

4 7 6

Julius-Kühn-Archiv

Volker Henning, Heidi Heuberger, Frank Marthe (Hrsg.)

9. Tagung für Arznei- und Gewürzpflanzenforschung
**Sicherheit vom Anbau bis zum Verbraucher –
Spitzenklasse oder auf die Spitze getrieben?**

Freising, 11. bis 14. September 2023

- Kurzfassungen der Vorträge und Poster -



WEIHENSTEPHAN • TRIESDORF
University of Applied Sciences



LfL

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Kontaktadresse

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen
Erwin-Baur-Str. 27
06484 Quedlinburg
E-Mail: zg@julius-kuehn.de

Herausgeber

Volker Henning, Heidi Heuberger, Frank Marthe

Veranstalter

Deutscher Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen (DFA)
gemeinsam mit
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) und Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (HSWT)

Mitveranstaltende Fachgesellschaften

Deutsche Gartenbauwissenschaftliche Gesellschaft - Fachgruppe Gemüse; Forschungsvereinigung der Arzneimittel-Hersteller (FAH); Gesellschaft für Arzneipflanzen und Naturstoff-Forschung (GA); Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, AG Arzneipflanzen und nachwachsende Rohstoffe; Gesellschaft für Pflanzenzüchtung (GPZ), AG 17 Arznei- und Gewürzpflanzen; Gesellschaft für Phytotherapie e. V. (GPT); C.A.R.M.E.N. e.V. - Centrales Agrar-Rohstoff Marketing- und Energie-Netzwerk

Wissenschaftliches Komitee

Dr. Heidi Heuberger, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft; Prof. Dr. Volker Henning, Hochschule Weihenstephan-Triesdorf; Dr. Michael Beck, Hochschule Weihenstephan-Triesdorf; Dr. Christoph Carlen, Agroscope; Dr. Martin Geyer, Leibniz-Institut für Agrartechnik und Bioökonomie; Prof. Dr. Thomas Hannus, Hochschule Weihenstephan-Triesdorf; Dr. Jerzy Jambor, Phytoservice Jerzy Jambor; Dr. Wolfram Junghanns, Dr. Junghanns GmbH; Dr. Andrea Krähmer, Julius Kühn Institut; Dr. Katharina Luhmer, Universität Bonn, INRES Nachwachsende Rohstoffe / Arzneipflanzen; Prof. Dr. Frank Marthe, Julius Kühn Institut; Prof. Dr. Heike Mempel, Hochschule Weihenstephan-Triesdorf; Prof. Dr. Joachim Müller, Universität Hohenheim; Prof. Dr. Johannes Novak, Veterinärmedizinische Universität Wien; Dr. Katja Sommerfeld, Julius Kühn Institut; Dr. Barbara Steinhoff, Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller, Dr. Harald Volz, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Titelbild

Luftaufnahme der HSWT Weihenstephan-Triesdorf sowie die Logos der HS Weihenstephan-Triesdorf, der DFA sowie der LfL

Verlag

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland

Wir unterstützen den offenen Zugang zu wissenschaftlichem Wissen.
Das Julius-Kühn-Archiv erscheint daher als Open-Access-Zeitschrift.

Das Julius-Kühn-Archiv ist online verfügbar unter

https://www.openagrar.de/receive/zimport_mods_00001710?q=julius-k%C3%BChn-archiv

Bibliographische Informationen 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.

DOI 10.5073/20230821-132157-0

ISSN 2199-921X

ISBN 978-3-95547-134-7



© Der Autor/ Die Autorin 2023.

Dieses Werk wird unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

476

Julius-Kühn-Archiv

Volker Henning, Heidi Heuberger, Frank Marthe (Hrsg.)

9. Tagung für Arznei- und Gewürzpflanzenforschung
**Sicherheit vom Anbau bis zum Verbraucher –
Spitzenklasse oder auf die Spitze getrieben?**

Freising, 11. bis 14. September 2023

- Kurzfassungen der Vorträge und Poster -



WEIHENSTEPHAN · TRIESDORF
University of Applied Sciences



LfL

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Vorwort	7
<hr/>	
Sektion 1: Qualität und Recht	8
<hr/>	
Aktuelles zur Qualität von Arzneipflanzen: Neue Bewertungskriterien und Konsequenzen für die Praxis	8
<i>Barbara Steinhoff</i>	
Aktuelle Herausforderungen bei der Beschaffung der Arzneipflanzen	12
<i>Rafal Chmielecki</i>	
<hr/>	
Sektion 2: Qualität und Inhaltsstoffe	16
<hr/>	
Hopfeninhaltsstoffe für die Neuroregeneration	16
<i>Corinna Urmann, Lara Bieler, Theresa Able, Veronika Hub, Michael Kirching, Ludwig Aigner, Sebastien Couillard-Despres und Herbert Riepl</i>	
KI und Qualität - Detektion und Entfernung Pyrrolizidinalkaloid-haltiger Beikräuter im Erntegut mittels sensorgestützter Sortierung	21
<i>Felix Kronenwett, Georg Maier, Henning Schulte, Nanina Tron, Andrea Krähmer</i>	
<hr/>	
Sektion 3: Inkulturnahme und Züchtung	29
<hr/>	
Alpine Biodiversität - genetische und phytochemische Untersuchungen lokaler Populationen des Alpen-Milchlattich (<i>Cicerbita alpina</i> (L.) Wallr.)	29
<i>Efthychia Martinidou, Pietro Fusani, Luisa Palmieri, Stefan Martens</i>	
Genetische und Genomische Ressourcen als Grundlage für die Züchtung von Echter Kamille	33
<i>Lars-Gernot Otto, Beate Kellert, Woohyeon Cho, Jonathan Brassac, Maria Yuli Gonzalez, Lyudmyla Malysheva-Otto, Axel Himmelbach, Martin Mascher</i>	
Etablierung von Zell- und Gewebekulturen für Medizinalpflanzen am Beispiel von <i>Arnica montana</i> im Rahmen des Projekts „Circular PhytoREVIER“ – Integrierte Wertschöpfung mit Anbau und Verwertung von Medizinalpflanzen im Rheinischen Revier	35
<i>Lena Grundmann, Mark Müller-Linow, Arnd Kuhn, Fang He, Dennis Schlehuber, Volkmar Keuter, Gundula A. Noll, Dirk Prüfer</i>	
<hr/>	
Sektion 4: Pflanzenschutz	44
<hr/>	
Einfluss einer Mykorrhizierung auf den ätherischen Ölgehalt und die physiologische Reaktion von Mentha-Genotypen unter verschiedenen UV-Behandlungen	44
<i>Charlotte Hubert, Sonja Bartoschek, Katharina Luhmer, Marcel Dieter Moll, Ralf Pude</i>	
Sind Wurzelgallennematoden der Gattung <i>Meloidogyne</i> ein bedeutender Schaderreger an Arznei- und Gewürzpflanzen in Deutschland?	49
<i>Noskov Ilya, Blum Hanna, Komnik Hansjörg, Hallmann Johannes</i>	
Detektion von phytopathogenen Pilzen an ausgewählten Arzneipflanzen	54
<i>Lana-Sophie Kreth, Monika Götz</i>	

Sektion 5: Feldanbau, Ernte und Aufbereitung	56
Der kontrollierte Anbau von <i>Actea racemosa</i> (L.)	56
<i>Amin Chaanin</i>	
Agronomische und phytochemische Charakterisierung von Brotklee-Landsorten	60
<i>Manuel Pramsohler, Alessia Castellan, Mayra Galarza Pérez, Serhat S. Çiçek</i>	
Strategien für einen erfolgreichen Anbau von Anis (<i>Pimpinella anisum</i>) in Deutschland	64
<i>Anne-Marie Stache, Frank Marthe</i>	
Posterbeitrag zum Themenkreis: Geschützter Anbau	67
<i>Rhodiola rosea</i>: Potenzial des Anbaus in einem vertikalen Indoor Farming System zur Verbesserung der Produktion bioaktiver Substanzen	67
<i>Eleonora Itri, Alexandra Stabl, Sabine Wittmann, Ivonne Jüttner, Sabine Grüner-Lempart, Heike Mempel</i>	
Posterbeitrag zum Themenkreis: Feldanbau	78
Agronomische und phytochemische Eigenschaften verschiedener Sorten von Zitronenmelisse (<i>Melissa officinalis</i> L.): Anbauversuch in unterschiedlichen Höhenlagen in Südtirol	78
<i>Alessia Castellan, Manuel Pramsohler, Stefan Martens, Angelika Ruele, Daniel Ortler</i>	
Posterbeitrag zu Themenkreis: Inkulturnahme und Züchtung	83
'Carola' eine neue Salbeisorte (<i>Salvia officinalis</i> L.) von Agroscope	83
<i>Xavier Simonnet, Bastien Christ, Claude-Alain Carron, Christoph Carlen</i>	
Posterbeitrag zu Themenkreis: Pflanzenschutz	87
Einfluss von gewobenen Polypropylen-Bodenabdeckungen während des Winters auf den Unkrautdruck, den Ertrag und die Qualität von Zitronenminze im folgenden Jahr	87
<i>Christoph Carlen, Xavier Simonnet, Claude-Alain Carron, Bastien Christ</i>	
Erhebung von Zikaden (Hemiptera: Auchenorrhyncha) in Kräuteraanbauflächen Südtirols	91
<i>Angelika Ruele, Alessia Castellan, Manuel Pramsohler, Katrin Janik, Stefanie Fischnaller</i>	

Posterbeitrag zum Themenkreis: Biodiversität **97**

Biodiversitätsmonitoring im Südtiroler Kräuteraanbau **97**

Lisa Obwegs, Laura Nocker, Elia Guariento, Georg v. Mörl, Livia Zanotelli, Paolo Fontana, Ulrike Tappeiner, Andreas Hilpold, Maunel Pramsöhler

Posterbeitrag zu Themenkreis: Ernte und Nacherntetechnologie **102**

Trocknungskinetik und Farbveränderung von *Cannabis sativa* L. während der konvektiven Heißlufttrocknung **102**

Alice-Jacqueline Reineke, Lisa Lesser, Simone Graeff-Hönninger, Joachim Müller

Posterbeitrag zum Themenkreis: Inhaltsstoffe und Pflanzenanalytik **112**

Zugabe von Gewürzpflanzen zur Erhöhung der oxidativen Stabilität von pflanzlichen Ölen **112**

Jan v. Lohr, Teresa-Maria Schinabeck

Vorwort

Liebe Kolleginnen und Kollegen, wir freuen uns sehr, dass die 9. Fachtagung für Arznei- und Gewürzpflanzen nun nach coronabedingtem Verschieben endlich vom 11. bis 14. September 2023 in Freising stattfindet. Aber noch mehr freuen wir uns auf die vielen Beiträge von Ihnen, die uns über die aktuellen Forschungsergebnisse diskutieren und neue Projekte entwickeln lassen.

Die Tagungsreihe zur Forschung in der Arznei- und Gewürzpflanzenproduktion wird vom Deutschen Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen unter Beteiligung von verschiedenen wissenschaftlichen Organisationen (siehe Impressum) veranstaltet.

Gastgeber der 9. Tagung sind die Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) und die Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (HSWT) am Campus Weihenstephan in Freising. Die LfL forscht anwendungsnahe zu Arznei- und Gewürzpflanzen, Züchtung und Pflanzenschutz und ist intensiv mit der Branche vernetzt. An der HSWT im Bereich Gartenbau gibt es viele technologische, pflanzenbauliche und wirtschaftswissenschaftliche Bezüge zu den Themengebieten Arznei- und Gewürzpflanzen. Daraus ergibt sich eine rege Zusammenarbeit in der Lehre incl. Praktika und Studienabschlussarbeiten, in Forschungsprojekten z.B. im Bereich des Indoor Farmings und in gegenseitiger Beratung im Bereich dieser Sonderkulturen.

Wir wollen mit der Tagung unter dem Motto „Sicherheit vom Anbau bis zum Verbraucher – Spitzenklasse oder auf die Spitze getrieben?“. „Sicherheit“ der Produktion und der Produkte gilt es, sowohl im Sinne von Safety als auch von Security zu betrachten. Ertrags- und Qualitätssicherung sind zentrale Aspekte, aber auch Unsicherheit durch Klimawandel oder Schutz vor Kontaminanten. Höchste Sicherheit einerseits als Alleinstellungsmerkmal und Chance und andererseits als überzogenes Anspruchsdenken begreifen zu können, wird die Diskussion befeuern. Dazu liefern die präsentierten Forschungsergebnisse zu innovativen Anbauverfahren im Freiland und in Kulturräumen, zu Züchtung, Pflanzenschutz, Biodiversitätswirkung und Aufbereitungstechnologie wichtige Beiträge und Lösungsbausteine/Handlungsmöglichkeiten. Wir möchten mit den Formaten Vortrag, Poster und Workshop sowie den wichtigen Pausen vielfältige Gelegenheiten für den wissenschaftlichen und innovationsorientierten Austausch anbieten und die Vernetzung von Wissenschaft, Wirtschaft und Praxis vertiefen.

Thomas Pfeiffer
Präsident des DFA

Heidi Heuberger
Vizepräsidentin des DFA
Tagungsorganisation

Volker Henning
Tagungsorganisation

Sektion 1: Qualität und Recht

Aktuelles zur Qualität von Arzneipflanzen: Neue Bewertungskriterien und Konsequenzen für die Praxis

News on the quality of medicinal plants: New assessment criteria and consequences for practice

Barbara Steinhoff

Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller e.V. (BAH), Ubierstraße 71 – 73, D-53173 Bonn
steinhoff@bah-bonn.de

DOI: 10.5073/20230821-132808-0

Zusammenfassung

Für unerwünschte, potentiell gesundheitsschädliche Begleitstoffe in pflanzlichen Materialien, die zur Herstellung von Arzneimitteln bzw. von Lebensmitteln verwendet werden, haben Gesetzgeber und umsetzende Behörden im Sinne des Verbraucherschutzes und der Patientensicherheit strenge Grenzwerte bzw. Höchstmengen festgelegt. Im Folgenden werden einige aktuelle Regelungen und Empfehlungen zu Pflanzenschutzmittelrückständen, Schwermetallen/Elementen, Pyrrolizidinalkaloiden (PA), polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) und Nitrosaminen als potentiellen Kontaminanten sowie zu Estragol als Pflanzenbestandteil vorgestellt und hinsichtlich ihrer Praxisrelevanz für den Anbau und die verarbeitende Industrie bewertet. Eine enge Zusammenarbeit zwischen diesen beiden Bereichen kann dazu beitragen, Verunreinigungen sowohl in den ersten Stufen des Herstellungsprozesses als auch in den nachfolgenden Verarbeitungsschritten zu minimieren. Im Rahmen von Stellungnahmeverfahren z.B. zu Grenzwerten sind Kommentierungen von Anbau und verarbeitender Industrie möglich, diese sollten mit in der Praxis gesammelten und ausgewerteten Daten und gegebenenfalls auch toxikologischen Argumenten unterlegt werden ist.

Stichwörter: Arzneipflanzen, Qualität, Pflanzenschutzmittelrückstände, Kontaminationen, Schwermetalle, Pyrrolizinalkaloide (PA), Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK), Nitrosamine, Estragol

Abstract

For unwanted, potentially harmful substances in plant materials used in the manufacture of medicines or foodstuffs, the legislation as well as health authorities have set maximum limits in order to guarantee consumer protection and patients' safety. In the following, some current regulations and recommendations on pesticide residues, heavy metals/elements, pyrrolizidine alkaloids (PA), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and nitrosamines as potential contaminants as well as on estragole as plant constituent will be presented and evaluated in terms of practical relevance for cultivation and the processing industry. A close co-operation between both these areas can contribute to the minimization of contaminants in the first stages of the manufacturing process as well as in the subsequent processing steps. When limit values or other rules are open for consultation, contributions of cultivators and industry are possible; they should be backed up with data collected in practice and, if necessary, toxicological arguments.

