfe nicht zu erkennen. Bei der Interpretation der Zymogramme wurde von einer monomeren Struktur ausgegangen.

Auffällig ist die große Ähnlichkeit der Zymogramme von ACO, PGI und MNR. Die Bandenmuster ACO-B sind, von wenigen Banden abgesehen, identisch mit PGI-B. Ebenso gleicht das Zymogramm der MNR dem B-Locus von ACO und PGI. Diese Auffälligkeit wurde ausnahmslos bei allen Elektrophorese-Läufen beobachtet. Es wurde angenommen, dass beobachtete Unterschiede im Bandenmuster auf die relativ schlechte Interpretierbarkeit zurückzuführen sind. Der Verdacht, dass ein substratunspezifisches Enzym die Färbung katalysiert, wurde versucht auszuräumen. Hierzu wurde eine Farblösung, bestehend u. a. aus Tris-HCl-Vorpuffer getestet. Es wurde keinerlei Färbung der Gele erzielt. Welches Enzym in diesem Versuch tatsächlich die Färbung bei den Zymogrammen der ACO, der PGI und der MNR verursacht, kann auf dieser Informationsgrundlage nicht beantwortet werden. Mit ACO, MNR und PGI ist daher ausschließlich das im Labor entstandene Zymogramm, und nicht das eigentliche Isoenzymssystem, gemeint.

**Tab. 2** Allgemeine Qualität der Färbung und der Interpretierbarkeit der Zymogramme sowie die Anzahl der Färbezonen in Abhängigkeit vom Isoenzymssystem; Baldrianherkünfte 45, 58, 60, 85 in 2009 und BLBP 14, 20, 21, 83, 89, 90, 96, 99 in 2011

Labor \ Jahr	Isoenzym-system	Färbezonen (Loci)	Färbung	Interpretierbarkeit	Variation
Freising \ 2009	ACO	2	gut	mäßig	wenig
	GDH	2	schlecht	schlecht	nicht auswertbar
	IDH	2	gut	schlecht	nicht auswertbar
	MDH	3	gut	schlecht	nicht auswertbar
	MNR	1	gut	mäßig	vorhanden
	PGI	2	gut	schlecht	wenig
	PGM	---	mäßig	schlecht	nicht auswertbar
	SKDH	1	mäßig	schlecht	nicht auswertbar
	SOD	---	---	---	---
	6-PGDH	1	gut	schlecht	nicht auswertbar
Teisendorf \ 2011	ACO	2	gut	Blatt/Trieb: schlecht; Wurzel: g	wenig
	GOT	3	Loci A und B gut, C nur bei Wurzel	Blatt/Trieb: schlecht; Wurzel: g	vorhanden
	IDH	1 ?	gut	schlecht	nicht auswertbar
	MDH	Viele, komplex	gut	schlecht	nicht auswertbar
	MNR	---	keine	---	---
	PGI	2	gut	Locus A gut, Locus B schwierig, bei Wurzel besser	vorhanden
	PGM	2, überlappend	gut	Variabel; Wurzel tw. besser	vorhanden
	SKDH	1	gut	Gut, Wurzel tw. besser	keine
	6-PGDH	3	stark	Variabel; Wurzel tw. besser	wenig

ACO - Aconitase; GDH - Glutamat-Dehydrogenase; GOT - Glutamat-oxalacetate-Dehydrogenase; IDH - Isocitrat-Dehydrogenase; MDH - Malat-Dehydrogenase; MNR - Menadion-Reduktase; PGI - Phosphogluco-Isomerase; PGM - Phosphoglucomutase; SKDH - Shikimat-Dehydrogenase; SOD - Superoxid-Dismutase; 6-PGDH - 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase



**Abb. 1** Zymogramme und deren Interpretation (v.l.n.r) der Isoenzymssysteme Aconitase (ACO), Menadion-Reduktase (MNR) und Phosphogluco-Isomerase (PGI) der Individuen 11 bis 20 der Baldrianherkunft BLBP 45.

In den Untersuchungen 2011 waren die meisten Enzymsysteme gut angefärbt (siehe Tab. 2); die Interpretation war beim Blatt- bzw. Triebmaterial bis auf wenige Ausnahmen schwierig. Dagegen waren die Banden der beiden Wurzelproben meist deutlich besser abgegrenzt. Auf Grund der schwierigen Interpretation waren genaue Aussagen zur Variation und Abweichung der Individuen nur bei PGI und GOT möglich. Im System GOT wird bei Extraktion aus Wurzelmaterial das größte Potenzial zur Nutzung von Polymorphismen gesehen.

### **Schlussfolgerungen**

Die Nutzbarmachung der Isoenzym-Polymorphismen würde weitere Versuchsreihen zur Verbesserung der Methode auf der Basis von Wurzelextrakten erfordern. Welchen Einfluss die Ontogenese und der Tagesrhythmus auf die Aktivität einzelner Isoenzyme in Baldrian hat, ist nicht untersucht worden. Da Isoenzyme entwicklungs- und gewebespezifisch sein können (MARKERT UND MOLLER 1959) muss damit auch bei Baldrian gerechnet werden, zumal die aus Pflanzen unterschiedlichen Alters und verschiedenen pflanzlichen Geweben gewonnenen Ergebnisse darauf hindeuten. Zudem ist wegen des eher seltenen Auftretens von Polymorphismen und der geringen Anzahl von Loci eine Prognose über deren Auftreten und Nutzung in potenziellen Inzuchtlinien sehr ungewiss. Daher wurde dieser Weg beendet und molekulare Marker, deren Untersuchungsmethode für Baldrian mittlerweile etabliert ist, für die Klärung der Fremdbefruchtungsrate angewendet.

### **Danksagung**

Gedankt sei all denen, die durch ihre Bereitstellung von Labor- und Arbeitszeitkapazitäten, ihre fachliche und praktische Hilfestellung bei Problemen diese Arbeit ermöglicht haben. Dies waren am Lehrstuhl für Forstgenetik der TU München Herrn Prof. Dr. Gerhard Müller-Starck (emeritiert seit April 2011) und Herr Paetsch, an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft Frau Silke Vana (IPZ 6d) und am ASP Frau Susanne Nowak.

Die Baldrianzüchtung ist Teil des Verbundvorhabens „Verbesserung der internationalen Wettbewerbsposition des deutschen Arzneipflanzenanbaus am Beispiel der züchterischen und anbautechnologischen Optimierung von Kamille, Baldrian und Zitronenmelisse (KAMEL)“ und wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger des BMEL für das Förderprogramm Nachwachsende Rohstoffe unterstützt.

#### Literatur:

- HEEGER, E.F., 1956: Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaues. Deutscher Bauernverlag, Berlin  
MARKERT, C.L. and F. MOLLER, 1959: Multiple Forms of Enzymes. Proc. Natl. Acad. Sci., Washington  
SOLTIS, D.E. and S.S. SOLTIS, 1989: Isozymes in Plant Biology, Chapman and Hall, London

## P 12 Phytochemische Untersuchungen an einer Melissenkollektion

Remigius Chizzola<sup>1\*</sup>, Ulrike Lohwasser<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe,  
Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich

<sup>2</sup>Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK),  
06466 Stadt Seeland, OT Gatersleben, Deutschland

DOI 10.5073/jka.2014.446.042



### Zusammenfassung

Von einer Kollektion von 28 Melissen-Akzessionen (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae), die am IPK Gatersleben kultiviert wird, konnten zwei Schnitte der vegetativen Pflanzen gewonnen und phytochemisch charakterisiert werden. In den Blättern des zweiten Schnittes war mehr ätherisches Öl enthalten als in denen des ersten Schnittes. Zudem enthielten Pflanzen der Unterart *officinalis* mehr ätherisches Öl mit Komponenten wie Neral und Geranial als jene der Unterart *altissima* mit den Sesquiterpenenen  $\beta$ -Caryophyllen und Caryophyllenoxid. Des Weiteren wurde der Gehalt an Rosmarinsäure sowie der Gesamtphenolgehalt und das antioxidative Potential (DPPH-Test, Fe(III)-Reduktion) gemessen. Die Gehalte an Rosmarinsäure in den Blättern reichten von 28 bis 96 mg/g Trockenmasse. Im ersten Schnitt waren die Gehalte zumeist etwas höher als im zweiten und die Unterart *altissima* hatte insbesondere beim zweiten Schnitt geringere Gehalte als die Unterart *officinalis*. Insgesamt ergab sich auch eine gute Korrelation zwischen den Gehalten an Rosmarinsäure, den Gesamtphenolen und den antioxidativen Parametern.