Keywords: medicinal plants, quality, pesticide residues, contaminations, heavy metals, pyrrolizine alkaloids (PA), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), nitrosamines, estragole

Einleitung

Für unerwünschte, potentiell gesundheitsschädliche Begleitstoffe in pflanzlichen Materialien, die zur Herstellung von Arzneimitteln bzw. von Lebensmitteln verwendet werden, haben Gesetzgeber und umsetzende Behörden im Sinne des Verbraucherschutzes und der Patientensicherheit strenge Grenzwerte bzw. Höchstmengen festgelegt. Nachfolgend werden einige aktuelle Regelungen bzw. Empfehlungen vorgestellt und hinsichtlich der praktischen Relevanz für Anbau und verarbeitende Industrie bewertet.

Ergebnisse

Pflanzenschutzmittelrückstände

Das Kapitel 2.8.13 des Europäischen Arzneibuchs (Ph.Eur.) (Arzneibuch Pesticide residues, 2022) enthält eine Liste von rund 70 Pestiziden und deren Grenzwerten. Nicht in dieser Liste aufgeführte, jedoch potenziell in pflanzlichem Material vorkommende Stoffe werden nach der primär für Lebensmittel geltenden Verordnung (EG) 396/2005 über Höchstgehalte an Pestizidrückständen beurteilt (Verordnung, 2005), deren Anhänge fortlaufend aktualisiert werden. In der letzten Zeit sind zahlreiche Änderungen der Höchstgehalte für Wirkstoffe von Pflanzenschutzmitteln publiziert worden. Dies betrifft u.a. Herabsetzungen auf die analytische Bestimmungsgrenze von solchen Wirkstoffen, deren Zulassung in der Europäischen Union nicht mehr besteht.

Schwermetalle

Für Arzneimittel gilt die allgemeine Monographie "Herbal drugs" des Europäischen Arzneibuchs (Ph.Eur.) (Arzneibuch Herbal drugs, 2022) mit ihren Grenzwerten für Cadmium (1,0 ppm), Blei (5,0 ppm) und Quecksilber (0,1 ppm), zusätzlich ist für die Risikobewertung des Endproduktes die in die Ph.Eur. umgesetzte ICH-Leitlinie Q3D über elementare Verunreinigungen (ICH Q3D, 2022) zu berücksichtigen. Für Lebensmittel ist die Verordnung (EG) 1881/2006 (Verordnung, 2006) anzuwenden.

Pyrrrolizidinalkaloide (PA)

Das Statement des Herbal Medicinal Products Committee (HMPC) der europäischen Arzneimittelzulassungsagentur sieht für pflanzliche Arzneimittel einen Grenzwert von 1,0 µg PA pro Tag für Erwachsene vor (HMPC PA, 2021). Die Datensammlung der Hersteller zeigt, dass dieser Grenzwert von vielen Drogen und insbesondere von Extrakten eingehalten werden kann. Für die Erfassung potentieller Kontaminationen pflanzlicher Drogen mit PA wurde eine Ph.Eur.-Rahmenmonographie veröffentlicht (Arzneibuch Contaminant PA, 2022), die exemplarisch eine Methode mit Validierungskriterien aufführt und einen Prüfumfang von 28 Substanzen vorsieht. Eine im EU-Amtsblatt am 14. Dezember 2020 publizierte Änderung der Verordnung (EG) 1881/2006, die am 1. Juli 2022 in Kraft getreten ist, enthält Höchstmengen für PA in verschiedenen Lebensmitteln (Verordnung, 2020).

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Ein Dokument des HMPC (HMPC, 2016) beschreibt das Vorkommen und die gesundheitlichen Auswirkungen von PAK, ohne für den Arzneimittelbereich Grenzwerte vorzusehen. Die Verordnung (EG) 1881/2006 legt für PAK u.a. in Nahrungsergänzungsmitteln sowie Pflanzenpulvern zur Zubereitung von Getränken Höchstgehalte von 10,0 bzw. 50,0 µg/kg für Benzo(a)pyren bzw. die Summe aus Benzo(a)pyren, Benz(a)anthracen, Benzo(b)fluoranthren und Chrysen (PAK4) fest (Verordnung, 2006). Als Umweltkontaminanten kommen PAK in pflanzlichen Drogen vor, die Befunde liegen nach

Erkenntnissen der verarbeitenden Industrie aber deutlich unter den genannten Höchstgehalten für bestimmte Lebensmittel festgesetzten Grenzwerten. Eine weitere mögliche Eintragsquelle stellen Prozessschritte wie Rösten, Räuchern oder bestimmte Formen der Trocknung dar, auf die im Bedarfsfall durch die Wahl alternativer Verfahren Einfluss genommen werden kann.

Nitrosamine

Für Arzneimittel natürlichen Ursprungs werden von den Behörden im Einzelfall Risikobewertungen hinsichtlich eines möglichen Eintrags von Nitrosaminen nachgefragt. Festzuhalten ist jedoch, dass in der Praxis bislang keine Hinweise auf eine Nitrosaminkontamination vorliegen. Allerdings sollten die Hersteller ein potenzielles Risiko (Schritt für Schritt) für den gesamten Produktionsprozess beurteilen, beginnend mit der Gewinnung der Pflanze bis hin zur Herstellung des fertigen Produkts, wobei insgesamt die Wahrscheinlichkeit einer Nitrosaminkontamination als gering eingeschätzt wird.

Estragol

Das im März 2022 veröffentlichte Statement des HMPC zu estragolhaltigen pflanzlichen Arzneimitteln (HMPC Estragol, 2021) sieht auf Basis der diesem Stoff zugeschriebenen genotoxischen Eigenschaften einen „Leitwert“ 0,05 mg Estragol/Tag für Erwachsene und Jugendliche vor. Die HMPC-Monographien zu Bitter- und Süßfenchelfrüchten wurden entsprechend angepasst, wobei ausgeführt wurde, dass bei den vorgegebenen Dosierungsempfehlungen die Aufnahme von Estragol so niedrig wie „practically achievable“ sein sollte.

Fazit

Die Prüfung auf möglicherweise in pflanzlichem Material vorkommenden Rückstände und Kontaminanten hat in der Wareneingangskontrolle der verarbeitenden Industrie eine große Bedeutung. Durch eine enge Zusammenarbeit mit den Anbauern kann gemeinsam Einfluss auf die Minimierung von Kontaminanten bereits in den ersten Stufen des Herstellungsprozesses sowie im späteren Verarbeitungsprozess genommen werden. Stellungnahmen von Anbau und verarbeitender Industrie zu gesetzlichen Regelwerken sind möglich und sinnvoll, wobei eine Unterlegung mit in der Praxis gesammelten und ausgewerteten Daten und ggf. auch toxikologischen Argumenten essenziell ist. Ein spezielles Problem für die Praxis stellt die Begrenzung von Estragol in arzneilich verwendetem Fenchel dar.

Literatur

- Arzneibuch Contaminant PA, 2022: European Pharmacopoeia. Chapter 2.8.26. Contaminant pyrrolizidine alkaloids. Ph. Eur. 11th Edition. Strasbourg, France: Council of Europe; 2022.
- Arzneibuch Herbal drugs, 2022: Herbal drugs, general monograph 1433. Ph.Eur. 11th edition. Strasbourg, France: Council of Europe; 2022.
- Arzneibuch Pesticide residues, 2022: Pesticide residues, general chapter 2.8.13. Ph. Eur. 11th Edition. Strasbourg, France: Council of Europe; 2022.
- HMPC, 2016: HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products). HMPC Reflection paper on polycyclic aromatic hydrocarbons in herbal medicinal products/ traditional herbal medicinal products. 31 May 2016.
- HMPC Estragol, 2021: HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products). Public statement on the use of herbal medicinal products containing estragole. EMA/HMPC/137212/2005 Rev 1, 22 September 2021.

- HMPC PA, 2021: HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products). Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs) including recommendations regarding contamination of herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids (EMA/HMPC/893108/2011 Rev. 1). 7 July 2021.
- ICH Q3D, 2022: ICH guideline Q3D (R2) on elemental impurities. Step 5. EMA/CHMP/ICH/353369/2013. 2 May 2022.
- Verordnung, 2005: Verordnung (EG) Nr. 396/2005 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Februar 2005 über Höchstgehalte an Pestizidrückständen in oder auf Lebens- und Futtermitteln pflanzlichen und tierischen Ursprungs und zur Änderung der Richtlinie 91/414/EWG des Rates. Amtsblatt der Europäischen Union L 70/1; 16. März 2005.
- Verordnung, 2006: Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. Amtsblatt der Europäischen Union L 364/5. 20. Dezember 2006.
- Verordnung, 2020: Verordnung (EU) 2020/2040 der Kommission vom 11. Dezember 2020 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 hinsichtlich der Höchstgehalte an Pyrrolizidinalkaloiden in bestimmten Lebensmitteln. Amtsblatt der Europäischen Union Nr. L 420/1 vom 14. Dezember 2020.

Aktuelle Herausforderungen bei der Beschaffung der Arzneipflanzen

Current challenge in obtaining medical plants

Rafal Chmielecki

Martin Bauer Polska Sp. z o.o., Witaszyczki 67-68, 63-230 Witaszyce, Poland

rafal.chmielecki@martin-bauer.com

DOI 10.5073/20230821-133226-0

Zusammenfassung

Pflanzliche Rohstoffe sind ein interessanter Teil moderner Arzneimittel, Lebensmittel und kosmetischer Produkte. Der Verzehr von Heilkräutern, Früchten und Kräutertees sowie von Nahrungsergänzung mit krautigen Rohstoffen ist in den letzten Jahren kontinuierlich gestiegen. Die Bevorratung mit pflanzlichen Rohstoffen für die genannten Produktgruppen wurde signifikant schwieriger, besonders in den letzten drei Jahren. Mit Ausbruch der Covid-19-Pandemie wurden viele Lieferketten aus den üblichen Herkunftsländern beeinträchtigt oder komplett unterbrochen. In vielen Fällen machte der schnelle Anstieg der Kosten für Düngemittel, Gas und Benzin die Produktion sehr teuer und verursachte Lieferengpässe. Das Ziel des Vortrages ist die Analyse der Perspektiven des traditionellen Handels von pflanzlichen Rohstoffen und die Auswirkungen auf ökonomische Änderungen im internationalen Rohstoffmarkt.

Stichwörter: Botanik, Rohstoffe, Lieferketten, Nachhaltigkeit, Qualität

Abstract

Botanicals are an important part of modern pharmaceutical, food and cosmetics industries. The consumption of herbal medicines, fruits and herbal teas as well as dietary supplements with herbal raw materials has been increasing continuously for several years. The procurement of plant raw materials for all of the product groups has become significantly difficult, especially in the past three years. With the outbreak of the Covid-19 pandemic, many supply chains from the traditional countries of origin were affected or even completely interrupted. In many cases, the rapidly increasing costs of fertilizers, gas and petrol make production more expensive and cause shortages of raw materials. The aim of the presentation is to analyze the perspective of traditional purchase of plant raw materials and the impact of current economic changes on the international raw material market.

Keywords: botanicals, sourcing, supply chain, sustainability, quality

Präsentation

Produkte mit Inhaltsstoffen pflanzlichen Ursprungs sind ein wichtiger Bestandteil der modernen Pharma-, Lebensmittel- und Kosmetikindustrie. Der Verbrauch der pflanzlichen Arzneimittel, der Früchte- und Kräutertees sowie der Nahrungsergänzungsmittel mit pflanzlichen Rohstoffen nimmt seit mehreren Jahren kontinuierlich zu. Es wird geschätzt, dass ca. 80 % der Menschen auf der ganzen Welt die Produkte als die erste Wahl nutzen. Wie Untersuchungen zeigen, ist die weiterhin steigende Nachfrage nach pflanzlichen Produkten nicht nur auf die Vorbeugung oder Behandlung von Covid-19 zurückzuführen, sondern hängt auch mit dem Bedarf der Abmilderung der gesundheitlichen Auswirkungen des alltäglichen Stresses zusammen. Die Kräuterprodukte finden häufiger als zuvor ihre Anwendung bei Linderung von Spannungs- und Angstzuständen sowie Schlafstörungen.

Die Beschaffung der pflanzlichen Rohstoffe für alle die o. g. Produktgruppen wurde insbesondere in den vergangenen drei Jahren deutlich erschwert. Mit dem Ausbruch der Covid-19-Pandemie wurden viele

Lieferketten aus den traditionellen Herkunftsländer beeinträchtigt oder zeitlich sogar komplett abgebrochen. Die rasant steigenden Kosten der Betriebsmittel wie Düngemittel, Gas und Benzin tragen in vielen Fällen zur Verteuerung der Produktion und zu Knappheit bestimmter Rohstoffe bei.

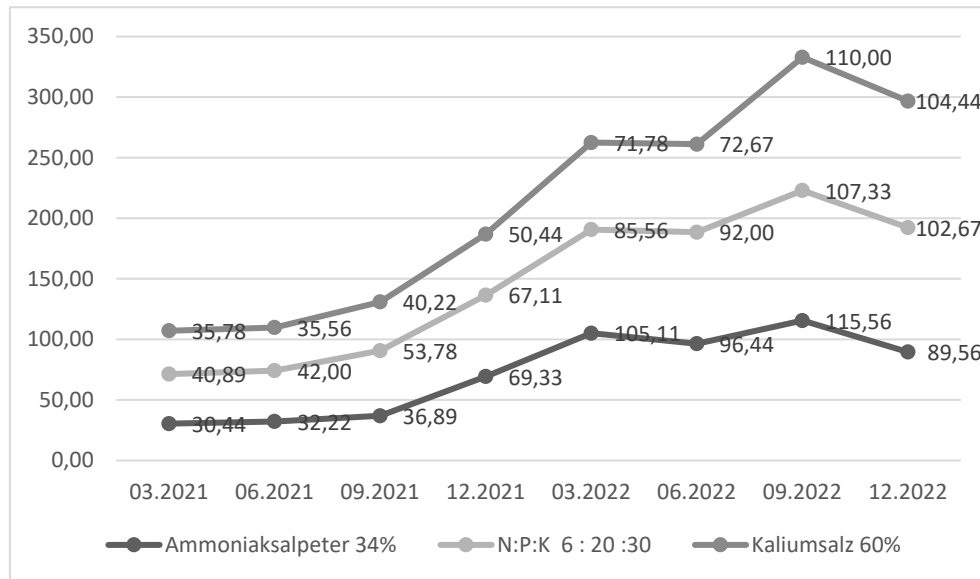


Abb. 1. Düngemittelpreise in EUR/dt in Polen (Quelle: Statistisches Hauptamt (GUS))

Fig. 1. Fertilizer Prices in EUR/dt in Poland (source: Statistisches Hauptamt (GUS))

Im Fall von Polen, seit Jahren einem der größten Lieferanten der pflanzlichen Rohstoffe Europas, ist die Tendenz am besten bei den traditionellen Rohstoffen aus dem Anbau zu erkennen. Als Beispiel können hier Baldrianwurzeln herangezogen werden, deren Preis in den vergangenen drei Jahren um das Dreifache gestiegen ist. Eine ähnliche Preisentwicklung ist auch im Falle von Eibisch, Pfefferminze, Spitzwegerich oder Thymian deutlich.