## **P 13 Quercetin- und Kämpferol-Malonylglycoside in Schwarzen Johannisbeerblättern (*Ribis nigri folium*)**

*Quercetin and Kaempferol Malonylglycosides in Black Currant Leaves*

**Isabelle Kölling-Speer, Annika Böhme, Karl Speer**

Technische Universität Dresden, Professur für Spezielle Lebensmittelchemie und Lebensmittelproduktion, Bergstraße 66, 01069 Dresden, Deutschland  
karl.speer@chemie.tu-dresden.de, Tel. 0351 / 46333132



DOI 10.5073/jka.2014.446.043

### **Zusammenfassung**

Aufgüsse von Schwarzen Johannisbeerblättern werden aufgrund ihrer entzündungshemmenden und diuretischen Eigenschaften in Europa traditionell zur Behandlung von rheumatischen Erkrankungen eingesetzt. Für die Wirkung werden in der Literatur vor allem Polyphenole in ihrer gebundenen Form verantwortlich gemacht. Bei den schwarzen Johannisbeerblättern handelt es sich dabei hauptsächlich um Quercetin- und Kämpferolmalonylglycoside. In der vorliegenden Studie werden das Vorkommen und die Verteilung der Polyphenole in den Blättern verschiedener Schwarzer Johannisbeersorten vorgestellt; hierzu wurden die Extrakte mit HPLC-DAD und HPLC-MS/MS analysiert. Zudem wurden die Veränderungen der Polyphenole infolge technologischer Prozesse wie Heißwasserextraktion und Sprühtrocknung untersucht.

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass die Malonylglycoside instabil sind; der Grad des Abbaus ist abhängig von den jeweiligen Prozessbedingungen.

Stichwörter: Polyphenole, Quercetin-Malonylglycosid, Kämpferol-Malonylglycosid, *Ribis nigri folium*

### **Abstract**

Extractions from black currant leaves are traditionally used in Europe for the treatment of rheumatic diseases. Their anti-inflammatory and diuretic properties seem to constitute the basis of this treatment. Owing to literature data it could be assumed that the polyphenols in their conjugated forms are responsible for these effects. The main polyphenolic components in black currant leaves are quercetin and kaempferol malonylglycosides. To study their occurrence, the polyphenolics in the leaves of various black currant cultivars were analyzed by HPLC-DAD and HPLC-MS. Furthermore, the changes caused by different drying procedures and technological processes, e.g. hot-water extraction and spray-drying, were also examined.

The investigations revealed that the malonylglycosides of quercetin and kaempferol are unstable; the extent of the hydrolysis depends on the respective procedures.

Keywords: Polyphenols, quercetin malonylglycoside, kaempferol malonylglycoside, *Ribis nigri folium*

## **P 14 Phenolsäuregehalte und antioxidative Kapazität in Wurzelextrakten von *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

*Phenolic acid contents and antioxidant capacity in root extracts of *Salvia miltiorrhiza* Bunge*

**Young-Hyun Sung, Feng Yan, Theresa Krippel, Ronny Krämer, Bernd Honermeier**

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I, Justus-Liebig-Universität Gießen,  
Schubertstr. 81, 35392 Gießen  
young.h.sung@agr.uni-giessen.de



DOI 10.5073/jka.2014.446.044

### **Zusammenfassung**

In den Jahren 2008-2009 wurden in der Versuchsstation Groß-Gerau (Sandboden) Feldversuche mit Chinesischem Salbei durchgeführt. Die erzielten Ergebnisse bringen zum Ausdruck, dass die Gehalte an Salvianolsäure B und Rosmarinsäure sowie die antioxidative Kapazität signifikant durch den Erntetermin beeinflusst sind. Die Gehalte beider Phenolcarbonsäuren und die antioxidative Kapazität waren im Frühjahr nach der Überwinterung des Salbeis deutlich höher als in den Herbstmonaten. Der höchste Gehalt an Salvianolsäure B wurde im Frühjahr (28. 04. 2009) mit einem Mittelwert von 5,26 % erreicht. Die Ergebnisse belegen, dass Salvianolsäure B am stärksten zur antioxidativen Kapazität in den Salbeiwurzeln beiträgt. Einen weiteren Beitrag zur antioxidativen Kapazität leisten auch die Rosmarinsäure und das Tanshinon I.

Stichwörter: *Salvia miltiorrhiza*, Salvianolsäure B, Rosmarinsäure, Tanshinone, antioxidative Kapazität

### **Abstract**

In 2008-2009 field experiments with *Salvia miltiorrhiza* were carried out in the research station Gross-Gerau (sand soil). The received data show that the contents of salvianolic acid B, rosmarinic acid and antioxidant capacity significantly depend on the harvest time of *S. miltiorrhiza*. Content of both phenolic acids and antioxidant capacity were significantly higher in spring after overwintering than in autumn. The highest level of salvianolic acid B was reached in spring with an average of 5.26 % dry matter. The results show that salvianolic acid B contributes most to enhancing antioxidant capacity in root extracts of *S. miltiorrhiza*. Rosmarinic acid and tanshinon I provide another contribution to antioxidative capacity.

Keywords: *Salvia miltiorrhiza*, salvianolic acid B, rosmarinic acid, tanshinones, antioxidant capacity

### **Einleitung**

Chinesischer Salbei (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) ist eine mehrjährige Arzneipflanze aus der Familie der Lippenblütler (*Lamiaceae*), deren Wurzeln in der TCM für die Therapie von kardiovaskulären und zerebrovaskulären Erkrankungen sowie bei Hyperlipidämie eingesetzt werden (ADAMS et al., 2006). Für die pharmakologische Wirkung werden die Tanshinone (Diterpene) und Phenolsäuren verantwortlich gemacht, denen u. a. eine antioxidative Wirksamkeit zugesprochen wird. Die Wirkstoffgehalte können durch die Wachstumsbedingungen der Pflanze beeinflusst werden. Untersuchungen zur antioxidativen Kapazität von *S. miltiorrhiza*, der in Deutschland kultiviert wurde, liegen bislang noch nicht vor. Das Ziel der durchgeführten Untersuchungen besteht deshalb darin, die antioxidative Kapazität von Wurzelextrakten aus *S. miltiorrhiza* zu bestimmen und zu klären, durch welche Verbindungen die antioxidative Wirkung beeinflusst wird.

### **Material und Methoden**

Die analysierten Wurzelproben stammen aus einem Feldversuch, der in der Versuchsstation Groß-Gerau (Sandboden) der Justus-Liebig-Universität Giessen von 2008 bis 2009 durchgeführt wurde. Die Ernte der Salbeiwurzel erfolgte an insgesamt sechs Terminen (zwei Erntetermine im ersten Anbaujahr und vier Erntetermine im zweiten Anbaujahr). Die antioxidative Kapazität wurde mittels ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)-Methode untersucht. Die Messung der Wirkstoffgehalte erfolgte mittels HPLC-Methode.

### **Ergebnisse**

Bei den Ernteterminen im Herbst war das Niveau der Salvianolsäure B Gehalte mit einem Mittelwert von 3,41 % TM (31. 10. 2008) und 3,19 % TM (02. 12. 2008) relativ gering im Vergleich zu den Ernteterminen im Frühling bzw. in den Sommermonaten des zweiten Anbaujahres. Ein starker Anstieg der Gehalte ist vom zweiten (02. 12. 2208) zum dritten Erntetermin (28. 04. 2008) zu verzeichnen. Die höchsten Gehalte an Salvianolsäure B

wurden an diesem Erntetermin (28. 04. 2008) im Frühjahr nach der Überwinterung mit einem Gehalt von 5,26 % TM erreicht. An den Folgeterminen war ein signifikanter Rückgang zu beobachten. Die Gehalte an Rosmarinsäure in den Salbeiwurzeln lagen in der Spanne von 0,25 % bis 0,71 % TM. Auch hier war ein gesicherter Einfluss des Erntetermins auf die Gehalte an Rosmarinsäure zu beobachten. So waren die Werte im zweiten Anbaujahr, insbesondere zur Ernte in den Sommermonaten deutlich höher als zur Ernte im Frühjahr und mehr als doppelt so hoch wie im Vorjahr. Als möglicher Grund für die geringeren Gehalte beider Phenolcarbonsäuren in den Herbstmonaten im ersten Anbaujahr könnte neben dem fortgeschrittenen physiologischen Alter der Pflanze auch das geringere Lichtangebot (Kurztag) gewesen sein. So wurde zu diesen Terminen eine beginnende Seneszenz der Salbeipflanze beobachtet, die zu einer Verminderung der Phenolsäuresynthese geführt haben könnte.