Im Bereich des Thymiananbaus erreicht auch das Problem der Trockenheit eine besondere Bedeutung. Die Niederschlagsdefizite der vergangenen Jahre machen sich bereits in trockenen Frühjahren und Trockenstresssymptomen bemerkbar. Die hohen Temperaturen und geringe Niederschläge führen zu Ertragsausfällen. Mit der Änderung des Klimas ändern sich die Bedingungen für die Landwirtschaft immer grundlegender, was oft auch die Rentabilität des Anbaus in den traditionellen Regionen in Frage stellt.

Ein kurzfristig steigender Bedarf mit hohen Rohstoffpreisen und kurz danach einem deutlichen Überangebot wie im Falle von Sonnenhutkraut haben auch einen direkten Zusammenhang mit der Covid-19 Pandemie.

Eine konstante Änderung ist auch im Bereich der Rohstoffe aus den natürlichen Populationen zu erkennen. Mit den Ereignissen des Jahres 2019 und der Einschränkung der Bewegungsfreiheit in bestimmten Regionen wurde die Sammlung solcher Rohstoffe wie Linden- oder Holunderblüten, Birkenblätter oder Eichenrinde deutlich erschwert. Dies hat zur Folge, dass die Tendenz der Preissteigerung und Verknappung des Angebotes an o. g. Rohstoffe weiter zunimmt.

Die Bedeutung der Weltwirtschaft, deren Kern unter anderem darin besteht, aufgrund der Produktionskosten und der damit verbundenen Dienstleistungen zwischen auf der ganzen Welt verstreuten Auftragnehmern zu agieren, basiert zum großen Teil auf den relativ niedrigen Transportkosten insbesondere auf dem Seeweg. So werden ca. 80 % der Waren auf dem Seeweg verschifft. Leider führt jede größere Störung in der langfristig aufgebauten Logistikstruktur zu

weitgehenden Konsequenzen für die gesamte Weltwirtschaft. Eine daraus resultierende Auswirkung sind die Engpässe in der Verfügbarkeit von bestimmten pflanzlichen Rohstoffen. Zu dieser Gruppe gehören z. B. Hagebutte aus Chile, Hibiskus aus Afrika, Flohsamen oder Sennesblätter aus Indien. Interessant dabei ist auch die Analyse der verfügbaren Transportmittel und damit einhergehenden Frachtpreise. Der Baltic Dry Index (BDI), der den Wert der Frachtraten also der Gebühren für den Seetransport unter Berücksichtigung der Lieferzeit bestimmt, bezieht sich auf den Transport von Massengütern, hauptsächlich Rohstoffen. Nach Ausbruch der Covid-19-Pandemie sank der BDI-Index von 539 Punkten (2. März 2020) auf ein Rekordtief von 393 Punkten (14. Mai 2020). Aufgrund der fast überall auf der Welt eingeführten Gesundheitsbeschränkungen kam der Seetransport damals fast zum Erliegen. Mit Beginn des Sommers wurden einige Beschränkungen aufgehoben. Als Folge der allmählichen Ordnung der Lage auf dem globalen Logistikmarkt begann der BDI-Index wieder zu steigen. Bis Ende 2020 lag er um das Doppelte über dem Vorkrisenniveau. Mitte März 2021 war sein Wert viermal höher als die Notierungen von Anfang 2020. Der eigentliche Boom im Seetransport begann im Hochsommer 2021. Der Wert des BDI-Index überstieg damals 3.500 Punkte und übertraf damit die Kurse von Anfang 2020 um das Siebenfache. Anfang Oktober 2021 erreichte der Index der baltischen Börse den Stand von 5.650 Punkten, zehnmal höher als vor der Krise.

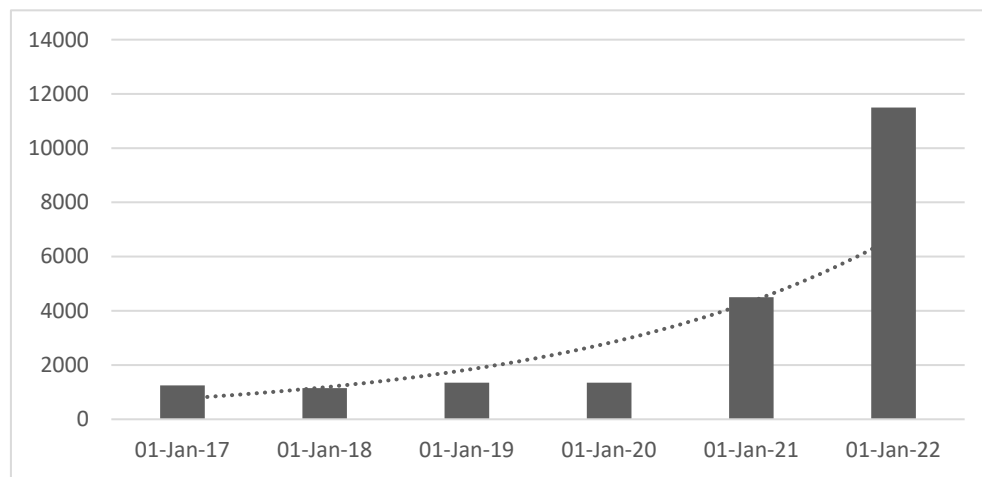


Abb. 2. Frachtkosten anhand FBX in USD (Quelle: Freightos Data)

Fig. 2. Freight costs based on FBX (Freightos Baltic Index) in USD (source: Freightos Data)

Eine nachhaltige Gewinnung der pflanzlichen Rohstoffe ist auch angesichts der steigenden qualitativen Anforderungen zunehmend kompliziert. Anbauer und Sammler der Heilpflanzen haben aufgrund ihres allgegenwärtigen Vorkommens nur begrenzte Möglichkeiten, das Vorhandensein von Umweltschadstoffen wie polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe oder Pestizide direkt zu kontrollieren. Gleichzeitig wird aufgrund der verfeinerten Analysentechniken und der zunehmenden Anzahl der toxikologischen Daten die Liste der potentiell relevanten Schadstoffe natürlichen Ursprungs wie z. B. Pyrrolizidinalkaloide, Mykotoxine oder das neuerdings diskutierte Estragol immer länger. Es besteht kein Zweifel, dass das Risiko des möglichen Vorkommens solcher Schadstoffe, sei es natürlichen oder anthropogenen Ursprungs, in der gesamten Lieferkette minimiert sein muss.

In diesem Vortrag werden die wirtschaftlichen Aspekte und die qualitativen Herausforderungen der aktuellen Rohstoffbeschaffung vorgestellt. Dabei soll auch der Frage nachgegangen werden, welche Perspektive die traditionelle Beschaffung der pflanzlichen Rohstoffe aus dem Anbau und den natürlichen Populationen hat und wie die aktuellen Wirtschaftsänderungen den internationalen Rohstoffmarkt beeinflussen.

Die dem Beitrag und der darauf folgenden Präsentation zugrundeliegenden Daten resultieren aus den internen Marktanalysen der im PKZ (Polnisches Kräuterkomitee) vereinigten Handels- und Verarbeitungsunternehmen.

Aufgrund der Firmenpolitik dürfen nicht alle Daten publiziert werden, die während des Vortrages in Form von Referenzen und Beispielen, ohne deren Vertraulichkeit zu beeinträchtigen, dargestellt sein sollen.

Sektion 2: Qualität und Inhaltsstoffe

Hopfeninhaltsstoffe für die Neuroregeneration

Natural Constituents of Hops for Neuroregeneration

Corinna Urmann^{1,2}, Lara Bieler⁴, Theresa Able^{1,2}, Veronika Huber^{1,2}, Michael Kirchinger^{1,2}, Ludwig Aigner³, Sebastien Couillard-Despres⁴ und Herbert Riepl^{1,2}

¹Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, Organisch-analytische Chemie, Straubing, Deutschland

²TUM Campus Straubing für Biotechnologie und Nachhaltigkeit, Technische Universität München, Straubing, Deutschland

³Institut für Molekulare Regenerative Medizin, Paracelsus Medizinische Privatuniversität, Salzburg, Österreich

⁴Institut für experimentelle Neuroregeneration, Querschnitts- und Geweberegenerationszentrum Salzburg (SCI-TReCS), Paracelsus Medizinische Privatuniversität, Österreich

corinna.urmann@hswt.de

DOI 10.5073/20230821-133917-0

Zusammenfassung

Humulus lupulus L. - Hopfen - ist eine seit langem verwendete Arzneipflanze. Die traditionelle Anwendung bei Schlaflosigkeit hängt mit den Bittersäuren zusammen, welche den Hopfen auch für die Brauindustrie wertvoll machen. Mit Hilfe einer aktivitätsgeführten Fraktionierung zur Bestimmung der differenzierungsinduzierenden Aktivität in neuronalen Vorläuferzellen der Maus wurde Xanthohumol C als potentes neuroregeneratives Chalkon identifiziert. Substanzen mit diesem Wirkprofil eignen sich zur Behandlung von neurodegenerativen Erkrankungen, welche aufgrund des demographischen Wandels eine zunehmende Bürde der westlichen Gesellschaft darstellen. Der Chroman-Ring des Xanthohumol C wurde als wichtiges Strukturmerkmal für die Wirksamkeit identifiziert. Ein auf Cyclodextrinen basiertes Extraktionsverfahren, welches zu einer besser wasserlöslichen und bioverfügbaren Formulierung führt, ebnet den Weg für mögliche phytopharmazeutische Anwendungen des Hopfens im Bereich der Neuroregeneration.

Stichwörter: Neurodegenerative Erkrankungen, Hopfen, Prenylflavonoide, Chalkone

Abstract

Humulus lupulus L. - the hop - is a medicinal plant with a long history of use. The traditional use for insomnia is related to the bitter acids that make hops valuable for the brewing industry. Using an activity-guided fractionation to determine differentiation-inducing activity in mouse neural progenitor cells, xanthohumol C was identified as a potent neuro-regenerative chalcone. Substances with this activity profile are suitable for treating neurodegenerative disorders, an increasing burden of Western society due to demographic change. The chroman ring of xanthohumol C was identified as an important structural feature for this activity. A cyclodextrin-based extraction process leading to a more water-soluble and bioavailable formulation paved the way for potential phytopharmaceutical applications of hops in neuroregeneration.

Keywords: Neurodegenerative disease, Hops, prenylated flavonoids, chalcones

Einleitung

Neurodegenerative Erkrankungen werden zukünftig eine Bürde der westlichen Gesellschaft sein. Da diese Erkrankungen aufgrund der demographischen Alterung in Zukunft vermehrt auftreten werden und auch sozioökonomische und ökologische Folgen mit sich bringen, wird verstärkt nach Behandlungsstrategien gesucht. Den neurodegenerativen Erkrankungen gemein ist, dass sie einen Verlust von neuronalen Zellen/Gewebe aufweisen, welcher funktionale Defizite mit sich bringt. Unser Körper besitzt die Fähigkeit zur Regeneration auch in diesem Zusammenhang, allerdings ist diese stark eingeschränkt. Der Regenerationsmechanismus basiert auf der Anwesenheit adulter Stammzellen, wie sie unser gesamtes Leben beispielsweise im Hippocampus vorkommen. Diese Stammzellen können zu spezialisierten Zellen wie Oligodendrozyten, Astrozyten und Neuronen (Nervenzellen) differenzieren, heranreifen und besitzen somit das Potential geschädigtes Gewebe zu ersetzen. Dementsprechend verfolgen wir die Strategie, den körpereigenen Reparaturmechanismus durch Einsatz von Heilpflanzen und Naturstoffen anzuregen.

Humulus lupulus L. – Hopfen – ist eine seit langem verwendete Arzneipflanze. Die traditionelle und bekannte Anwendung bei Schlaflosigkeit hängt mit den Bittersäuren zusammen (Zanoli et al. 2005), welche den Hopfen auch für die Brauindustrie wertvoll machen. In der antiken und klösterlichen Medizin wird der Effekt des Hopfens auf die Melancholie, heute als Depression bezeichnet, erwähnt. Für einige antidepressiv wirkende Medikamente konnte gezeigt werden, dass sie neuroregenerative Prozesse in adulten neuronalen Stammzellen des menschlichen Gehirns regulieren (Santarelli et al., 2003). Der Hopfen ist daher ein vielversprechender Kandidat für weitere Untersuchungen in diese Richtung.

Material und Methoden

Xanthohumol (Abbildung 1a) wurde aus dem Extrakt Xanthoflav® der Hallertauer Hopfenveredelungsgesellschaft gewonnen. Die unterschiedlichen Methoden zur Extraktion, Fraktionierung, Synthese und Bioaktivitätstestung können detailliert in den angegebenen Veröffentlichungen nachgelesen werden.

Ergebnisse

Die aktivitätsgeführte Fraktionierung ist die am häufigsten verwendete Technik zur Entdeckung wirksamer Pflanzeninhaltsstoffe. Die gewonnenen Extrakte werden einem biologischen Screening unterzogen, und die aktiven Extrakte und Fraktionen werden im besten Fall bis zur Identifizierung einer aktiven Komponente raffiniert.

Eine aktivitätsgeführte Fraktionierung (Abbildung 1b) unter Verwendung eines Reporter-Gen-Assays basierend auf dem frühen Neuronenmarker Doublecortin führte zur Auffindung von Fraktionen an Prenylflavonoiden und -chalkonen, welche die Differenzierung zu Neuronen induzierten und endete in der Identifikation der aktiven Komponente – Xanthohumol C. (Abbildung 1a) Weitergehende Untersuchungen mittels Antikörperfärbung bestätigten die differenzierungsinduzierende Aktivität. Das Pyranochalkon erwies sich als aktiver als die weltweit genutzte Positivkontrolle Retinsäure. Ein Vergleich mit anderen Flavonoiden, welche bereits für ihre Differenzierungsinduktion bekannt sind, zeigte das außergewöhnliche Potential des Hopfeninhaltsstoffes (Oberbauer et al., 2013).

Bioaktive Naturstoffe können direkt als Arzneistoffe, als semi-synthetische abgewandelte Verbindungen oder als Leitstruktur dienen, um aus diesen unter Anwendung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen wirksamere Substanzen herzustellen.

In mehreren Struktur-Aktivitäts-Studien konnte gezeigt werden, dass

1) der Chromanring (Abbildung 1a Markierung) im Vergleich zur Prenylgruppe ein ausschlaggebendes Strukturmerkmal für die Induktion der Differenzierung ist (Urmann et al., 2021).

2) die Chalkonstruktur im Vergleich zu anderen Pyranoflavonoiden (Flavanon, Flavanol, Flavon und Auron) die Differenzierung stärker auslöste (Urmann et al., 2023).

3) das Substitutionsmuster am B-Ring sowohl den Effekt der Differenzierungsinduktion wie auch die Viabilität der verwendeten Zellen beeinflusst (Urmann et al., 2021).

Neben der Identifikation der relevanten Strukturmerkmale, ist die Aufklärung der Wirkmechanismen ein wichtiges Ziel der Entwicklung von Arzneimitteln. In den initialen Untersuchungen zum Pyranochalkon konnte gezeigt werden, dass Xanthohumol C das Wachstum und die Verzweigungsstärke von Neuriten fördert. Dies ist ein wichtiger Effekt in Bezug auf neurodegenerative Erkrankungen, aber auch ein möglicher Ansatzpunkt zur Behandlung von Querschnittslähmung. In letzterer wird die Regeneration des axonalen Wachstums durch körpereigene Inhibitoren verhindert. Es konnte gezeigt werden, dass Xanthohumol C die außergewöhnliche Eigenschaft besitzt, das Auswachsen der Neuronen, ähnlich dem körpereigenen Nervenwachstumsfaktor (NGF) zu fördern, sich allerdings nicht den Wirkmechanismus über den TRKA Signalweg mit dem endogenen Faktor teilt (Bieler et al., 2019). Des Weiteren scheint die Wirkung nicht vornehmlich über den Östrogen-Signalweg zu erfolgen (Urmann et al., 2015).