Die durchgeführte Korrelationsanalyse zeigt, dass ein relativ enger Zusammenhang zwischen der antioxidativen Kapazität und dem Gehalt an Salvianolsäure B in den Salbeiwurzeln besteht ( $r=0,70$ ). Bei Rosmarinsäure konnte nur ein mittlerer Zusammenhang zur antioxidativen Kapazität ( $r=0,50$ ) beobachtet werden. Dass ein Zusammenhang zwischen der antioxidativen Aktivität und der chemischen Struktur verschiedener phenolischer Verbindungen besteht, ist bereits bekannt. Die größere Anzahl an OH-Gruppen am aromatischen Ring der Salvianolsäure B (Tetramer der Kaffeesäure) könnte ein entscheidender Grund dafür sein, dass diese Phenolsäure auch in Salbeiwurzeln zu einer hohen antioxidativen Wirkung beiträgt.

Die Ergebnisse belegen weiterhin, dass die antioxidative Kapazität auch von dem Gehalt an Tanshinon I ( $r=0,37$ ) abhängig sein kann. Dass Tanshinon I über ein gewisses antioxidatives Potential verfügt, wurde bereits in einigen Studien nachgewiesen (WENG et al., 1992; PAULUS, 2002). Bei Tanshinon IIA und Cryptotanshinon konnte jedoch kein Zusammenhang zur antioxidativen Kapazität beobachtet werden. WENG et al. (1992) berichteten früher bereits, dass die antioxidative Wirksamkeit dieser Komponenten mit der o-Chinonstruktur und mit dem aromatischen Ring A von Tanshinon I verbunden sein kann.

## Danksagung

Wir bedanken uns recht herzlich bei Herrn Prof. Rudolf Bauer, Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Karl-Franzens-Universität, Graz, für die Bereitstellung der HPLC-Methode.

## Literatur

- PAULUS, K., 2002: Untersuchungen zur Leukotrienbiosynthesehemmenden Wirkung chinesischer Arzneidroge, insbesondere von *Salviae miltiorrhizae radix*, Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- ADAMS, J., WANG, J. und E.J. JIEN, 2006: Preclinical and clinical examinations of *Salvia miltiorrhiza* and its tanshinones in ischemic conditions. Chinese Medicine <http://www.cmjournal.org/content/1/1/3>.
- CAI, Y.Z., SUN, M., XING, J., LUO Q. und H. CORKE, 2006: Structure – radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life sciences **78**, 2872-2888.
- PAULUS, K., 2002: Untersuchungen zur Leukotrienbiosynthesehemmenden Wirkung chemischer Arzneidroge, insbesondere von *Salviae miltiorrhizae radix*, Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
- SUNG, Y.H. und B. HONERMEIER, 2013: Einfluss von Anbaumethode und Erntetermin auf den Wurzeltrug und den Gehalt an Tanshinonen von Chinesischem Salbei (*Salvia miltiorrhiza* Bunge). Zeitschrift für Arznei- & Gewürzpflanzen, **18**, 34-41.
- WENG, X.C. und M.H. CORDON, 1992: Antioxidant activity of quinines extracted from Tanshen (*Salvia miltiorrhiza* Bunge), J. Agric. Food Chem. **40**, 1331-1336.

## **P 15 Wertgebende Inhaltsstoffe in Spitzwegerich (*Plantago lanceolata* L.) und weiteren *Plantago*-Arten**

*Bioactive constituents of ribwort (Plantago lanceolata L.) and further Plantago species*

**Nicole Beitlich, Isabelle Kölling-Speer, Karl Speer**

Technische Universität Dresden, Professur für Spezielle Lebensmittelchemie und Lebensmittelproduktion, Bergstraße 66, 01069 Dresden, Deutschland  
karl.speer@chemie.tu-dresden.de, Tel. 0351/46333132



DOI 10.5073/jka.2014.446.045

### **Zusammenfassung**

Für den seit der Antike als Heilpflanze verwendeten Spitzwegerich sind zahlreiche innere und äußerliche Anwendungen bekannt. Die Monographie der HMPC (*Committee for Herbal Medicinal Products*) beschreibt den Einsatz bei Katarrhen der Luftwege und bei entzündlichen Veränderungen der Mund- und Rachenschleimhaut. Angesichts seiner medizinischen Relevanz wurde Spitzwegerich als Arzneipflanze des Jahres 2014 durch Mitarbeiter der Universität Würzburg ausgezeichnet. Allerdings ist die Anzahl wissenschaftlicher Veröffentlichungen hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung und der daraus abgeleiteten pharmakologischen Wirkung begrenzt. Fanden früher die Schleimstoffe große Beachtung, rücken in der heutigen Zeit vor allem die Iridoidglukoside Catalpol und Aucubin und das Phenylethanoid Verbascosid in den Fokus. Eine vergleichende Untersuchung dieser drei wertgebenden Inhaltsstoffe in einer Anzahl verschiedener *Plantago*-Arten ist bisher nicht bekannt.

Für die Charakterisierung des Pflanzenmaterials wurde eine reproduzierbare HPLC-DAD-MS/MS-Analysenmethode entwickelt, welche eine simultane Erfassung der beiden Hauptsubstanzklassen Iridoide und Phenylethanoide erlaubt. Insgesamt konnten 17 Verbindungen in Spitzwegerichblättern identifiziert werden, darunter fünf Substanzen erstmalig. Neben den drei wertgebenden Inhaltsstoffen wurden zusätzlich die im Spitzwegerichchromatogramm prägnanten Verbindungen Plantamajosid und Eukovosid auch in zehn weiteren *Plantago*-Arten quantitativ bestimmt. Dabei erfolgte erstmals die Untersuchung der Arten *Plantago major* ‚Rubrifolia‘, *Plantago raoulii* und *Plantago arborescens*. Während *Plantago raoulii* und *Plantago arborescens* nur geringe Gehalte an Plantamajosid aufwiesen, grenzten sich *Plantago major* ‚Rubrifolia‘ und Breitwegerich (*Plantago major*) mit höheren Gehalten eindeutig vom Spitzwegerich ab. Dem Spitzwegerich am ähnlichsten hinsichtlich qualitativer und quantitativer Merkmale erwies sich der Mittlere Wegerich (*Plantago media*).

Stichwörter: Spitzwegerich, *Plantago*, Iridoide, Phenylethanoide, HPLC-DAD-MS/MS

## **P 16 Polyphenole in *Cistus incanus* Tee: Ein wichtiges Qualitätskriterium zur Beurteilung der antibakteriellen Wirkung**

*Polyphenols in Cistus incanus tea: An important quality criterion for the evaluation of the antibacterial effect*

**Gesche Wittpahl<sup>1</sup>, Isabelle Kölling-Speer<sup>1</sup>, Sabine Basche<sup>2</sup>, Christian Hannig<sup>2</sup>, Karl Speer<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Technische Universität Dresden, Professur für Spezielle Lebensmittelchemie und Lebensmittelproduktion, Bergstraße 66, 01067 Dresden, Deutschland  
karl.speer@chemie.tu-dresden.de, Tel. 0351 / 463 331 32

<sup>2</sup>Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Professur für Kariologie, Zahnhartsubstanzlehre und Endodontie



DOI 10.5073/jka.2014.446.046

### **Zusammenfassung**

*Cistus incanus* Tee erfährt aufgrund seiner vielseitigen pharmakologischen Wirkungen eine immer größere Beliebtheit. Da die positiven Effekte hauptsächlich auf die Polyphenole zurückgeführt werden, sind diese Substanzen von erheblicher Bedeutung für die Qualitätsbeurteilung der Tees. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Polyphenole vier verschiedener Handelsproben von *Cistus incanus* Tee unterschiedlicher Preisklassen untersucht.

Mit Hilfe von LC-DAD-ESI-MS/MS konnten im PLE-Extrakt 29 Polyphenole identifiziert werden, darunter sechs Verbindungen, die bisher noch nicht für *Cistus incanus* beschrieben worden waren. Zwischen den vier Handelsproben wurden qualitativ kaum, quantitativ aber große Unterschiede deutlich. Diese ließen sich auf unterschiedliche Mengenverhältnisse an holzigen Bestandteilen zurückführen.

Zusätzlich wurde die *in vitro* antibakterielle Wirkung der Handelsproben auf *Streptococcus mutans* – den Leitkeim der Kariogenese – untersucht. Durch den Einsatz eines schnellen Vitalfärbeverfahrens (LIVE/DEAD®BacLight™) konnte eine positive Korrelation zwischen den verschiedenen Polyphenolgehalten und der Wirksamkeit nachgewiesen werden. Dennoch wirkten alle untersuchten Teeproben antibakteriell auf *Streptococcus mutans*, sodass *Cistus incanus* Tee eine Ergänzung zur Kariesprophylaxe darstellen könnte.

Stichwörter: *Cistus incanus* Tee, Polyphenole, Qualitätskontrolle, *Streptococcus mutans*, antibakterielle Wirkung, Karies

## **P 17 Stabilität von Herzglykosiden in wässrigen bzw. wässrig fermentierten Extrakten aus der Meerzwiebel (*Drimia maritima* (L.) Stearn)**

*Stability of cardiac glycosides in aqueous and fermented aqueous extracts from sea squill (*Drimia maritima* L. Stearn)*

**Diana N. Knittel, Florian C. Stintzing, Dietmar R. Kammerer\***

WALA Heilmittel GmbH, Abteilung Analytische Entwicklung / Forschung,  
Dorfstraße 1, 73087 Bad Boll, Deutschland  
dietmar.kammerer@wala.de.



DOI 10.5073/jka.2014.446.047

### **Zusammenfassung**

In der vorliegenden Studie wurden ein rein wässriger Extrakt und ein wässrig fermentierter Extrakt, hergestellt nach dem Homöopathischem Arzneibuch (HAB), aus der Meerzwiebel (*Drimia maritima* (L.) Stearn) bei unterschiedlichen Temperatur- und Lichtbedingungen gelagert. In regelmäßigen Abständen wurde die Stabilität der Herzglykoside in diesen Extrakten mittels HPLC-DAD-MS<sup>n</sup> bewertet. Die geringsten Abbauraten der Einzelkomponenten wurden bei einer Lagerung im Dunkeln bei 5 °C ermittelt. Schon eine Temperaturerhöhung auf 20 °C beschleunigte den Abbau bzw. die Metabolisierung der Bufadienolide. Die geringste Stabilität wurde unter Belichtung bei 20 °C ermittelt. Außerdem war ein deutlicher Unterschied zwischen den auf unterschiedliche Weisen gewonnenen Extrakten beobachtbar. So wiesen die Herzglykoside im Extrakt, der nach HAB hergestellt wurde, eine deutliche höhere Stabilität unter allen Lagerbedingungen auf.

Stichwörter: Meerzwiebel, Herzglykoside, Stabilität, Belichtung, Pflanzenextrakt, *Drimia maritima* (L.) Stearn

### **Abstract**

In the present study an aqueous and a fermented aqueous extract, obtained according to the German Homoeopathic Pharmacopoeia (GHP), from sea squill (*Drimia maritima* (L.) Stearn) were stored under different light and temperature conditions. Stability of cardiac glycosides in these extracts was evaluated periodically by HPLC-DAD-MS. Lowest degradation rates of individual compounds were observed upon storage at 5 °C in the dark. Increasing the temperature at 20 °C accelerated compound degradation and the formation of bufadienolide metabolites. Poorest stability was found upon storage at 20 °C with light exposure. Furthermore, clear-cut differences were observed between the extracts obtained according to different protocols. Stability of cardiac glycosides in the extract obtained according to the GHP was generally improved, irrespective of the storage conditions.

Keywords: sea squill, cardiac glycosides, stability, light exposure, plant extract, *Drimia maritima* (L.) Stearn

### **Einleitung**

Die herzglykosidhaltige Meerzwiebel (*Drimia maritima* (L.) Stearn) wird als Arzneipflanze hauptsächlich in der homöopathischen und anthroposophischen Medizin eingesetzt. Hierzu werden u.a. wässrige Extrakte verwendet. Studien zur Stabilität von Herzglykosiden liegen bislang nahezu ausschließlich für ethanolische Digitalisauszüge oder getrocknete Digitalis-Blätter vor (MALINGRE, 1968; WICHTL, 1970) und können nur bedingt auf die o.g. Extrakte übertragen werden. Digitalis enthält im Unterschied zur Meerzwiebel Cardenolide als herzwirksame Substanzen, während für die Bufadienolide in *Drimia* bislang kaum Daten vorliegen. Lediglich die Stabilität von Bufadienolid-Aglykonen aus Krötengift, das in der traditionellen chinesischen Medizin (TCM) eingesetzt wird, wurde anhand von Reinsubstanzen im wässrigen Medium bewertet (WENG et al., 2010). Neuere Untersuchungen an *Drimia*-Extrakten zeigten ein komplexes Herzglykosidprofil auf (KNITTEL et al., 2014). In der vorliegenden Arbeit sollte daher der Frage nachgegangen werden, welchen Einfluss das Herstellungsverfahren und die Lagerbedingungen auf die Stabilität von Bufadienoliden in wässriger Lösung haben.

## Material und Methoden

### Extrakterstellung

Aus zerkleinertem, frischem Pflanzenmaterial der Meerzwiebel (Herkunft: Sardinien) wurden zwei Extrakte hergestellt. Der wässrige Auszug wurde durch zweimalige Extraktion mit Wasser bei 5 °C gewonnen. Die vereinigten Fraktionen wurden zur Konservierung mit Sorbinsäure (500 mg/L) versetzt. Der wässrig fermentierte Extrakt wurde gemäß Vorschrift 33b des HAB (HAB, 2011) hergestellt und nach einer 12-monatigen Reifung filtriert.

### Lagerung

Die Extrakte wurden aliquotiert und in Glasgefäßen unter folgenden Bedingungen gelagert:

- Lichtausschluss, 5 °C
- Lichtausschluss, 20 °C
- Tageslicht, 20 °C

Die Proben wurden in regelmäßigen zeitlichen Abständen mittels HPLC analysiert. Die maximale Lagerzeit betrug 180 Tage.

### Charakterisierung und Quantifizierung der Bufadienolide

Die Extrakte wurden zentrifugiert und mittels HPLC-DAD-MS<sup>n</sup> (KNITTEL et al., 2014) analysiert. Die Herzglykoside wurden anhand ihrer UV-Maxima bei  $\lambda = 300$  nm und ihrer MS-Spektren charakterisiert. Eine semi-quantitative Beurteilung der Einzelkomponenten erfolgte über die Peakflächen. Die Stabilität der Einzelkomponenten wurde anhand der auf den zu Beginn der Lagerung bezogenen relativen Peakflächen bewertet.