Phytoextrakte, welche angereichert an neuroregenerative und neuroprotektive Pflanzeninhaltsstoffen sind, könnten in der Prävention von neurodegenerativen Erkrankungen eingesetzt werden. Die Anreicherung der aktiven Pyranoflavonoide startete mit der Erkenntnis, dass Pyranoflavonoide und Prenylflavonoide unterschiedlich in Cyclodextrine eingeschlossen werden können. Cyclodextrine sind ringförmige Polyzucker, welche den eingeschlossenen Substanzen andere physikalische Eigenschaften, wie beispielsweise bessere Löslichkeit vermitteln. Die Kombination der Cyclodextrinlösung mit einer festen Phase, an welcher die Flavonoide angehaftet sind, führte zu einem Filtrationsverfahren (Abbildung 1c), welches die Anreicherung der Pyranochalkone ermöglichte. Um den Prozess in Richtung einer industriellen Anwendung zu erweitern, wurden zunächst im Projekt ExBiNaH (Riepl et al., 2019) unterschiedliche Parameter der festen Phase und der flüssigen Phase bestimmt. Hierzu zählten die Viskosität der Cyclodextrinlösungen ebenso wie die Cyclodextrin-Art und Konzentration. Im Fall der festen Phase wurden unter anderem die Beladbarkeit und die Art der Phase untersucht. Die Anwendung des Gesetzes von Darcy auf den Filtrationsprozess konnte gezeigt werden, so dass dieses für ein Upscaling der Methode genutzt werden kann (Riepl et al., 2019). Für die Brauindustrie werden Hopfenextrakte reich an Bittersäuren über die Extraktion mit überkritischem Kohlendioxid gewonnen. Die prenylierten Flavonoide verbleiben bei dieser Extraktionsart im Treber (fester Rückstand/Pflanzenmaterial), welcher bestenfalls als Futtermittel eingesetzt wird. Dieser Reststoff wurde im Projekt NeHoReg (Wolf et al., 2023) als Ausgangsstoff für die Isolierung der neuroregenerativen Pyranochalkone genutzt.

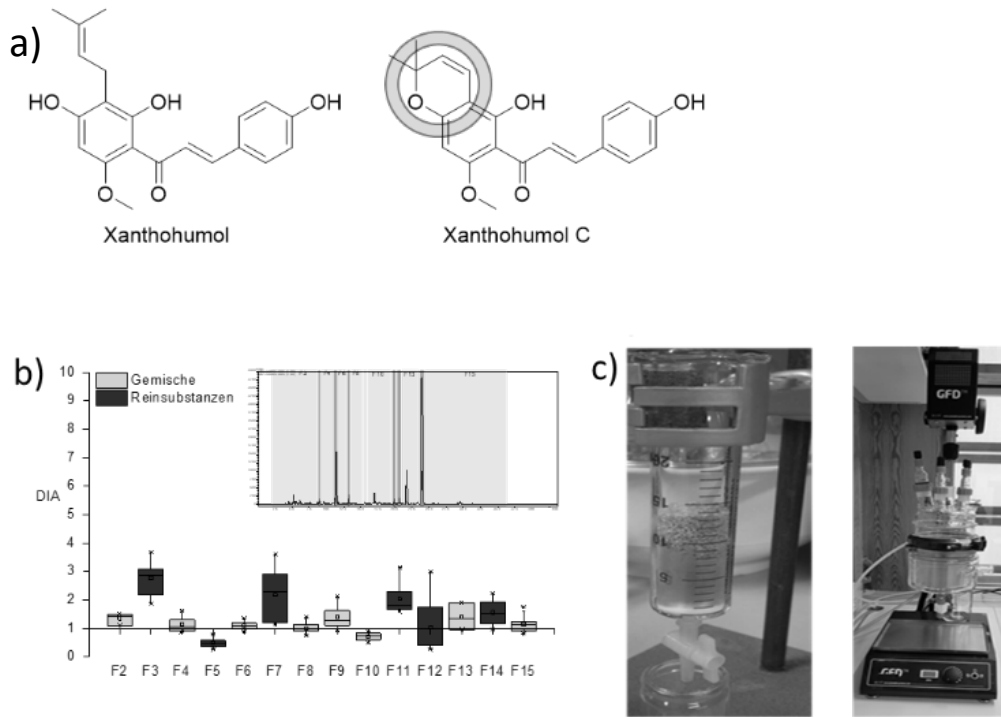


Abb. 1. a) Strukturen der Hopfeninhaltsstoffe Xanthohumol und Xanthohumol C; b) HPLC Chromatogramm mit Einteilung der Fraktionen und differenzierungsinduzierende Aktivität der Fraktionen gemessen über einen dualen Reporterassay; c) links: prinzipieller Aufbau des Filtrationsverfahrens rechts: Filtertrockner (GFD) zur Parameterevaluierung für mögliches Upscaling.

Fig. 1. a) Structures of the hop constituents xanthohumol and xanthohumol C; b) HPLC chromatogram with the division of the fractions and differentiation-inducing activity of the fractions measured via a dual reporter gene assay; c) left: basic setup of the filtration process right: Filter dryer (GFD) for parameter evaluation for possible upscaling

Nach Anwendung des Filtrationsverfahrens, wurde die protektive Aktivität der Reinsubstanzen und der Extrakte gegen Degenerationseinflüsse bestimmt. Xanthohumol C zeigte einen Trend zur antioxidativen Wirkung im SH-SY5Y-Zellmodell. Gegen NO induzierten oxidativen Stress scheint keine der Reinsubstanzen eine protektive Wirkung aufzuweisen. Im Gegensatz zu den Extrakten, bei welchen durchaus eine protektive Wirkung nachzuweisen war. Eine differenzierungsinduzierende Aktivität der an Pyranochalkonen angereicherten Extrakte war im Reporterassay nachweisbar, so dass dieser positive Effekt auch über den phytotherapeutischen Ansatz zugänglich ist (Wolf et al., 2023).

Um die gewonnenen Extrakte und die Reinkomponenten *in vivo* testen und später einsetzen zu können, musste eine Möglichkeit gefunden werden eine höhere Wasserlöslichkeit zu erreichen. Durch das entwickelte Filtrationsverfahren war schon bekannt, dass sich Pyranoflavonoide in Cyclodextrine einschließen lassen. Cyclodextrinderivate sind bereits verwendete Bestandteile von pharmazeutischen Präparationen und dementsprechend wurde eine Formulierung auf dieser Basis entwickelt. Xanthohumol C wurde in Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin eingeschlossen und der entstandene Komplex mittels NMR und hochauflösender Massenspektrometrie charakterisiert. Die Wasserlöslichkeit konnte um das 400fache erhöht werden, wobei die Aktivität im Reporterassay erhalten blieb. Ein Tierexperiment zeigte, dass Xanthohumol C nach parenteraler Gabe im Blut und im Gehirn nachgewiesen werden konnte (Kirchinger et al., 2019). Da die Pyranochalcone nach dem Anreicherungsprozess bereits als Cyclodextrin-Formulierung vorliegen, ergänzt sich das Verfahren optimal mit der Formulierung.

Literatur

- Bieler, L., M. Vogl, M. Kirchinger, C. Urmann, H. Riepl, C. Bandtlow, L. Klimaschewski, L. Aigner und S. Couillard-Despres, 2019: The Prenylflavonoid ENDF1 Overrules Central Nervous System Growth Inhibitors and Facilitates Regeneration of DRG Neurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 13 (332), DOI: 10.3389/fncel.2019.00332.
- Kirchinger, M., L. Bieler, J. Tevini, M. Vogl, E. Haschke-Becher, T.K. Felder, S. Couillard-Després, H. Riepl und C. Urmann, 2019: Development and characterization of the neuroregenerative xanthohumol c/Hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex suitable for parenteral administration. *Planta Medica* 85 (16), 1233-1241, DOI: 10.1055/a-1013-1276.
- Oberbauer, E., C. Urmann, C. Steffenhagen, L. Bieler, D. Brunner, T. Furtner, C. Humpel, B. Baumer, C. Bandtlow, S. Couillard-Despres, F.J. Rivera, H. Riepl und L. Aigner, 2013: Chroman-like cyclic prenylflavonoids promote neuronal differentiation and neurite outgrowth and are neuroprotective. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 24 (11), 1953-1962, DOI: 10.1016/j.jnutbio.2013.06.005.
- Riepl, H., C. Urmann, M. Kirchinger, T. Burger, A. Welz, A. Emberger-Klein und K. Menrad, 2019: Extraktionsverfahren bioaktiver Naturstoffe aus Hopfen. DOI: 10.2314/KXP:1679334689.
- Santarelli, L., M. Saxe, C. Gross, A. Surget, F. Battaglia, S. Dulawa, N. Weisstaub, J. Lee, R. Duman, O. Arancio, C. Belzung und R. Hen, 2003: Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301 (5634), 805-809, DOI: 10.1126/science.1083328.
- Urmann, C., L. Bieler, M. Hackl, O. Chia-Leeson, S. Couillard-Despres und H. Riepl, 2023: Semi-Synthesis of Different Pyranoflavonoid Backbones and the Neurogenic Potential. *Molecules* 28 (10), DOI: 10.3390/molecules28104023.
- Urmann, C., L. Bieler, E. Priglinger, L. Aigner, S. Couillard-Despres und H.M. Riepl, 2021: Neuroregenerative Potential of Prenyl- and Pyranochalcones: A Structure-Activity Study. *J Nat Prod* 84 (10), 2675-2682, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.1c00505.
- Urmann, C., E. Oberbauer, S. Couillard-Després, L. Aigner und H. Riepl, 2015: Neurodifferentiating potential of 8-prenylnaringenin and related compounds in neural precursor cells and correlation with estrogen-like activity. *Planta Med* 81, 305-311.
- Wolf, M., T. Bayerl, P. Strobel, V. Huber, A. Emberger-Klein, J. Buchner, K. Menrad, H. Riepl und C. Urmann, 2023: Neuartige Hopfenextrakte für die Neuroregeneration (NeHoReg). DOI: 10.13140/RG.2.2.13654.32327.
- Zanoli, P., Rivasi, M., Zavatti, M., Brusiani, F., Baraldi, M. 2005: New insight in the neuropharmacological activity of *Humulus lupulus* L. *J Ethnopharm* 102 (1), 102-106, DOI: 10.1016/j.jep.2005.05.040.

KI und Qualität - Detektion und Entfernung Pyrrolizidinalkaloidhaltiger Beikräuter im Erntegut mittels sensorgestützter Sortierung

Felix Kronenwett¹, Georg Maier¹, Henning Schulte¹, Nanina Tron², Andrea Krähmer²

¹Fraunhofer IOSB, Institut für Optronik, Systemtechnik und Bildauswertung, Fraunhoferstraße 1, 76131 Karlsruhe, Deutschland. georg.maier@iosb.fraunhofer.de

²Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, 14195 Berlin, Deutschland. andrea.kraehmer@julius-kuehn.de

DOI 10.5073/20230821-134542-0

Zusammenfassung

Pyrrolizidinalkaloide (PA) sind sekundäre Pflanzenstoffe und dienen in erster Linie der Pflanze zum Schutz gegen Fraßfeinde. Durch Mitbeerntung PA-haltiger Beikräuter im Pflanzenbau gelangen PAs als Verunreinigung in Lebensmittel (Salate, Kräuter, Tees) oder pflanzliche Arzneimittel. Aufgrund ihrer lebertoxischen und genotoxischen Wirkungsweise stellen sie eine potenzielle Gesundheitsgefahr dar. PA-Pflanzen sind besonders im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau ein Problem, denn schon wenige Pflanzen pro Hektar genügen, um die Ernte für den Handel unbrauchbar zu machen. Eine Bekämpfung bzw. Reduktion der PA-Beikräuter bereits auf dem Feld ist zumeist nur mechanisch und mit sehr hohem Personalaufwand möglich. Dies ist für die Anbauer zunehmend nicht mehr ökonomisch darstellbar. Darüber hinaus ist importierte, getrocknete Ware oftmals höher als zulässig mit PAs belastet. Hier fehlt es aktuell an Möglichkeiten, PA-haltige Pflanzenteile aus der Ware zu entfernen.

Hierzu sollte das über das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) und über die Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR) (FKZ 220132165) geförderte Verbundprojekt „Detektion und Entfernung von Pyrrolizidinalkaloidhaltigen Unkräutern aus Kulturpflanzen nach der Ernte - PA-NIRSort“ mögliche Lösungswege aufzeigen.

Mit der Entwicklung einer automatisierten, der Ernte nachgelagerten Detektion und Abtrennung der kontaminierenden, toxischen PA-Beikräuter, kann eine effiziente Verbesserung der Qualitätskontrolle geschaffen werden. Dies sollte auf Basis von Hyperspektral-Nah-Infrarot-Spektroskopie (hyperspektral-NIRS), in Kombination mit einer Druckluftsortiereinheit entwickelt werden. Daher wurde ein Verfahren zum Nachweis, zur Klassifikation und zur physikalischen Ausschleusung von PA-haltigen Pflanzenteilen in einem Materialstrom von Arznei- und Gewürzpflanzen (Brennnessel, Melisse und Minze) entwickelt und umgesetzt. Die Detektion basiert auf bildgebenden hyperspektralen Sensoren im kurzwelligen Infrarotbereich. Die gewonnenen Hyperspektraldaten bilden die Grundlage für das Training eines KI-basierten Klassifikationsmodells. Die Klassifikation mittels NIR-Spektroskopie erreicht eine Erkennungsrate von über 90 %. Mit Hilfe dieses Detektionsmodells wurde eine sensorgestützte Sortieranlage entwickelt, mit dem Ziel PA-haltige Pflanzenteile physikalisch auszuschleusen und den pflanzlichen Materialstrom aufzureinigen. Dabei lag der Fokus auf der Optimierung des Materialtransports auf dem Förderband. Hierfür wurde ein aus Druckluft erzeugter Luftstrom zur Materialberuhigung eingesetzt. Somit wurde ein sensorgestütztes Sortierverfahren mittels pneumatischen Schnellschaltventilen erfolgreich umgesetzt.

Stichwörter: Senecio, Brennnessel, Pfefferminze, Melisse, Nacherntebehandlung, hyperspektrale Bildgebung, maschinelles Lernen, Qualitätssicherung

Abstract

Pyrrolizidine alkaloids (PAs) are secondary plant substances and primarily serve to protect the plant against predators. When PA-containing weeds are co-harvested in crop production, PAs enter food (salads, herbs, teas) or herbal medicines as contaminants. Due to their liver-toxic and genotoxic mode of action, they represent a potential health hazard. PA plants are a particular problem in the cultivation of medicinal and aromatic plants, as just a few plants per hectare are enough to make the harvest unusable for trade. Control or reduction of weeds already in the field is usually only possible mechanically and with very high labour costs. Increasingly, this is no longer economically viable for growers. In addition, imported, dried goods are often contaminated with higher contents of PAs than permitted. There is currently no way to remove plant parts containing PAs from the goods.

The joint research project "Detection and removal of weeds containing pyrrolizidine alkaloids from cultivated plants after harvest - PA-NIRSort", funded by the Federal Ministry of Food and Agriculture (BMEL) and the Agency for Renewable Resources (FNR) (FKZ 220132165), should investigate possible solutions for quality control.

With the development of an automated post-harvest detection and removal of contaminating, toxic PA weeds, an efficient improvement of quality control can be created. This was to be developed on the basis of hyperspectral near-infrared spectroscopy (hyperspectral-NIRS), in combination with a compressed air sorting unit. Therefore, a method for the detection, classification and physical ejection of PA-containing plant parts in a material stream of medicinal and spice plants (nettle, lemon balm and mint) was developed and implemented. The detection is based on hyperspectral imaging sensors in the short-wave infrared range. The obtained hyperspectral data form the basis for training an AI-based classification model. Classification using NIR spectroscopy achieves a detection rate of over 90 %. With the help of the detection model, a sensor-based sorting system was developed with the aim of physically ejecting PA-containing plant parts and purifying the stream of plant material. The focus was on optimising the material transport on the conveyor belt. For this purpose, an air flow generated from compressed air was used to calm the material. Thus, a sensor-based sorting process was successfully implemented by means of pneumatic fast-switching valves.

Keywords: pyrrolizidine alkaloids, Senecio, stinging nettle, peppermint, lemon balm, post-harvest treatment, hyperspectral imaging, machine learning, sensor-based sorting, quality control

Einleitung

Pyrrolizidinalkaloide (PA) sind sekundäre Pflanzenstoffe, die u. a. lebertoxisch wirken können. Sie stellen eine potenzielle Gesundheitsgefahr dar, da sie häufig als Verunreinigung in Lebensmitteln oder pflanzlichen Arzneimitteln vorkommen. Durch die strengen Grenzwerte der EU genügen bereits wenige Pflanzen pro Hektar, um ein Produkt zu verunreinigen und vermarktungsunfähig zu machen (EU, 2022). Daher sind eine regelmäßige Feldüberwachung und Entfernung entsprechender Unkräuter erforderlich. Dies ist jedoch ein erheblicher personeller Aufwand, der zudem gut geschultes Personal erfordert. Methoden zur Identifizierung und Entfernung von derartigen Verunreinigungen nach der Ernte sind daher gefragt.

In dem interdisziplinären Verbundprojekt PA-NIRSort haben Forschende des Julius Kühn-Instituts (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, und des Fraunhofer IOSB, Institut für Optronik, Systemtechnik und Bildauswertung, ein Verfahren zur Entfernung PA-haltiger Pflanzenteile aus einem Materialstrom auf Basis eines sensorgestützten Sortiersystems entwickelt. Bei der sensorgestützten Sortierung wird ein

Materialstrom während des Transports durch eine Sensorik erfasst und einzelne enthaltene Objekte mittels Datenverarbeitung lokalisiert und klassifiziert. Auf Basis der Klassifikation wird eine Sortierentscheidung berechnet, welche durch pneumatische Schnellschaltventile ausgeführt wird. Unerwünschte Bestandteile werden so aus dem Materialstrom entfernt.

Mit Hilfe hyperspektraler Bildgebung im kurzwelligen Infrarot wurde ein optisches System für den Einsatz in einem Sortiersystem entwickelt, welches es ermöglicht, verschiedene Pflanzenarten zu erkennen. Das System wird mittels direkt am Sortiersystem erhobener Spektraldaten eingelernt. Auf Basis moderner Verfahren des maschinellen Lernens, konkret des sogenannten Deep Learning (Goodfellow, Bengio, & Courville, 2016), wird ein Modell trainiert, welches eine Diskriminierung der Pflanzenarten ermöglicht. Anhand verschiedener Beispiele, z. B. der Unterscheidung von Brennessel und Greiskraut, konnte gezeigt werden, dass Erkennungsraten von über 90 % erzielt werden können. Diese Modelle können für den echtzeitfähigen Einsatz optimiert (Kim, Nam, Jung, & Lee, 2017) und während des Sortierbetriebs auf einer Grafikkarte ausgeführt werden. Bei der Sortierung kleiner, getrockneter Pflanzenteile, stellt neben der Materialcharakterisierung jedoch das Materialhandling eine weitere große Herausforderung dar. Das optische System wurde daher auf einem Testsystem implementiert, welches über ein für derartige Materialien optimiertes Transportverfahren verfügt. Hierbei wird der Transport auf einem Förderband durch einen zusätzlich mittels Druckluft erzeugten Luftstrom unterstützt, wodurch die Materialvereinzelung und -beruhigung verbessert wird. Derzeit werden abschließende Sortierexperimente auf diesem System durchgeführt und die Ergebnisse unter Nutzung einer Referenzanalytik bewertet.

Material und Methoden

Pflanzliches Material, Anbau und Probenvorbereitung

Da im Rahmen dieses Projektes nicht für alle Kombinationen aus Arzneipflanzen und potentiell PA-Bildner Sortiermethoden entwickelt werden konnten, wurden zunächst ausgewählte Kulturen mit hohem Anbauvolumen in Deutschland und deren hauptsächliche PA-Kontaminante untersucht. Hierzu wurden Melisse (*Melissa officinalis* L.), Pfefferminze (*Mentha x piperita* 'Multimentha') und Brennessel (*Urtica dioica*) von der Industrie als wichtige Kulturen benannt. Im Rahmen des ebenfalls vom BMEL und der FNR geförderten Projektes zur „Erfassung der standortabhängigen und kulturpflanzenspezifischen Beikrautflora in Arzneipflanzenbeständen unter besonderer Berücksichtigung Pyrrolizidinalkaloid-(PA-) haltiger Unkräuter und Erstellung einer PA-Unkrautdatenbank“ (FNR-Förderkennzeichen 22007914), wurde das Gemeine Greiskraut (*Senecio vulgaris*) als hauptsächlicher PA-Bildner mit sehr hohen PA-Gehalten für die oben benannten Zielkulturen identifiziert (Nitzsche, Plescher, & Wahl, 2018). Der Anbau der Arzneipflanzen sowie des Greiskrauts erfolgte vorwiegend am JKI Berlin und auch in kleinerem Umfang am Fraunhofer IOSB in Karlsruhe.

Die Liste der untersuchten Pflanzenarten umfasst:

- Melisse (*Melissa officinalis* 'Erfurter Aufrechte' und 'Lorelei') – Anbau in 1x1 m Beet, identische Pflanzen aus den Erntejahren 2019-2022
- Pfefferminze (*Mentha x piperita* 'Multimentha') – Anbau in 1x1 m Beet, identische Pflanzen aus den Erntejahren 2019-2022
- Große Brennnessel (*Urtica dioica*) – Anbau in 1x1 m Beet, identische Pflanzen aus den Erntejahren 2019-2022
- Gemeines Greiskraut (*Senecio vulgaris*) - Anbau in 1x1 m Beet und aus dem Wildbestand des JKI Berlin-Dahlem, Erntejahre 2019-2023

Je Art wurden 24 (Melisse, Minze), bzw. 12 (Brennnessel) Einzelpflanzen im Freiland, in 1x1 m Beeten angebaut und auch überwintert. Da das Gemeine Greiskraut in der Regel in allen Entwicklungsstufen als Beikraut in der Ernte auftreten kann und sich mehrfach im Jahr selbst aussät, wurde es zum Teil im Topf verbleibend im Feld eingesenkt, aber auch aus dem Wildbestand auf dem Gelände des JKI-Berlin Dahlem entnommen.

Berntet wurden die Arzneikulturen zwei bis dreimal pro Jahr, jeweils beginnend zum Start der Blüte über den Zeitraum von Juni bis November (Jahre 2019-2022, Schnitthöhe ca. 15 cm). Das geerntete Pflanzenmaterial wurde bei Raumtemperatur getrocknet und anschließend bis zur weiteren Analytik in Papiertüten dunkel gelagert.



Abb. 1. Anbau des Pflanzenmaterials am JKI Berlin. Oben links: Gemeines Greiskraut (*Senecio vulgaris*), oben rechts: Brennnessel (*Urtica dioica*), unten links: Melisse (*Melissa officinalis*), unten rechts: Pfefferminze (*Mentha x piperita* 'Multimentha')

Hyperspektrale Datenaufnahme

Die getrockneten Pflanzenteile (Greiskraut, Brennnessel, Melisse, Minze) wurden mit einem hyperspektralen Sensor erfasst. Verschiedene Pflanzenarten können im kurzwelligen Infrarot voneinander unterschieden werden (Krause, et al., 2021). Abhängig ihrer funktionalen chemischen

Gruppen entstehen charakteristische Absorptionsbänder an definierten Wellenlängen im erfassten Reflektanzspektrum. Zur Datenaufnahme wurde ein hyperspektraler Zeilensensor mit 320 Pixeln verwendet. Durch eine konstante Bewegung der Proben orthogonal zur Inspektionslinie entstehen örtlich zweidimensionale Aufnahmen der Proben. Die Kamera erfasst pro Pixel 256 spektrale Bänder im Wellenlängenbereich von 1100 bis 2200 nm. Beispielhafte Mittelwertspektren der 4 Kräuterklassen befinden sich in Abbildung 2 und zeigen deutliche Unterschiede in den Intensitäten ihrer Absorptionsbänder.

Für die Extraktion der Trainingspektren wurde mittels eines Schwellwertes der Vordergrund vom Hintergrund segmentiert. Pro Klasse wurden über 10.000 Spektren extrahiert und in Trainings-, Validierungs- und Test-Set eingeteilt. Dabei wurde beachtet, dass die drei Sets disjunkt bezüglich der Spektren örtlich zusammenhängender Pflanzenteile sind, um Abhängigkeiten in den Daten zu vermeiden.

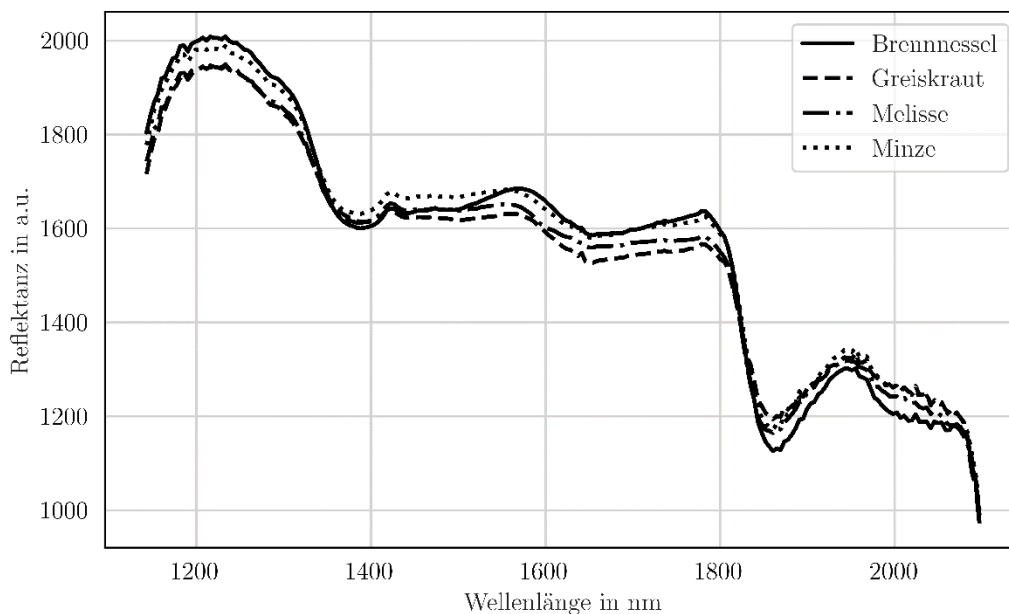


Abb. 2. Unverarbeitete Mittelwertspektren der vier untersuchten Kräuter (Spektraldaten wurden zugeschnitten, um unerwünschte Randeffekte zu vermeiden).

Klassifikation verschiedener Kräuter mittels Deep Learning

Zur pixelweisen Klassifikation der Reflektanzspektren wurde ein datengetriebener Deep Learning Ansatz gewählt. Neuronale Netze sind aufgrund ihrer Möglichkeit, nichtlineare Entscheidungsgrenzen anhand von Trainingsbeispielen zu lernen, besonders für Klassifikationsaufgaben geeignet. Aufgrund der automatischen Extraktion der Spektren stellt die Trainingsdatenbeschaffung in der Verwendung des datengetriebenen Ansatzes kein Hemmnis dar.

Untersuchungen bezüglich der Netzwerkarchitektur fokussierten sich auf den Unterschied zwischen fully-connected Netzwerken und der Verwendung von zusätzlichen Faltungsschichten vor den fully-connected Layern der eigentlichen Klassifikation. Schlussendlich wurde eine Architektur bestehend aus zwei Faltungsschichten am Eingang, gefolgt von drei fully-connected Layern verwendet. Als Aktivierungsfunktion diente die ReLu-Funktion. Jeder Faltungs-Block beinhaltete eine Max-Pooling Operation mit einer Kernel-Size von 2. Zusätzlich wird in jedem Block eine Batch-Normalisierung durchgeführt, um ein stabileres Training bzw. einen stabil konvergierenden Trainings-Loss zu bewirken. Die beiden Faltungsschichten nach dem Eingang zeigten einen positiven Effekt im Umgang mit den,

aufgrund der hohen Framerate bzw. niedrigen Integrationszeit, sehr verrauschten Spektren. Sie übernehmen eine filternde und normalisierende Funktion im Umgang mit den rohen, unverarbeiteten Eingangsdaten und zeigten bessere Ergebnisse als die Verwendung eines fully-connected Netzwerkes, trotz einer höheren Anzahl an zu lernenden Gewichten. Für das Training wurde der Cross-Entropie-Loss verwendet.

Ergebnisse

Ergebnisse der Klassifikation

Ausgehend des vorgestellten Ansatzes wurden Klassifikationsmodelle trainiert und deren Performance auf unabhängigen Testdaten evaluiert. Das Ergebnis ist als Confusion Matrix in Abbildung 3 dargestellt und zeigt ein sehr gutes Resultat. Es wird ein gemittelter F1-Score von 0,89 erreicht. Probleme bestehen in der Unterscheidung zwischen Minze und Melisse und lässt sich auf große Ähnlichkeiten der Reflektanzspektren beider Pflanzenarten zurückführen.

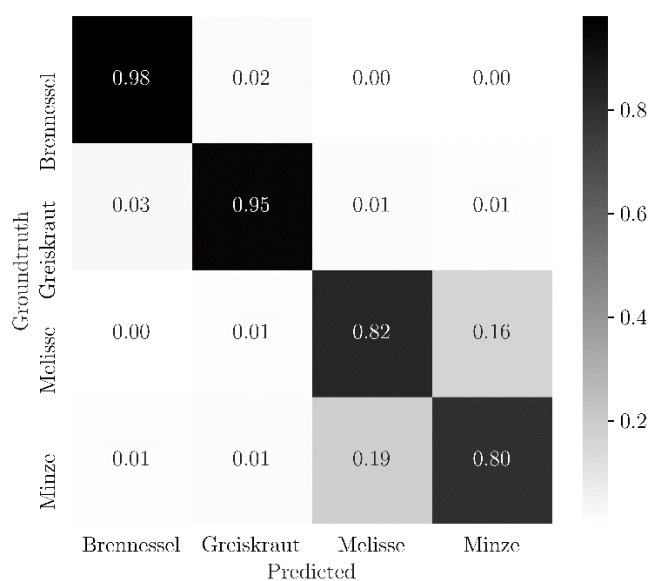


Abb. 3. Confusion Matrix des Klassifikationsergebnisses auf den unabhängigen Testdaten

Integration in optimierte sensorgestützte Sortieranlage

Die Klassifikationsergebnisse der trainierten Modelle dienen als Entscheidungsgrundlage innerhalb einer echtzeitfähigen, sensorgestützten Sortieranlage. Ausgehend der Aufgabe wurde ein System implementiert, das für die Sortierung getrockneter Pflanzenteile optimiert ist.