## Ergebnisse

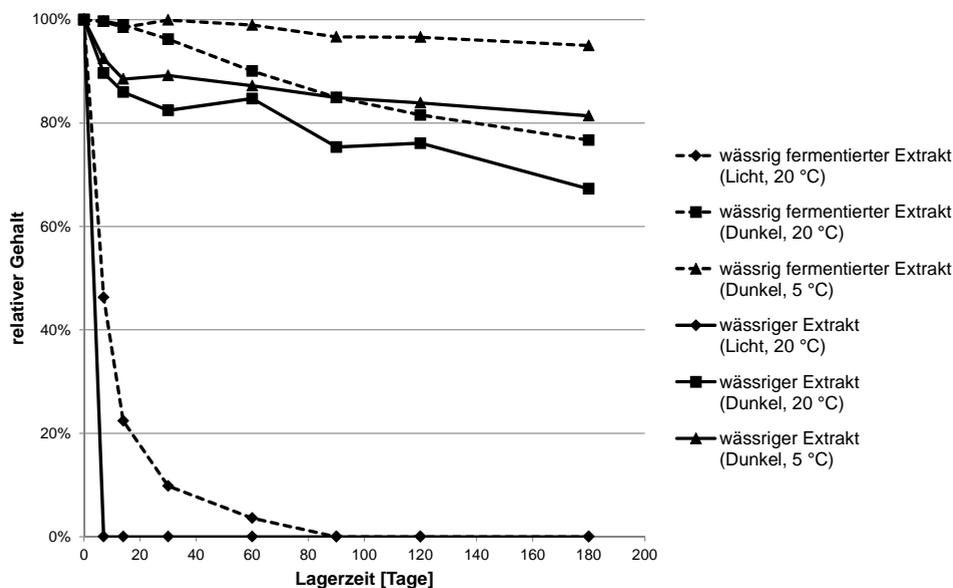
### Wässriger Extrakt

Der rein wässrige Extrakt wies acht Herzglykoside auf. Die geringste Stabilität der Einzelkomponenten war bei einer Lagerung bei 20 °C unter Lichteinfluss zu erkennen. Bereits nach sieben Tagen waren zwei Herzglykoside nicht mehr nachweisbar, vier Verbindungen waren nur noch zu 4-6 % und zwei noch zu 12 % ihres Anfangsgehalts nachweisbar. Nach 14 Tagen waren sämtliche Herzglykoside vollständig abgebaut. Eine wesentlich höhere Stabilität zeigte der unter Lichtausschluss gelagerte Extrakt. Bei einer Temperatur von 20 °C konnten nach 180 Tagen bei sechs der acht Herzglykoside noch 60-80 % der Anfangskonzentrationen ermittelt werden. Zwei Verbindungen wurden in diesem Zeitraum fast vollständig unter Freisetzung des korrespondierenden Aglykons hydrolysiert. Dagegen war der Abbau bei einer Temperatur von 5 °C deutlich verlangsamt. Am Ende der Lagerzeit wurden Gehalte zwischen 70-95 % der Anfangskonzentrationen ermittelt.

### Wässrig fermentierter Extrakt

Im wässrig fermentierten Extrakt konnten zwölf Herzglykoside nachgewiesen werden. Auch hier veränderte sich der Gehalt der Einzelkomponenten am stärksten, wenn der Extrakt bei 20 °C unter Lichteinfluss gelagert wurde. Im Unterschied zum rein wässrigen Extrakt konnten noch nach 30 Tagen Lagerung neun Herzglykoside nachgewiesen werden. Die relative Abbaurate bei einer Lagerung bei 20 °C unter Lichtausschluss betrug nach 180 Tagen bei fünf Herzglykosiden um 20 % und bei weiteren fünf Verbindungen zwischen 35-45 %. Bei zwei Herzglykosiden war in diesem Zeitraum sogar eine Zunahme des Gehalts zu verzeichnen, was vermutlich auf eine Umlagerung strukturell verwandter Herzglykoside, etwa durch Desacetylierung, erklärt werden kann. Bei einer Lagertemperatur von 5 °C wurden erwartungsgemäß geringere Abbauraten der Herzglykoside beobachtet. Alle Verbindungen wiesen am Ende der Lagerzeit noch mindestens 90 % ihres

Anfangsgehalts auf. Wie auch bei der Lagerung bei 20 °C erhöhte sich der Gehalt einer Verbindung durch enzymatische oder chemische Umsetzung strukturverwandter Verbindungen.



**Abb. 1** Stabilität von Herzglykosiden im Verlauf der Lagerung über einen Zeitraum von 180 Tagen am Beispiel von Scillirosid (Scillirosidin-glucosid) in Meerzwiebelextrakten.

**Fig. 1** Stability of cardiac glycosides upon storage for 180 days, exemplified for scilliroside (scillirosidin-glucoside) in sea squill extracts.

Die Daten zeigen, dass im wässrigen Milieu insbesondere Temperatur und Licht einen wesentlichen Einfluss auf die Lagerstabilität der Herzglykoside haben. Eine Lagerung sollte demnach bei möglichst niedrigen Temperaturen und unter Lichtausschluss erfolgen, da hierbei enzymatische und chemische Abbauprozesse deutlich verringert sind. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Extrakterstellung einen merklichen Einfluss auf die Stabilität der Herzglykoside hat. So zeigte sich, dass ein zusätzlicher Fermentationsschritt die Stabilität der Herzglykoside erhöht.

## Literatur

- HAB - HOMÖOPATHISCHES ARZNEIBUCH, 2011: H 5.4.4 Spezielle Herstellvorschriften, Vorschrift 33-37. Govi-Verlag, Eschborn.
- KNITTEL, D. N., STINTZING, F. C. UND D. R. KAMMERER, 2014: Simultaneous determination of bufadienolides and phenolic compounds in sea squill (*Drimia maritima* (L.) Stearn) by HPLC-DAD-MS<sup>n</sup> as a means to differentiate individual plant parts and developmental stages. *Anal Bioanal Chem*, eingereicht.
- MALINGRÉ, T., 1969: Die Stabilität von Pflanzenextrakten. *Pharm Ind* **31**, 15-20.
- WENG, Y., LI, F., MIAO, Y. UND X. TANG, 2010: Intravenous bufadienolides-loaded lipid microspheres for improving chemical stability. *Eur J Lipid Sci Tech* **112**, 1190-1198.
- WICHTL, M., 1970: Wirkstoffänderung bei der Drogenbereitung (Trocknung der Arzneipflanzen). *Pharmazie* **25**, 692-698.

## **P 18 Vergleich schneller, einfacher und robuster Extraktionsmethoden für die Qualitätskontrolle von Thymian**

*Comparison of fast, easy, and robust extraction methods for quality control of thyme*

**Gesche Wittpahl, Stafanie Liesegang, Franziska Gaunitz, Isabelle Kölling-Speer, Karl Speer**

Technische Universität Dresden, Professur für Spezielle Lebensmittelchemie und Lebensmittelproduktion, Bergstraße 66, 01067 Dresden, Deutschland  
karl.speer@chemie.tu-dresden.de, Tel. 0351 / 463 331 32



DOI 10.5073/jka.2014.446.048

### **Zusammenfassung**

Sowohl leichtflüchtige Verbindungen als auch Polyphenole sind charakteristisch für Thymian und andere Küchenkräuter. Sie prägen nicht nur den Geruch und den Geschmack, sondern haben auch ein pharmakologisches Potential. Im Rahmen der Qualitätskontrolle werden meist die leichtflüchtigen Verbindungen betrachtet und durch Wasserdampfdestillation (Ph. Eur. 7) gewonnen. Diese Standardmethode ist jedoch recht zeitaufwendig und erfordert größere Mengen an Probenmaterial. Zudem bleiben die wasserlöslichen nicht flüchtigen Polyphenole häufig unberücksichtigt.

Aufgrund dieser Nachteile haben sich zur Charakterisierung der leichtflüchtigen Verbindungen weitere Extraktionsmethoden etabliert. Und auch für die Extraktion der Polyphenole gibt es eine Reihe verschiedener Methoden. An dieser Stelle sollen deshalb am Beispiel von Thymian-Tee ausgewählte Methoden vergleichend gegenübergestellt werden. Wesentliche Kriterien für die Beurteilung waren neben der Extraktionszeit und -kraft auch der apparative Aufwand und die Matrixbelastung. Zudem wurden Einflüsse auf die Analyten betrachtet und ökonomische sowie ökologische Aspekte berücksichtigt.

Für die Extraktion der leichtflüchtigen Verbindungen waren die Wasserdampfdestillation mit der Clevenger-Apparatur, die Direkte Lösungsmittlextraktion sowie die Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD) sehr gut geeignet. Die Extraktion im Ultraschallbad sowie die Beschleunigte Lösungsmittlextraktion fielen durch die hohe Extraktionsausbeute positiv auf. Beide Methoden sind in der Handhabung einfach; durch die Möglichkeit der Automatisierung ist aber die Beschleunigte Lösungsmittlextraktion (Accelerated Solvent Extraction, ASE) die Methode der Wahl.

Für die wässrige Extraktion der Polyphenole war ein einfacher wässriger Aufguss am besten geeignet. Bei der Beschleunigten Lösungsmittlextraktion sowie beim Kochen unter Rückfluss kam es zu thermischen Abbaureaktionen, während bei der Ultraschallbad-Extraktion enzymatische Abbauprozesse beobachtet wurden.