Das realisierte System besteht aus einem Schwingförderer, welcher für eine Verteilung und Vereinzelung der zu sortierenden Pflanzenteile sorgt. Die Objekte gelangen über eine Rutsche auf ein 3 Meter langes Förderband. Aufgrund der physikalischen Eigenschaften der getrockneten, dünnen Pflanzenteile wurde ein unruhiges Transportverhalten festgestellt, welches Auswirkung auf die gezielte Ausschleusung hat. Um dem entgegenzuwirken und die Pflanzenteile während des Transports auf dem Förderband zu beruhigen, verfügt das System über einen mittels Druckluft erzeugten Luftstrom, welcher entlang der Transportrichtung die Objekte auf das Band presst.

Nach der Abwurfkante werden die Pflanzenteile mit der hyperspektralen Zeilenkamera erfasst, die Objekte detektiert, klassifiziert und eine Ausschleusentscheidung getroffen. Die Separation erfolgt

mittels einer Leiste aus pneumatischen Schnellschaltventilen, die einzeln für eine definierte Zeitdauer aktiviert werden können.

Aufgrund der Eigenschaften der Kamera wurden lediglich ca. 1/3 des 75 cm breiten Förderbandes ausgenutzt, um eine ausreichend hohe örtliche Bildauflösung zu erhalten. Zur vollständigen Ausnutzung des Bandes und einer damit verbundenen Erhöhung des Materialdurchsatzes wäre somit mindestens eine weitere Kamera oder die Verwendung einer Kamera mit mehr Pixeln notwendig. Auf die Verarbeitung der Sensordaten und somit das Treffen der Sortierentscheidung wird im Folgenden genauer eingegangen.

Grundlage der Datenauswertung bildet der pixelweise Klassifikator. Das offline trainierte Modell wird für einen standardisierten Austausch in das onnx-Format exportiert. Im Sortiersystem wird die onnx-Datei eingelesen und die Ausführung der neuronalen Netzarchitektur mittels TensorRT auf der integrierten Nvidia-GPU optimiert. Die Verarbeitung der Sensordaten enthält eine Vordergrundsegmentierung sowie die Extraktion zusammenhängender Objektpixel mittels einer Connected-Component Analyse (CCA) mit anschließender Anwendung verschiedener Splitting-Mechanismen. Mithilfe des trainierten Modells werden die einzelnen Objektpixel bzw. Spektren klassifiziert. Die Zuordnung einer Klasse zu einem Objekt erfolgt mittels eines Mehrheitsentscheids über den pixelweisen Klassifikationsergebnissen. Objekte der Klasse „Greiskraut“, als Vertreter der PA-haltigen Beikräutern, werden aus dem Materialstrom ausgeschleust.

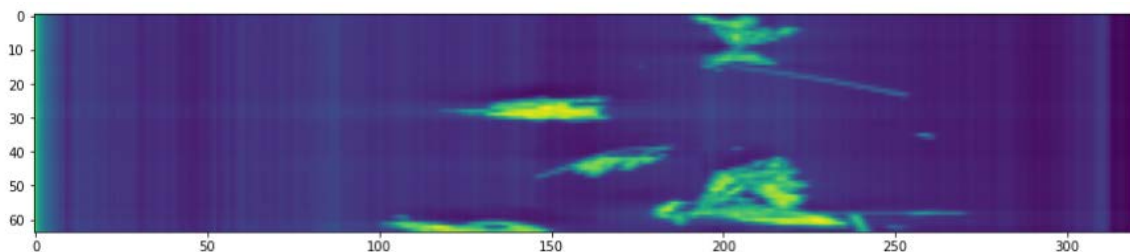


Abb. 4. Attributbild nach der pixelweisen Klassifikation zum Treffen der Ausschleusentscheidung und Berechnung der Ausschleusparameter (Anzahl, Timing und Dauer der Düsenaktivierungen)

Fazit und Ausblick

In dem interdisziplinären Verbundprojekt PA-NIRSort wurde erfolgreich ein Verfahren zur Unterscheidung verschiedener getrockneter Pflanzenarten mit dem Ziel der Detektion von PA-Bildnern auf Basis hyperspektraler Bilddaten im kurzwelligen Infrarot entwickelt. Das entwickelte Verfahren wurde für den echtzeitfähigen Einsatz im Kontext der sensorgestützten Sortierung optimiert und erfolgreich validiert. Die Forschungsergebnisse zeigen, dass Detektionsraten von über 90 % Prozent erzielt werden. Eine besondere Herausforderung bestand in der Sicherstellung eines beruhigten Materialtransports als auch im physikalischen Ausbringen des Schlechtmaterials mittels pneumatischer Schnellschaltventile. Anhand eines Förderbandes mit zusätzlich eingelassenem Luftstrom wurde hier eine mögliche technische Lösung aufgezeigt.

Um das Verfahren wirtschaftlich in der Praxis einsetzen zu können, bedarf es in erster Linie Weiterentwicklungen seitens der Kameratechnologie. Hyperspektrale Kameras im Nahinfrarot, welche ausreichend hohe Auslesegeschwindigkeiten für den Sortierbetrieb anbieten, verfügen derzeit über maximal 640 Pixel. Um auch kleine Pflanzenteile abbilden zu können wird jedoch eine hohe örtliche Auflösung benötigt. Hieraus ergibt sich eine kleine Sortierbreite, was wiederum zu niedrigen Massenströmen führt. Abhilfe würde der Einsatz mehrerer Kameras in einem Sortiersystem schaffen,

was jedoch die Investitionskosten steigert. Ebenfalls ist damit zu rechnen, dass in der Zukunft entsprechende Kameras mit einer höheren Pixelanzahl verfügbar sein werden.

Obwohl die Unterscheidung der verschiedenen Pflanzen mit hoher Genauigkeit gelingt, ist davon auszugehen, dass, insbesondere aufgrund des herausfordernden Materialhandling, der relative Sortierfehler höher als der Erkennungsfehler ausfallen wird. Daher kann es notwendig sein, einzelne Chargen in mehreren Durchläufen zu sortieren, um sicherzustellen, Grenzwerte einzuhalten. Dies unterstreicht jedoch erneut die Notwendigkeit, hohe Massenströme aufbereiten zu können.

Die Verfahren wurden auf Basis einer Auswahl von drei Produkten und einem Vertreter der PA-Bildner validiert. In der Zukunft ist es notwendig, ebenfalls andere Kulturpflanzen sowie PA-Bildner zu betrachten. Ebenfalls von Interesse ist die Bewertung der Pflanzen vor der Trocknung.

Literatur

EU, 2022. Verordnung (EU) 2020/2040 der Kommission vom 11. Dezember 2020 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 hinsichtlich der Höchstgehalte an Pyrrolizidinalkaloiden in bestimmten Lebensmitteln (Text von Bedeutung für den EWR), OJ L.

Goodfellow, I., Bengio, Y., & Courville, A. (2016). Deep Learning. MIT Press.

Kim, H., Nam, H., Jung, W., & Lee, J. (2017). Performance analysis of CNN frameworks for GPUs. 2017 IEEE International Symposium on Performance Analysis of Systems and Software (ISPASS), 55-64.

Krause, J., Tron, N., Maier, G., Krähmer, A., Gruna, R., Längle, T., & Beyerer, J. (2021). Detection of pyrrolizidine alkaloid containing herbs using hyperspectral imaging in the short-wave infrared. (K. S. Publishing, Hrsg.) OCM 2021 – Optical Characterization of Materials conference proceedings, 45–55.

Nitzsche, J., Plescher, A., & Wahl, S. (2018). Pyrrolizidinalkaloid-haltige Beikräuter in Arznei- und Gewürzpflanzenkulturen - Verbreitung und Gefahr der Kontamination von Ernteprodukten in Deutschland. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung. Tagungsband 28, S. 408-418. Braunschweig: Julius-Kühn-Archiv. DOI: 10.5073/jka.2018.458.060.

Sektion 3: Inkulturnahme und Züchtung

Alpine Biodiversität - genetische und phytochemische Untersuchungen lokaler Populationen des Alpen-Milchlattich (*Cicerbita alpina* (L.) Wallr.)

Alpine biodiversity - genetic and phytochemical studies of local populations of alpine blue-sow-thistle (Cicerbita alpina (L.) Wallr.).

Eftychia Martinidou, Pietro Fusani, Luisa Palmieri, Stefan Martens

Edmund Mach Foundation, Research and Innovation Center, San Michele all'Adige (TN), Italien

stefan.martens@fmach.it

DOI 10.5073/20230821-140326-0

Zusammenfassung

Cicerbita alpina (L.) Wallr. (syn. *Lactuca alpina* (L.) A.Gray, Alpen-Milchlattich) gehört zur Familie der Korbblütler (Asteraceae) und ist eine alpine, mehrjährige Pflanze, die auf einer Höhe ab 1500 m in den italienischen Alpen zu finden ist. Bislang werden junge Sprosse und Blätter nur als lokale Delikatesse verwendet. Neuere Untersuchungen mit verschiedenen Extrakten des blühenden Krautes haben eine starke antiparasitäre Wirkung in *in-vitro* Modellsystemen gezeigt. Da heutzutage viele chemische Wirkstoffe zur Behandlung von parasitären Würmern (Helminthen), die das Verdauungssystem von Nutztieren befallen, in Europa aufgrund ihrer schlechten Umweltverträglichkeit und der Gefahr der Resistenzbildung verboten sind, ist der Bedarf an neuen, alternativen anthelminthischen Wirkstoffen in der landwirtschaftlichen Praxis stark angestiegen. Pflanzliche Inhaltsstoffe, die unter anderem in Extrakten von ethnoveterinär-gelisteten Pflanzen wie z.B. *C. alpina* vorkommen, bieten eine hervorragende Möglichkeit, nachhaltige und biologische Wirkstoffformulierungen gegen Helminthen zu entwickeln, und damit den Einsatz von chemischen Medikamenten zu reduzieren oder gänzlich darauf zu verzichten. In der vorliegenden Studie wurde eine Sammlung von *C. alpina*, die aus acht verschiedenen natürlichen, geografisch getrennten Populationen in den italienischen Alpen stammt, zum ersten Mal durch hochmoderne LC-MS/MS-Spektrometrie, einschließlich MRM-basierter Quantifizierung, auf ihre chemische Diversität aber auch hinsichtlich ihrer genetische Variabilität unter Verwendung von Mikrosatellitenmarkern (SSRs) untersucht. Die phytochemischen Daten wurden in zwei aufeinanderfolgenden Jahren erhoben und mit der ursprünglichen ökologischen Umgebung (Höhe) und den lokalen Klimabedingungen korreliert. Die Ergebnisse werden nun als Grundlage für die Initiierung einer In-Kulturnahme der Art verwendet, aber dienen auch als Basis für ein neues Zuchtprogramm, mit dem Ziel der Steigerung der Qualität und des Ertrages.

Stichwörter: *Cicerbita alpina*, Biodiversität, Phytochemie

Abstract

Cicerbita alpina (L.) Wallr. (syn. *Lactuca alpina* (L.) A.Gray, blue-sow-thistle), a member of the Asteraceae family, is an alpine, perennial plant found above 1500 a.s.l. in the Italian Alps. So far used only as local fancy food, recent studies demonstrated a strong antiparasitic activity in *in vitro* experiments. Nowadays, many chemical drugs that were used against helminths, parasite worms that infest the digestive system of livestock, are prohibited in Europe because they are harmful to the environment and might lead to the development of resistances. This reinforced the need for new,

alternative anthelmintic treatments in agricultural practice. Specialized metabolites found in extracts of ethnoveterinary-listed plants, such as *C. alpina*, could provide an excellent way to circumvent the use of chemical drugs by offering a sustainable, biological cure against the nematodes. In the present study, a unique germplasm collection of *C. alpina*, derived from eight different natural geographical distinct populations in the Italian Alps, were analyzed for the first time for its chemical diversity by state-of-the-art targeted LC-MS/MS spectrometry, including MRM based quantification, but also for its genetic variability using DNA molecular marker (SSRs). The obtained results were further correlated with the original ecological environment and local climate conditions over two subsequent years and will provide the basis for domestication of the species, through plant breeding programs, that would not only ensure product quality and yield.

Keywords: *Cicerbita alpina*, genetic variability, chemodiversity, alpine plant

Einleitung

Cicerbita alpina ist ein ausdauerndes, alpines Kraut aus der Familie der Asteraceae, das fruchtbare und feuchte Waldstandorte zwischen 800 und 2000 Meter Höhe bevorzugt (Oberdorfer et. al. 1983, Lid et al. 1987). Die Verbreitung in Europa ist sporadisch und umfasst vorwiegend isolierte Lebensräume in zentralen Gebirgszügen, wie dem Alpenbogen, dem nördlichen Teil des Balkans und den Karpaten (Stachurska-Swakoń et al., 2012). Aus Sicht der Evolution ist die Tatsache, dass sich die Art nach der letzten Eiszeit ihr natürliches Vorkommen über Zentraleuropa bis nach Skandinavien in niedrigere Höhenlagen (von 10-750 m ü. M.) ausgedehnt hat, von besonderem Interesse (Michl et. al., 2010). In den Alpenregionen des Trentino und Südtirols ist der Alpen-Milchlattich verbreitet zu finden. Die jungen Triebe werden im zeitigen Frühjahr für die Zubereitung verschiedener regionaler Delikatessen verwendet (z.B. Radicchio dell'Orso und Salsa dell'Orso; Scartezzini et al., 2011).

Im Rahmen des EUREGIO Projektes HERBAL wurden standardisierte Extrakte von zehn ethnoveterinär gelisteten Pflanzen, die in der Region wild oder kultiviert vorkommen, auf Ihre hemmende Wirkung bei der Embryogenese von Eiern von *Ascaridia galli*, einem Darmparasiten, der Geflügel befällt und für 60–84 % der jährlichen Produktionsverluste verantwortlich ist, in *in vitro* Tests untersucht. Ein Extrakt von *C. alpina* zeigte dabei die stärkste hemmende Wirkung und damit die niedrigste Rate der Embryonalentwicklung (Poulopoulou et.al, 2022).

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Acht alpine Populationen von *C. alpina* wurden im Trentino (Italien) gesammelt und in einem Versuchsfeld am Monte Bondone (1500 m Höhe, CREA, "Centro di Ricerca Foreste e Legno", Villazzano, Italien) gepflanzt und kultiviert. Ende März 2021 wurden einzelne Pflanzen aus jeder Akzession nach dem Zufallsprinzip für die Genotypisierung und phytochemischen Analysen ausgewählt. Für die Extraktion von DNA wurde frisches Blattmaterial der einzelnen Pflanzen in Stickstoff eingefroren. Material (Stängel, Blätter, Blüten) für die phytochemischen Analysen wurden jeweils im Juli 2021 und 2022 gesammelt und getrocknet.

DNA-Extraktion und SSR Markeroptimierung

Die genomische DNA wurde aus 30 mg lyophilisiertem Blattmaterial mit Hilfe des DNeasy 96 Plant Kit-Protokoll (Qiagen, Deutschland) extrahiert und die Konzentration mit dem Spektrophotometer NanoDrop ND-8000 (NanoDrop Technologies, Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA) gemessen.

Publizierte SSR-Marker für insgesamt 56 Loci von *Cichorium intybus* und *Tanacetum parthenium* wurden auf ihre Transferierbarkeit mit *C. alpina* DNA getestet (Patella et al., 2020). Die Loci, die klare polymorphe Banden nach PCR und Agarose-Gelelektrophorese zeigten, wurden in die genetischen Untersuchungen der *C. alpina* Populationen einbezogen. Die Datenanalyse wurde mit Hilfe der Programme GenAlex Version 6.1 (Peakall and Smouse et al., 2012) und STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard et al., 2000; Falush et al., 2003) durchgeführt.

Extraktion und phytochemische Analyse der Polyphenole, Sesquiterpene und Kaffeesäurederivate

100 mg getrocknetes Pflanzenmaterial wurden mit 4 ml 80%igem MeOH extrahiert. Polyphenole wurde mittels einer etablierter LC-MS/MS Methode analysiert (Vrhovsek et al., 2012). Zur qualitativen und quantitativen Untersuchung der Sesquiterpene und Kaffeesäurederivate wurde eine neue LC-MS/MS Methode mit MRM-Quantifizierung etabliert und validiert. Die Trennung erfolgte an einer UHPLC Dionex 3000 (Thermo Fisher Scientific, Deutschland) mit einer Acquity UPLC BEH C18 1,7 µm-Säule 2,1 × 150 mm, das direkt an ein API 5500-Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (Applied Biosystems/MDS Sciex, Toronto, Kanada) gekoppelt ist, durchgeführt. Die Datenerfassung wurde mittels Analyst™-Softwareversion 1.6.1 und die weitere Auswertung mittels MultiQuant, Statistica for Windows software and Jamovi durchgeführt.

Ergebnisse

Genetische Variabilität

Sieben SSRs von *C. intybus* und drei von *T. parthenium* konnten erfolgreich auf *C. alpina* übertragen werden und wurden für die genetische Charakterisierung der acht Populationen verwendet. Insgesamt wurden 53 verschiedene Allele für die acht Akzessionen nachgewiesen. Der beobachtete hohe Grad an Heterozygotie deutet auf einen hohen Grad an Fremdbestäubung hin, was in dieser Gattung zu erwarten ist. Die genetische Struktur der Art scheint eng mit der Hochlandtopographie verbunden zu sein und wird durch den Isolationsgrad beeinflusst, der die gebirgigen Ökosysteme charakterisiert (Michl et al., 2007). Die genetischen Analyse der acht Populationen deuten weiter auf eine mittlere bis hohe Biodiversität hin. Der untere Shannon-Index-Wert (I) lag bei 0,45 für die höchstgelegene Akzession vom Passo Manghen (2048 m ü. M.) und Valentino (1850 m ü. M.), gefolgt von Juribello (I: 0,54). Die genetische Vielfalt, die bei Einzelpflanzen innerhalb einer Akzession beobachtet wurde, kann darüberhinaus wertvolle Informationen nicht nur hinsichtlich der Populationsstruktur, sondern auch bei der Auswahl überlegener Genotypen liefern, die als Ausgangsmaterial in Zucht- und Selektionsprogrammen dienen können.

Phytochemische Analysen

Zum besseren Verständnis des anthelmintische Potenzials und der vorhandenen Chemodiversität innerhalb der Art *C. alpina* wurde der phytochemische Gehalt und das vorhandene Muster an charakteristischen sekundären Inhaltsstoffen untersucht. Zu diesem Zweck wurde zum einen eine gut etablierte Methode für Polyphenole zum anderen aber auch eine neue LC-MS/MS basierte Methode etabliert und validiert. Entsprechend den publizierten Inhaltsstoffen in *C. alpina*, aber auch nahe verwandter Arten, wurde dafür eine Datenbank für Sesquiterpen- und Kaffeesäurederivate erstellt. In *Cicerbita* sind hauptsächlich verschiedene Hydroxyzimtsäuren und bittere Sesquiterpenlactone beschrieben worden (Fusani and Zidorn, 2010). Darüberhinaus sind die in Asteraceae weitverbreiteten Flavone und Flavonole zu erwarten. In der vorliegenden Analyse waren die wichtigsten Substanzen, die

in *C. alpina* identifiziert wurden, wie folgend: 1,3-Dicaffeoylchinasäure, 4,5-Dicaffeoylchinasäure, 3,5-Dicaffeoylchinasäure, Shikimisäure, Weinsäure, Cichoriensäure, Caftarinsäure, Kaffeesäure, 8-O-Acetyl-15- β -D-glucopyranosyl Lactucin, und Spuren von Lactucin. Für diese Substanzen konnten sowohl signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Herkünften, teils auch innerhalb einer Population und in den zwei Erntejahren gezeigt werden.

Es gibt einige Studien, die die Annahme stützen, dass Sesquiterpenlactone mit anderen natürlichen Substanzen synergistisch für die anthelmintische Aktivität in ethnoveterinären Pflanzen verantwortlich sind. Dies konnte im Rahmen des noch laufenden Projektes noch nicht abschliessend geklärt werden.

Danksagung

Die vorliegende Studie ist Teil des Projekts „HERBAL“ und wurde von der GECT „Europaregion (Euregio) Tirolo—Trentino – Südtirol“ im Rahmen eines Interregionales Projektnetzwerk (IPN 119), Nr. 25/2018, 3. Aufruf, gefördert.

Literatur

- Falush D., Stephens M. & Pritchard J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164(4), 1567-87 (2003)
- Fusani P. & Zidorn A. Phenolics and a sesquiterpene lactone in the edible shoots of *Cicerbita alpina* (L.) Wallr. *J. Food Compos. Anal.* 23(6), 658–663 (2010)
- Lid J. Norsk, svensk, finsk flora [Norwegian, Swedish and Finnish flora]. – Det Norske Samlaget, Oslo (1987)
- Michl T., Huck S., Haase P. & Budel B. Genetic differentiation among populations of *Cicerbita alpina* (L.) Wallroth (Asteraceae) in the western Alps. *Zeitschrift für Naturforschung, sect. C-A* 62, 747–756 (2007)
- Michl T., Huck S., Schmitt T., Liebrich A., Haase P. & Budel B. The molecular population structure of the tall forb *Cicerbita alpina* (Asteraceae) supports the idea of cryptic glacial refugia in central Europe. *Bot. J. Linn. Soc.* 164, 142–154 (2010)
- Oberdorfer E. Pflanzensoziologische Exkursions Flora. – Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (1983)
- Patella A., Palumbo F., Ravi S., Stevanato P. & Barcaccia G. Genotyping by RAD sequencing analysis assessed the genetic distinctiveness of experimental lines and narrowed down the genomic region responsible for leaf shape in Endive (*Cichorium endivia* L.). *Genes* 11(4), 462 (2020)
- Peakall R. & Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. *Bioinformatics* 28(19), 2537-9 (2012)
- Poulopoulou, I., Horgan, M.J., Siewert, B. et al. *In vitro* evaluation of the effects of methanolic plant extracts on the embryonation rate of *Ascaridia galli* eggs. *Vet. Res. Commun.* 47, 409–419 (2022)
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2), 945-59 (2000)
- Scartezzini, F., Fusani, P., Aiello, N. et al. Domestication of Alpine blue-sow-thistle (*Cicerbita alpina* (L.) Wallr.): six year trial results. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 59, 465–471 (2012)
- Stachurska-Swakoń A., Cieślak E. & Ronikier M. Phylogeography of subalpine tall-herb species in Central Europe: the case of *Cicerbita alpina* (L.) Wallr. *Preslia* 84, 121–140 (2012)
- Vrhovsek U, Masuero D, Gasperotti M, et al., A versatile targeted metabolomics method for the rapid quantification of multiple classes of phenolics in fruits and beverages. *J. Agri. Food Chem.* 60(36), 8831-40 (2012)

Genetische und Genomische Ressourcen als Grundlage für die Züchtung von Echter Kamille

Genetic and genomic resources as basis for breeding German chamomile

Lars-Gernot Otto¹, Beate Kellert¹, Woohyeon Cho², Jonathan Brassac³, Maria Yuli Gonzalez¹, Lyudmyla Malysheva-Otto¹, Axel Himmelbach⁴, Martin Mascher²

¹Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), AG Quantitative Genetik, 06466 Seeland, OT Gatersleben

²Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), AG Domestikationsgenomik, 06466 Seeland, OT Gatersleben

³Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, 06484 Quedlinburg, Germany

⁴Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), AG Genomik Genetischer Ressourcen, 06466 Seeland, OT Gatersleben

ottol@ipk-gatersleben.de

DOI: 10.5073/20230821-141243-0

Zusammenfassung

Echte Kamille, *Matricaria recutita* L., ist eine der wichtigsten Arzneipflanzen und dient der Behandlung diverser Erkrankungen wie Infektionen und Entzündungen der Haut, gastrointestinale Beschwerden und Atemwegsprobleme. Neben ihrer wirtschaftlichen Bedeutung trägt der Anbau der Kamille zur Agrobiodiversität und als Blühkultur zur Insektenfreundlichkeit bei. Für den Landwirt muss der Anbau wirtschaftlich verlässlich gewinnbringend sein. Züchtungsarbeiten zur Erzeugung verbesserter Sorten finden nur sehr selten statt, so dass die aktuellen Sorten und Elitelinien neuen Herausforderungen z.B. durch den Klimawandel häufig nicht optimal begegnen. Pflanzengenetische Ressourcen bieten mit ihrer genetischen Diversität die Möglichkeit, neue oder verbesserte Merkmale in die aktuellen Sorten zu integrieren. Beispiele dafür sind optimierter Inhaltsstoffgehalt, abiotische Stresstoleranz oder Krankheitsresistenzen.

Drei verschiedene di- und tetraploide Linien Echter Kamille mit rezessiv vererbbarer männlicher Sterilität (MS) wurden in Sorten und Handelssaatgut identifiziert und können zur gezielten Kreuzung und Bestäubungslenkung in der Züchtung genutzt werden. Die genetischen Grundlagen für die MS wurden mittels Transkriptomanalyse und GWAS unter Nutzung von SNP-Markern aus Genotyping-by-Sequencing (GBS) analysiert. Es wurden mit MS assoziierte Genomsequenzen erhalten, die aber maximal bei 92 % der untersuchten MS-Pflanzen und ebenfalls bei 5 % der MF-Pflanzen detektiert wurden, und daher nicht hinreichend für marker-gestützte Selektion nutzbar sind. Aktuell finden Arbeiten zur Erzeugung eines ersten Genomassemblies der diploiden Kamillensorte Bona statt, um mit diesem als Grundlage Marker mit einer noch deutlich stärkeren Assoziierung mit dem Merkmal MS zu identifizieren, beispielhaft zur Markerentwicklung auch für andere wichtige Merkmale. Diese „Züchter-Marker“ mit hochgradiger Assoziierung können dann für marker-gestützte Selektion eingesetzt werden, um schnell und effizient zu selektieren bzw. fehlende Eigenschaften in die ansonsten leistungsfähigen aktuellen Sorten einzukreuzen.

Stichwörter: männliche Sterilität, genetische Diversität, GBS, Transkriptomanalyse, GWAS, Genomassemblierung, Kamille, Kamillengenom, *Matricaria recutita*

Abstract

German chamomile, *Matricaria recutita* L., is one of the most important medicinal plants and is used to treat various diseases such as infections and inflammations of the skin, as well as gastrointestinal and respiratory problems. In addition to its economic importance, the cultivation of chamomile contributes to agrobiodiversity and promotes, as a flowering crop, pollinators. For the farmer, cultivation must be economically profitable and sustainable. Breeding of new chamomile varieties is hardly done, partially because of the lack of efficient breeding resources and tools. Thus, current varieties and elite lines often do not optimally address new challenges, like the global climate change or new pathogens. With their genetic diversity, plant genetic resources offer the possibility to introduce new or improved traits into current varieties, e.g. higher content of quality related compounds, abiotic stress tolerance or disease resistance.

Three different di- and tetraploid lines of chamomile with heritable, recessive male sterility (MS) and originating from varieties and traded seeds have been identified, which are useful in breeding to direct crossing and control pollination. The genetic basis for the MS was investigated by transcriptome analysis and by GWAS using SNP markers from genotyping-by-sequencing (GBS). Genome sequences associated with MS were identified, but were not sufficiently linked to the trait to use these for marker assisted selection, i.e. in a maximum of 92 % of the MS plants but also in 5 % of the MF plants these were detected. Currently, a draft genome assembly for the diploid chamomile variety Bona is compiled with the aim to serve as a first reference genome. Using this genome assembly, markers with a stronger association for MS should be identified, also serving as example for other important traits. These "breeders' markers" with a high degree of marker-trait association could then be used for cost and time efficient marker-assisted selection in order to select quickly and efficiently for desired traits, or control of introgression of novel traits into otherwise high-performing varieties.

Keywords: male sterility, genetic diversity, GBS, transcriptome analysis, GWAS, draft genome assembly, *Matricaria recutita*, chamomile

Etablierung von Zell- und Gewebekulturen für Medizinalpflanzen am Beispiel von *Arnica montana* im Rahmen des Projekts „Circular PhytoREVIER“ – Integrierte Wertschöpfung mit Anbau und Verwertung von Medizinalpflanzen im Rheinischen Revier

Lena Grundmann¹, Mark Müller-Linow², Arnd Kuhn², Fang He², Dennis Schlehuber³, Volkmar Keuter³, Gundula A. Noll^{1,4}, Dirk Prüfer^{1,4}

¹ Fraunhofer IME, Funktionelle und Angewandte Genomik, Münster

² Forschungszentrum Jülich GmbH, Pflanzenwissenschaften (IBG-2), Jülich

³ Fraunhofer UMSICHT, Umwelt und Ressourcennutzung, Oberhausen

⁴ Universität Münster, Institut für Biologie und Biotechnologie der Pflanzen (IBBP), Münster

lena.grundmann@ime.fraunhofer.de

DOI: 10.5073/20230821-142037-0

Zusammenfassung

Die Entwicklung nachhaltiger Anbaumethoden für Medizinalpflanzen zur Deckung des steigenden Bedarfs an qualitativ hochwertiger Rohware ist für die pharmazeutische Industrie von großer Bedeutung. Gleichzeitig gilt es Umweltauswirkungen zu minimieren und die Biodiversität zu schützen. Im Rahmen der Initiative BioökonomieREVIER zur Bewältigung des Strukturwandels aufgrund des Braunkohleausstiegs soll das Rheinische Revier zu einer Modellregion für nachhaltige Bioökonomie entwickelt werden. Diesbezüglich werden Projekte gefördert, in denen durch eine enge Zusammenarbeit zwischen Wissenschaft und Wirtschaft innovative Lösungen in Form von Innovationslaboren etabliert und umgesetzt werden. Ein Beispiel ist das Projekt „Circular PhytoREVIER“, das die nachhaltige Wertschöpfung mit Medizinalpflanzen im Rheinischen Revier fokussiert. Dafür haben die drei beteiligten Wissenschaftspartner Fraunhofer IME, Fraunhofer UMSICHT und Forschungszentrum Jülich, IBG-2, ihr jeweiliges Fachwissen, ihre Ressourcen, Infrastrukturen sowie Vorarbeiten gezielt zusammengeführt, um im Rahmen des Projekts ertrags- und standortoptimierte Medizinalpflanzen zu etablieren und diese sowohl im Freiland als auch in geschlossenen Indoor-Systemen anzubauen. Darüberhinaus werden innovative Verfahren zur gezielten Steuerung und Erhöhung des Wirkstoffgehalts durch biologische, chemische und physikalische Stressgabe sowie zur nicht-invasiven Erfassung von Wachstums- und Ernteparametern entwickelt. Die Arbeiten des Fraunhofer IME umfassen dabei die Entwicklung molekularer Marker zur Züchtungsunterstützung und die Generierung von Zell- und Gewebekulturen ausgewählter Medizinalpflanzen. Eine unserer Modellpflanzen ist *Arnica montana*, die unter anderem Sesquiterpenlactone (SL) als wertgebende Inhaltsstoffe produziert. Unsere Arbeiten konzentrierten sich zunächst auf die Identifizierung der bisher unbekannt SL-Biosynthesegene und zukünftig auf deren Charakterisierung. Dafür fokussieren wir uns zurzeit auf die Etablierung der *in vitro*-Vermehrung von Arnika-Pflanzen sowie die pflanzliche Regeneration aus Einzelzellen und schließlich auf die genetische Modifikation von *Arnica montana*, um zukünftig Biosynthesegene des SL-Stoffwechsels charakterisieren und den SL-Gehalt in der Pflanze oder auch Zellkultur optimieren zu können.