Stichwörter: Thymian, flüchtige Verbindungen, Polyphenole, Wasserdampfdestillation, Beschleunigte Lösungsmittlextraktion, Matrix Solid Phase Dispersion, Head-Space Solid Phase Micro Extraction

## **P 19 PCR-basierende Identitätsprüfung von Kamille (*Matricaria recutita* L.) und Nachweis von Verunreinigungen mit *Anthemis*-Arten in Kamillenprodukten**

*Quality control of Matricaria recutita L. products by PCR methods and detection of adulterations with Anthemis species*

**Corinna Schmiderer, Johannes Novak**

Veterinärmedizinische Universität Wien, Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich  
Corinna.Schmiderer@vetmeduni.ac.at



DOI 10.5073/jka.2014.446.049

### **Zusammenfassung**

Viele Arten der Korbblütler (Asteraceae) können allergische Reaktionen wie Kontaktdermatitis oder Ekzeme verursachen. Echte Kamille (*Matricaria recutita* L., Tribus Anthemideae) steht unter Verdacht, durch den Gehalt des Sesquiterpenlaktons Antheotolid solche Hautprobleme zu verursachen. Es wird allerdings angezweifelt, ob Antheotolid tatsächlich ein Inhaltsstoff der Echten Kamille ist, oder auf Falschbestimmungen oder Verunreinigungen mit Hundskamillen (*Anthemis*) zurückzuführen ist.

Es wurden zwei PCR-basierte Methoden entwickelt, die Proben von *Matricaria recutita* identifizieren und von anderen Arten der Gattung und anderen Gattungen (z.B. *Anthemis*, *Tanacetum* (*Chrysanthemum*), *Tripleurospermum* und *Leucanthemum*) unterscheiden sollen.

Eine Multiplex-PCR wurde so entworfen, dass ein Primerset verschiedene Abschnitte der trnL-trnF Region vervielfacht. Zwei systematische Primer, die bei allen Pflanzenarten binden sollten, vervielfachen einen ca. 500-700 bp langen Abschnitt als interne Positivkontrolle (die genaue Länge ist artabhängig); ein *M. recutita* und *M. discoidea*-spezifischer Primer vervielfältigt mit einem der systematischen Primer ein ca. 200 bp langes Fragment; ein *Anthemis*-spezifischer Primer vervielfältigt mit einem systematischen Primer ein ca. 350 bp langes Fragment. Das Bandenmuster kann einfach mit 2 %igen Agarosegelen dargestellt werden.

Für die zweite Methode wurden Primer für eine Hochauflösende Schmelzkurvenanalyse (high-resolution melting curve analysis, HRM) entwickelt. Bei der Anwendung von zwei Primerpaaren konnte *M. recutita* von allen anderen analysierten Arten der Gattung und anderer Gattungen unterschieden werden.

Beide Methoden sind bis zu einem gewissen Grad dazu geeignet, Beimischungen von *Anthemis* und anderen Korbblütler-Arten zu erkennen, was mit künstlich hergestellten Mischproben getestet wurde. Wir testeten einige Kamillen Handelsproben (8 Tees, 2 Extrakte, 4 Tabletten/Trockenextrakte), in denen keine Verunreinigungen mit *Anthemis* nachgewiesen werden konnten. Die Standard-Probenverarbeitung ergab bei den (Trocken-)Extrakten keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Diese müsste noch besser auf die schwierigere Matrix adaptiert werden.

Stichwörter: Kamille, *Matricaria recutita* L., DNA-Barcoding, Authentifizierung, PCR

## P 20 Identifizierung biotischer Verunreinigungen durch Hochdurchsatzsequenzierung

*Identification of biotical impurities by next-generation sequencing*

**Brigitte Lukas, Corinna Schmiderer, Johannes Novak**

Institut für Tierernährung und funktionelle Pflanzenstoffe, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich  
Johannes.Novak@vetmeduni.ac.at



DOI 10.5073/jka.2014.446.050

### Zusammenfassung

Mit zunehmender Bedeutung der DNA-Sequenzierung wurden Methoden entwickelt, die einen erhöhten Durchsatz erlauben. Diese Methoden werden allgemein als „Sequenzierung zweiter Generation“ (engl. ‚second generation sequencing‘ oder ‚next-generation sequencing‘) oder „Hochdurchsatzsequenzierung“ bezeichnet (LIU et al., 2012).

Rohmaterialien von Arznei- und Gewürzpflanzen können niemals ganz frei von anderen Pflanzenarten oder mikrobieller Besiedelung sein. Daher wurden Grenzwerte erlaubter Verunreinigungen bzw. mikrobieller Belastung definiert, ohne aber die Arten (mit Ausnahme von gefährlichen Taxa wie z.B. *Salmonella*) zu identifizieren. Die neuen Technologien des Sequenzierens mit erhöhtem Durchsatz könnte man dazu nutzen, neben der Identifizierung der deklarierten Art auch eine Artbestimmung biotischer Verunreinigungen (Pflanzen, Pilze, Bakterien) im selben Analysengang durchzuführen, um eine bessere Risikoabschätzung gewährleisten zu können.

Als Beispiel wurde DNA von zwei Handelsproben von Salbei (*Salviae officinalis folium*) extrahiert und ribosomale DNA-Abschnitte (ITS1 und ITS2), die sowohl bei Pflanzen (LI et al., 2011) als auch bei Pilzen (SCHOCH et al., 2012) zur Artidentifizierung („DNA-Barcoding“) verwendet werden, mit PCR amplifiziert und zur Sequenzierung zweiter Generation (Technologie: Illumina MiSeq) vorbereitet. Bei Probe 1 wurden beim Sequenzieren insgesamt 396.479 Sequenzen, bei Probe 2 199.672 Sequenzen generiert.

Die Auswertung dieser Fülle an Sequenzen ergab, dass neben *Salvia officinalis* bei Probe 1 noch *Nigella sativa* und *Bupleurum baldense*, bei Probe 2 noch *Artemisia abrotanum* auftraten. Ausserdem wurden noch die folgenden Pilze identifiziert: *Aspergillus* sp., *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullans*, *Cladosporium* sp. und *Phoma* sp. in Probe 1; *Aspergillus* sp., *Alternaria alternata*, *Aureobasidium* spp., *Cladosporium* sp. und *Pleospora herbarum* in Probe 2.

Die Anzahl der Sequenzen pro Art könnte man auch quantitativ auswerten, da sie mit der Menge an DNA korreliert. Da aber die Anzahl der Kopien von ITS im Genom von Art zu Art sehr stark variieren kann, und andere Faktoren berücksichtigt werden müssen, ist eine quantitative Aussage nur bedingt zulässig. Durch weitere Entwicklungsarbeit könnte man aber in Zukunft auch quantifizierbare Ergebnisse erzielen. Ein Lauf dieser hochtechnisierten Sequenzierung ist zwar sehr kostspielig, es gibt aber die Möglichkeit viele Proben parallel in einem Sequenzierlauf zu plazieren. Dadurch wäre es möglich, die Kosten auf ein Niveau anderer Routineuntersuchungen zu senken. Insgesamt könnte dies ein guter Ansatz für die Routinekontrolle sein, der es erstmals ermöglicht, die Artzusammensetzungen von Rohmaterialien in einem Analysengang zu bestimmen, sowie auch botanische und mikrobiologische Prüfungen zusammenzuführen.

Stichwörter: DNA-Barcoding, Sequenzierung zweiter Generation, Next Generation Sequencing, Hochdurchsatzsequenzierung, Pflanzen, Pilze, Bakterien, Qualitätskontrolle

### Literatur

- LI, M., CAO, H., BUT, P.P.-H. und P.C. SHAW, 2011: Identification of herbal medicinal materials using DNA barcodes. *J Syst Evol* **49**: 271-283.
- LIU, L., LI, Y., LI, S., HU, N., HE, Y., PONG, R., LIN, D., LU, L. und M. LAW, 2012: Comparison of next-generation sequencing systems. *J Biomed Biotechnol.* **2012**: 251364. doi: 10.1155/2012/251364.
- SCHOCH, C.L., SEIFERT, K.A., HUHNENDORF, S., ROBERT, V., SPOUGE, J.L., LEVESQUE, C.A., CHEN, W., et al., 2012: Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**: 6241-6246.

## **P 21** **Pharmakokinetik-Studie von Ginkgo biloba Extrakt (EGb 761) nach oraler Applikation sowie thermografische Untersuchungen zum Nachweis der durchblutungsfördernden Wirkung beim Pferd**

**Elisabeth Pommer, Natascha Ille, Karin Zitterl-Eglseer, Isabella Hahn-Ramssl, Chlodwig Franz**

Veterinärmedizinische Universität Wien, Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich  
Elisabeth.Pommer@vetmeduni.ac.at

DOI 10.5073/jka.2014.446.051



### **Zusammenfassung**

Zahlreiche Studien belegen die durchblutungsfördernde Wirkung von *Ginkgo biloba* Extrakten, auch im Zusammenhang mit Erfrierungen an den Extremitäten, der peripheren arteriellen Venenverschlusskrankheit (PAVK) sowie Stenosen an den Coronararterien.

Durch diese Eigenschaften ist der Extrakt in der Pferdemedizin, besonders im Bereich der Therapie der Hufrehe, höchst interessant.

Schwerpunkt der Studie war der Nachweis der durchblutungssteigernden Wirkung am Kronrand beim Pferd. Die pharmakokinetische Studie (PK) brachte Daten über Bioverfügbarkeit und Halbwertszeit. Nach einer Baselinephase (5 d) wurden 16 gesunde Pferde über 6 Wochen mit Placebo oder Verum behandelt (5 Tbl. á 240 mg *Ginkgo biloba*-Extrakt pro 500 kg Körpergewicht). Wöchentlich wurden thermografische Messungen sowie Blutanalysen durchgeführt. Für die PK Studie wurde vor bzw. nach oraler Gabe mehrmals Blut gewonnen und mittels GC-MS/MS analysiert.

Die Pharmakokinetik von Bilobalid zeigte ein  $C_{max}$  von 2,3 ng/ml,  $t_{max}$  0,5 h sowie eine eindeutige Resorption. In der Verumgruppe konnte ein signifikanter Temperaturanstieg gemessen werden (an 3 von 7 Messtagen). Die durchblutungsfördernde Wirkung wurde auch beim Pferd nachgewiesen.

### **Danksagung**

Besonderer Dank gilt der Klinischen Abteilung für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie, Veterinärmedizinische Universität Wien, für die Unterstützung. Die Blutanalysen wurden dankenswerterweise durch die Firma Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co. KG durchgeführt. Weiteres danken wir der Prüf-, Überwachungs- und Zertifizierungsstelle der Stadt Wien (MA 39) für die Leihgabe der Thermografie Kamera.

Stichwörter: *Ginkgo biloba*, Thermographie, Pharmakokinetik, Hufrehe

## Autorenindex - List of Authors

Arndt, Natalie .....	67	Koláčková, Pavla .....	42
Baroffio, Catherine.....	76	Kölling-Speer, Isabelle.....	70, 95, 98, 99, 103
Basche, Sabine .....	70, 99	Konnert, Monika .....	89
Bastian, Christèle.....	77	Krähmer, Andrea .....	44
Baumann, Karin .....	42	Krämer, Ronny.....	96
Beitlich, Nicole .....	98	Krause, Sandra.....	67
Blüthner, Wolf-Dieter .....	44	Kraxner, Claudia.....	88
Böhme, Annika.....	95	Krippel, Theresa.....	96
Börner, Andreas.....	42	Krüger, Hans.....	44, 63
Böttcher, Christoph.....	44	Krusche, Marut .....	75
Bröring, Stefanie.....	11	Kühne, Thomas .....	87
Carlen, Christoph .....	15, 76, 77	Kusterer, Annette.....	75
Carron, Claude-Alain.....	15, 76, 77	Leichtfried, Thomas.....	27
Chaain, Amin.....	16	Liesegang, Stafanie .....	103
Chizzola, Remigius .....	94	Lohwasser, Ulrike .....	42, 44, 94
Degenhardt, Jörg.....	42, 67	Lukas, Brigitte .....	105
Degischer, Teresa.....	74	Malankina, Elena.....	82
Demján, Ildikó .....	78	Marthe, Frank.....	44
Dotzer, Christoph.....	54	Mau, Martin .....	72
Fähnrich, Bettina.....	88	Müller, Martin .....	47
Franz, Chlodwig.....	40, 88, 106	Novak, Johannes .....	21, 104, 105
Gärber, Ute .....	83	Oster, Sabine.....	17
Gaunitz, Franziska.....	70, 103	Otto, Lars-Gernot .....	41
Gerard, Dieter .....	61	Paladey, Esther.....	44
Geyer, Manuel .....	47, 89	Penzkofer, Michael .....	47, 89
Geyer, Roland .....	54	Pfahlert, Volker.....	54
Gleß, Alexandra .....	70	Pinker, Ina .....	74
Gottsberger, Richard A. ....	27	Plescher, Andreas.....	35
Grassi, Giampaolo.....	74	Pommer, Elisabeth.....	106
Grausgruber-Gröger, Sabine .....	27	Pötschke, Sandra.....	70
Grogg, Alain .....	77	Reichardt, Isolde .....	75
Grunert, Christoph.....	25	Reisenzein, Helga .....	27
Habel, Annedore .....	71	Rettig, Michael .....	54
Hagels, Hansjörg .....	17, 31, 38, 52	Russo, Marco .....	23
Hahn-Ramssl, Isabella.....	106	Sárosi, Szilvia.....	78
Hannig, Christian .....	99	Schenk, Regina.....	74
Heuberger, Heidi.....	12, 47, 89	Schimmel, Jette .....	42, 67
Honermeier, Bernd.....	17, 21, 23, 29, 96	Schmiderer, Corinna .....	104, 105
Huber, Fritz.....	54	Selmar, Dirk.....	37
Ille, Natascha.....	106	Shafiee-Hajjabad, Marzieh .....	21
Kage, Frank.....	71	Sharbel, Timothy .....	41, 72
Kammerer, Dietmar R. ....	100	Sparke, Julia .....	17
Kästner, Ute.....	44	Speer, Karl.....	70, 95, 98, 99, 103
Kaushik, Nutan.....	71	Steinhoff, Barbara .....	36
Kayser, Oliver .....	31	Stintzing, Florian C.....	100
Killermann, Berta.....	89	Stöger, Eva.....	73
Kittler, Johannes.....	44	Strube, Jochen .....	38, 52
Kleinwächter, Maik.....	37	Stuppner, Hermann.....	64
Knittel, Diana N. ....	100	Sung, Young-Hyun .....	96
Koczka, Noémi .....	78	Taubenrauch, Kerstin.....	87

Tegtmeier, Martin .....	38, 52	Wedeking, Benjamin.....	74
Thomann, Ralph.....	71	Wittpahl, Gesche .....	70, 99, 103
Tóth, Frida.....	78	Wolfram Junghanns.....	44
Tulok, Mária.....	78	Yan, Feng .....	96
Ullrich, Sophie Friederike .....	31	Zeller, Stefanie .....	29
Vouillamoz, José.....	76, 77	Zitterl-Eglseer, Karin.....	106
Wahl, Susanne.....	35		

## Stichwörter - Keywords

(Arznei-)Pflanzenkultivierung .....	52	Head-Space Solid Phase Micro	
(Medicinal) Plant Cultivation .....	52	Extraction .....	103
analysis .....	42	health food .....	62
antibakterielle Wirkung .....	70, 99	herbal extracts .....	38
antioxidant capacity .....	23, 96	Herbal Medicinal Products .....	38, 52
antioxidative Kapazität .....	23, 96	Herzglykoside .....	100
Apomixis .....	72	high-throughput screening .....	54
Arznei- und Gewürzpflanzen .....	63	Hochdruckextraktion mit CO <sub>2</sub> .....	62
Arznei- und Gewürzpflanzen-Sorten .....	40	Hochdurchsatzanalytik .....	54
Arzneipflanzenanbau .....	38	Hochdurchsatzsequenzierung .....	105
Arzneipflanzenextrakte .....	38	HPLC-DAD-MS/MS .....	98
ätherisches Öl .....	21, 42, 44, 78	Hufrehe .....	106
Bakterien .....	105	Hydrodesillation .....	63
Baldrian .....	35	inflammation .....	64
Belichtung .....	100	Innovation .....	12
Beschleunigte Lösungsmittelextraktion ..	103	interdisciplinary research .....	12
Bestandsetablierung .....	35	interdisziplinäre Forschung .....	12
biomass .....	17	Iridoide .....	98
Biomasse .....	17	ITS-Analyse .....	42
Bodentemperatur .....	35	kaempferol malonylglycoside .....	95
breeding .....	44	Kamille .....	35, 104
cardiac glycosides .....	100	Kämpferol-Malonylglycosid .....	95
Chemotypen .....	42, 67	Kandidatengene .....	72
chemotypes .....	42, 67	Karies .....	99
<i>Cistus incanus</i> Tee .....	99	Kariesprophylaxe .....	70
competition .....	12	Keimdauer .....	35
cooperation .....	12	Keimfähigkeit .....	35
detection .....	83	Keimindesttemperatur .....	35
DNA-Barcoding .....	27, 104, 105	Keimrate .....	35
DNTI .....	64	Keimschnelligkeit .....	35
Downy Mildew .....	29	Keimung .....	35
<i>Drimia maritima</i> (L.) Stearn .....	100	klonale Samenbildung .....	72
Drüsenhaare .....	42	Kontaminationen von Arznei- und	
Drüsentrichome .....	21	Gewürzpflanzen .....	37
<i>Duboisia</i> .....	17, 31	<i>Lavandula angustifolia</i> .....	78
elite selection .....	54	<i>Lavandula x intermedia</i> .....	78
Elitenselektion .....	54	Lavendel .....	78
Entzündung .....	64	lavender .....	78
Ernte .....	26	LC-MS .....	31
Erosionsschutz .....	70	lemon balm .....	23, 44
Erträge .....	26	<i>Lepidium sativum</i> L. ....	29
essential oil .....	21, 42, 44, 78	Licht .....	21
Falscher Mehltau .....	29	Lichtintensität .....	23
flüchtige Verbindungen .....	103	light .....	21
Gesamtphenole .....	23	light exposure .....	100
<i>Ginkgo biloba</i> .....	106	light intensity .....	23
glandular trichomes .....	21	<i>Matricaria recutita</i> L. ....	35, 104
green solvent .....	62	Matrix Solid Phase Dispersion .....	103
grünes Lösemittel .....	62	medicinal plant collectors and growers .....	38
		Meerzwiebel .....	100

<i>Melissa officinalis</i> L.....	23, 35, 44	rosmarinic acid.....	44, 96
Melisse .....	35, 44	Rosmarinsäure .....	44
Metabolomic profiling.....	54	RT-PCR.....	27
Metabolomic Profiling.....	54	RT-qPCR .....	27
Monoterpene .....	67	Saatgutvermehrung.....	29
monoterpene.....	67	Salbei .....	26
Nachweis, Pathogenitätstest .....	83	<i>Salvia miltiorrhiza</i> .....	96
natural products.....	64	salvianolic acid B.....	96
Naturstoffe .....	64	Salvianolsäure B. Rosmarinsäure.....	96
N-Düngung .....	17	scanning electron microscopy.....	21
NEM.....	62	Scopolamin .....	17, 31
Next Generation Sequencing.....	105	scopolamine .....	17, 31
N-fertilization .....	17	sea squill.....	100
Nikotin .....	37	secretory cells.....	42
NMR .....	54	Seed Propagation .....	29
Nutraceuticals .....	62	Sequenzierung zweiter Generation .....	105
<i>Origanum vulgare</i> .....	21	SPE .....	63
Pathogene .....	26	Spitzwegerich.....	98
pathogenicity test .....	83	Stabilität .....	100
PCR.....	27, 104	stability .....	100
Peppermint .....	83	<i>Streptococcus mutans</i> .....	70, 99
Pfefferminze .....	83	Supercritical CO <sub>2</sub> extraction .....	62
Pflanzen.....	105	Tanshinone.....	96
Pflanzenextrakt.....	52, 100	tanshinones.....	96
pflanzliche Arzneimittel .....	38, 52	Temperaturoptimum.....	35
phänotypische Merkmale .....	40	Terpene biosynthesis .....	67
Pharmakokinetik.....	106	Terpensynthese .....	67
Phenylethanoide.....	98	Thermographie.....	106
phytoextracts .....	62	thyme .....	67
Phytoextrakte.....	62	Thymian.....	67, 70, 103
Pilze.....	105	<i>Thymus</i> spp.....	42
plant extract.....	52, 100	total phenolic content .....	23
<i>Plantago</i> .....	98	Trocknung .....	26
Polyphenole.....	95, 99, 103	Tropanalkaloide.....	31
Polyphenols .....	95	tropane alkaloids.....	31
Pyrrolizidinalkaloide .....	37	<i>Valeriana officinalis</i> L.....	35
qPCR .....	27	<i>Verticillium dahliae</i> .....	83
Qualität durch Konzeption.....	52	Wasserdampfdestillation .....	103
Qualitätskontrolle.....	99, 105	Wettbewerb .....	12
Quality by Design .....	52	winter hardiness.....	44
quercetin malonylglycoside .....	95	Winterhärte .....	44
Quercetin-Malonylglycosid.....	95	Wirkstoffe, Biopatente.....	40
Rasterelektronenmikroskopie.....	21	Zitronenmelisse.....	23
Regularien .....	38	Züchtung .....	26, 44, 72
regulations .....	38	Zusammenarbeit.....	12
<i>Ribis nigri folium</i> .....	95		

## 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 zu lesen.

Öffentlichkeit und Fachwelt versorgen wir zusätzlich mit verschiedenen Informationsangeboten über alle Aspekte rund um die Kulturpflanzen. Hierfür stehen verschiedene Broschüren, Faltblätter, Fachzeitschriften und Monographien aber auch verschiedene Datenbanken als Informationsressourcen zur Verfügung.

Für die Allgemeinheit sind vor allem die Faltblätter gedacht, die über Nützlinge im Garten, aber auch über spezielles wie den Asiatischen Laubholzbockkäfer informieren. Außerdem ist der regelmäßig erscheinende Jahresbericht allgemein interessant, vor allem mit den umfassenden Artikeln zu besonderen Themen, die Sie aber auch im Internet auf den thematisch dazugehörigen Seiten finden.

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 (<http://www.journal-kulturpflanzen.de>).

Weiterführende Informationen über uns finden Sie auf der Homepage des Julius Kühn-Instituts unter <http://www.jki.bund.de> im Bereich Veröffentlichungen.

Spezielle Anfragen wird Ihnen unsere Pressestelle ([pressestelle@jki.bund.de](mailto:pressestelle@jki.bund.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@jki.bund.de](mailto:ib@jki.bund.de)

## 7. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung, Innovation entlang der Produktionskette, Wien, 14. – 17. September 2014

Der Deutsche Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen (DFA) veranstaltet gemeinsam mit der Veterinärmedizinischen Universität (VetMed) Wien die 7. Tagung Arznei- und Gewürzpflanzenforschung unter dem Motto Innovation entlang der Produktionskette.

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 Produktionsoptionen 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 in die gesamte Produktionskette integriert werden kann, um eine möglichst lückenlose Optimierung von Produktionsabläufen zu garantieren.

## VIIth Conference on Medicinal and Aromatic Plant Research, Innovation along the commodity chain, Vienna, September 14 - 17, 2014

The German Technical Committee on Medicinal, Aromatic and Perfumery Plants (DFA), together with the University of Veterinary Medicine, Vienna, presents the VIIth Conference on Medicinal and Aromatic Plant Research under the motto Innovation along the commodity chain.

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 be integrated into the commodity chain to guarantee an optimization of production processes as complete as possible.

Hochdruckextraktion mit CO<sub>2</sub>

**FLAVEX**  
Naturextrakte GmbH

the nature network®  
Martin Bauer Group

PHARMAPLANT  
Member of the nature network®

PHARMASAAT

WALA

zeller vitaplant  
an odor health

KRÄUTER KOTTAS  
17 95

Dr. Junghanns GmbH  
Ascavital® Kräuterprodukte

agrimed

Boehringer Ingelheim

Kräuter mix  
competent & safe

Bombafus  
Naturheilmittel seit 1904