Stichwörter: Medizinalpflanzen, Bioökonomie, Genomeditierung, nicht-invasive Sensorik, Pflanzenphänotypisierung, Zell- und Gewebekulturen, Pflanzentransformation

Abstract

Developing sustainable cultivation methods for medicinal plants to meet the growing demand for high-quality raw materials is of great importance to the pharmaceutical industry. At the same time, it is important to minimize environmental impact and protect biodiversity. As part of the BioeconomyREVIER initiative to manage the structural change resulting from the phase-out of lignite, the Rhenish mining area is to be developed into a model region for a sustainable bioeconomy. To this end, projects are being supported in which innovative solutions are developed and implemented in the form of innovation labs through close cooperation between science and industry. One example is the "Circular PhytoREVIER" project, which focuses on sustainable value creation with medicinal plants in the Rhenish mining area. The three scientific partners involved, Fraunhofer IME, Fraunhofer UMSICHT and Forschungszentrum Jülich, IBG-2, have combined their respective expertise, resources, infrastructures and preliminary work to establish yield- and location-optimized medicinal plants and to cultivate them both in the field and in closed indoor systems. We develop innovative methods for the targeted control and increase of the active ingredient content through the application of biological, chemical and physical stresses as well as for the non-invasive determination of growth and harvest parameters. The work of the Fraunhofer IME in this context includes the development of molecular markers for breeding and the generation of cell and tissue cultures of selected medicinal plants. One of our model plants is *Arnica montana*, which produces sesquiterpene lactones (SL) as valuable compounds. Our work has initially focused on the identification of the previously unknown SL biosynthetic genes and, in the future, on their characterization. For this purpose, we are currently focusing on the establishment of *in vitro* propagation of arnica plants, as well as plant regeneration from single cells, and finally on the genetic modification of *Arnica montana* in order to be able to characterize the biosynthetic genes of the SL metabolism in the future and to optimize the SL content in the plant or in cell culture.

Keywords: medicinal plants, bioeconomy, genome editing, non-invasive sensors, plant phenotyping, cell and tissue culture, plant transformation.

Einleitung

Medizinalpflanzen – eine natürliche und gefährdete Apotheke

Medizinalpflanzen bilden eine bedeutende Ressource für die Herstellung von Phytopharmaka. Sie enthalten zahlreiche bioaktive Substanzen, die medizinische Wirkungen haben können, und stellen somit eine natürliche Alternative zu synthetischen Arzneimitteln dar. Doch nicht nur in der Pharmaindustrie sind Medizinalpflanzen von großer Bedeutung, sie weisen auch in der Agrar-, Kosmetik und Lebensmittelindustrie ein hohes Wertschöpfungspotenzial auf. Aktuell werden in Deutschland jedoch viele der benötigten Medizinalpflanzen importiert. Darüber hinaus entstammt ein Großteil der Rohware für Phytopharmaka aus Wildsammlungen, was weder nachhaltig noch ökologisch empfehlenswert ist (Übersammlung, Gefährdung der Biodiversität), und oftmals zu inakzeptablen Qualitätseinbußen bei den Wirkstoffen führt. Es bedarf daher einer zukunftsfähigen und nachhaltigen Produktion von hochqualitativen Medizinalpflanzen, die die Anforderungen der Industrie erfüllen und gleichzeitig ökologischen Ansprüchen gerecht werden. Dies umfasst den Aufbau und die Verstetigung einer hocheffizienten und wirtschaftlich-tragfähigen Prozesskette, die von der Züchtung ertragsoptimierter Pflanzen über die Entwicklung neuer und schlagkräftiger Anbau- und Erntetechnologien bis hin zur effizienten Extraktion und Bereitstellung der Wirkstoffe aus der Rohware

reicht. Diese Schritte verfolgen wir in unserem Projekt „Circular PhytoREVIER“, das vom Bundesforschungsministerium gefördert und aus Strukturfördermitteln finanziert wird.

Zell- und Gewebekulturen als Produktionsplattform für wertgebende Inhaltsstoffe

Der Anbau und die züchterische Bearbeitung von Medizinalpflanzen sind für eine nachhaltige und ökologisch vertretbare Versorgung der verarbeitenden Industrie mit hochwertigen Rohstoffen unerlässlich. Traditionelle Züchtungsmethoden zur Ertrags- und Qualitätssteigerung von Nutzpflanzen werden in der Landwirtschaft seit langem angewandt. Diese Verfahren lassen sich auch auf Medizinalpflanzen übertragen, indem Pflanzen mit vorteilhaften Merkmalen wie beispielsweise hohem Wirkstoffgehalt oder einheitlichem Blühzeitpunkt selektiert werden. Dieser langwierige Prozess kann durch den Einsatz von genetischen Markern, die vorteilhafte Merkmale bereits in frühen Entwicklungsstadien identifizieren können, erheblich verkürzt werden. Dies erfordert jedoch die Entwicklung genetischer Karten zur Identifizierung funktioneller Biosynthesegene und Markersequenzen, die bisher nur für wenige Medizinalpflanzen verfügbar sind. Zur Charakterisierung der identifizierten Gene können neben heterologen Expressionssystemen wie z. B. Hefen (Bröker et al., 2020) auch Zell- oder Gewebekulturen eingesetzt werden, die zusätzlich als Wirkstoffproduktionsplattform dienen können. Neben Calluskulturen, die z.B. aus Blattmaterial durch den Einsatz verschiedener Phytohormonkonzentrationen etabliert werden können, werden häufig auch sogenannte *hairy root* Kulturen eingesetzt. Diese werden durch Behandlung des Pflanzenmaterials mit dem Bodenbakterium *Rhizobium rhizogenes* induziert. Das Bakterium ist natürlicherweise mit einem Plasmid (Ri) ausgestattet, das es ihm unter anderem ermöglicht, das Wurzelwachstum zu stimulieren. Dieses Ri-Plasmid enthält eine Region, die als Transfer-DNA (T-DNA) bezeichnet wird, und mehrere Gene, die für das Einbringen der T-DNA in das pflanzliche Wirtsgenom verantwortlich sind, so dass die infizierte Pflanzenzelle Opine als Nährstoffquelle für das Bakterium produziert (Gelvin, 2003; Shanks & Morgan, 1999). Bei *R. rhizogenes* beinhaltet die T-DNA-Region zusätzlich Gene (*rolA*, *rolB*, *rolC* und *rolD*), die die Bildung von *hairy roots* induzieren (Bulgakov, 2008; Cardarelli et al., 1987). Die resultierenden Wurzeln werden vom Blattgewebe abgetrennt und sind in großen Fermentern einfach zu kultivieren, da sie keine Phytohormone benötigen, sich unbegrenzt vermehren können und sich im Allgemeinen durch schnelles Wachstum sowie genetische und biochemische Stabilität auszeichnen (Gutierrez-Valdes et al, 2020). Außerdem können zusätzliche Sequenzen, z. B. von Wirkstoff-Biosynthesegenen, in die T-DNA-Region eingefügt werden, um diese Gene zu charakterisieren (Gelvin, 2003; Shanks & Morgan, 1999). Auf diese Weise oder auch durch das natürliche Vorhandensein der Wirkstoffbiosynthesewege in Zell- oder Gewebekulturen können diese als Produktionsplattformen für pflanzliche Wirkstoffe genutzt werden, wie das Beispiel zur Produktion des Krebsmedikaments Taxol eindrucksvoll zeigt (Manz et al, 2022).

Am Beispiel von *Arnica montana* führen wir im Rahmen von „Circular PhytoREVIER“ die Etablierung verschiedener Zell- und Gewebekulturen durch. Diese Arbeiten stellen eine der Kernkompetenzen des Fraunhofer IME im Bereich der Pflanzenbiotechnologie dar, die für die Entwicklung und Anwendung moderner Pflanzenzüchtungs- und Genomeditierungstechnologien (z.B. CRISPR/Cas) von großer Bedeutung sind. Dazu gehören neben der Zell- und Gewebekultur auch Arbeiten zur Entwicklung und Anwendung von Protokollen für das Genom-Editing verschiedener Pflanzenarten, einschließlich der Anzucht der jeweiligen Art in Sterilkultur, der Vermehrung und Regeneration der Pflanzen sowie der phänotypischen und inhaltsstofflichen Analyse der erzeugten Pflanzen. Die CRISPR/Cas-Technologie ermöglicht eine hochpräzise, schnelle und damit kostengünstige Bearbeitung des Pflanzengenoms, was die Entwicklung neuer Sorten enorm beschleunigen kann. In den USA werden beispielsweise erste

editierte Raps- und Sojasorten angebaut. Eine frühzeitige Anwendung und Optimierung des Genome Editing für Forschungszwecke, insbesondere auch im Bereich der Medizinalpflanzen, gewährt uns einen erheblichen Zeitvorteil, sofern die EU diese Technologie für züchterische Zwecke freigibt. Das Fraunhofer IME führt bereits in enger Kooperation mit verschiedenen Pflanzenzüchtungsunternehmen wie der ESKUSA GmbH (Sonderkulturen) umfangreiche Arbeiten zur Erzeugung neuer und ertragreicher Nutzpflanzen durch klassische und moderne Züchtungsmethoden durch. Ein besonderer Schwerpunkt liegt dabei auf der Entwicklung und Anwendung von züchtungsbegleitenden und -beschleunigenden Methoden wie z.B. der molekularen Markerentwicklung und der Inhaltsstoffanalytik (GC-MS, NMR). Nennenswerte Resultate dieser langjährigen Zusammenarbeit sind die Entwicklung einer amylopektinreichen Kartoffel (Muth et al., 2008) und des Russischen Löwenzahns als alternative Kautschukpflanze (Epping et al., 2015; Stolze et al., 2017).

Im Rahmen von „Circular PhytoREVIER“ etablieren wir Callus- und *hairy root* Kulturen von Arnika (sowie weiteren Medizinalpflanzen) und untersuchen ihre Eignung als alternative Produktionsplattformen für die jeweiligen Wirkstoffe. Darüber hinaus können die etablierten Kulturen zukünftig auch zur Charakterisierung der von uns identifizierten Wirkstoff-Biosynthesegene genutzt werden.

Material und Methoden

Callusinduktion sowie hairy root-Transformation

Saatgut* von *A. montana* wurde unter Verwendung von Natriumhypochlorid sterilisiert und zur Keimung auf steriles MS-Medium ausgelegt (Weremczuk et al., 2006). Keimlinge wurden anschließend unter sterilen Bedingungen weiterkultiviert und sich entwickelnde Pflanzen wurden für die Etablierung der Callus- und Gewebekultur verwendet. Basierend auf dem Protokoll von Petrova et al. (2013) wurde die Bildung von Callusgewebe aus sterilem *A. montana*-Blattmaterial unter Verwendung verschiedener Medien (MS, B5, ...) mit unterschiedlichen Phytohormonverhältnissen (Auxine: NAA, Picloram; Cytokinine: BAP, Kinetin; Verhältnis Auxin/Cytokinin: 2:1; 1:5; 1:10; Duchefa www.duchefa-biochemie.com) optimiert. Basierend auf dem Protokoll von Nieto-Trujillo et al. (2021) wurde die Induktion von *hairy roots* nach Behandlung von *A. montana*-Blattmaterial mit *R. rhizogenes* optimiert und transgene *hairy root*-Kulturen wurden unter Verwendung des RUBY-Reporterkonstrukt erzeugt, mit dem transformierte Zellen und Gewebe in der Lage sind, den roten Farbstoff Betalain zu produzieren und somit eindeutig identifiziert werden können (He et al., 2020). Dazu wurde das Reportkonstrukt mittels Elektroporation in den *R. rhizogenes*-Stamm ATCC15834 eingebracht und Blattstücke von *A. montana* mit diesen Bakterien für 2 Tage co-kultiviert. Anschließend wurden die Blattsegmente zur Beseitigung der Bakterien gewaschen und auf sterilem Medium (½ B5 + 5 % Saccharose) bis zur Entwicklung von *hairy roots* weiterkultiviert.

* freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. Fred Eickmeyer, Eskusa GmbH.

Ergebnisse

Es gibt erste Studien, in denen Möglichkeiten für eine nachhaltigere Produktion von *Arnica montana*-Pflanzen und ihrer Metabolite untersucht wurden. Hierzu zählen die *in vitro* Kultivierung, die Induktion von *hairy roots* durch *R. rhizogenes*, die Induktion von Callusgewebe mittels verschiedener Phytohormone und auch die Kultivierung im Freiland (Surmacz-Magdziak & Sugier, 2012; Leoni et al, 2021; Petrova et al., 2013; Nieto-Trujillo et al., 2021).

Callusinduktion

Basierend auf dem Protokoll von Nieto-Trujillo et al. (2021) wurden erste Versuche zur Induktion von Callusgewebe aus *A. montana*-Blattmaterial auf Medien mit unterschiedlichen Phytohormonkonzentrationen durchgeführt (Tabelle 1). Die Callusbildung an Blattsegmenten wurde mit zwei verschiedenen Auxinen in Kombination mit zwei verschiedenen Cytokinin induziert, wobei die Verwendung von Auxin 2 im Vergleich zu Auxin 1 zu einer deutlich höheren Callusbildung führte (Tabelle 1). Zur weiteren Vermehrung der induzierten Calli wurden diese auf Medien mit verändertem Phytohormonverhältnis (Aux1<Cyt1 bzw. Aux2<Cyt1; Verhältnis Aux/Cyt: 1:5 bzw. 1:10) überführt, wobei in diesem Fall Auxin1 zu einem verbesserten Wachstum der Calli führte (Abbildung 1). Diese ersten Versuche bilden die Grundlage für die Etablierung einer Betalain-produzierenden Arnika-Callus-suspensionkultur als *proof-of-concept*-Studie, in der wir verschiedene Medienzusammensetzungen für die Optimierung einer Callussuspensionskultur testen werden. Darauf aufbauend werden Untersuchungen zur Erhöhung der jeweiligen Wirkstoffkonzentration in der Calluskultur durch verschiedene (a)biotische Stressoren (z.B. Hormone oder Temperatur) oder mittels gezielter Supplementation von (Mikro-/Makro-)Nährstoffen durchgeführt.

Tab. 1. Wirkung verschiedener Auxin- und Cytokininkonzentrationen auf die Kallusbildung und den Zustand von *Arnica montana* Blattexplantaten (n=29-34) vier Wochen nach der Überführung auf das jeweilige Callusinduktionsmedium

Tab. 1. *Effect of different auxin and cytokinin concentrations on callus formation and status of Arnica montana leaf explants (n=29-34) four weeks after transfer to the respective callus induction medium*

Callusinduk-tionsmedium	Abgestorbene Blätter	keine Callus-induktion	Callus-induktion
Aux1	49 %	51 %	0 %
Aux1>Cyt1	50 %	28 %	22 %
Aux1>Cyt2	65 %	35 %	0 %
Aux2	0 %	3 %	97 %
Aux2>Cyt1	0 %	14 %	86 %
Aux2>Cyt2	0 %	9 %	91 %

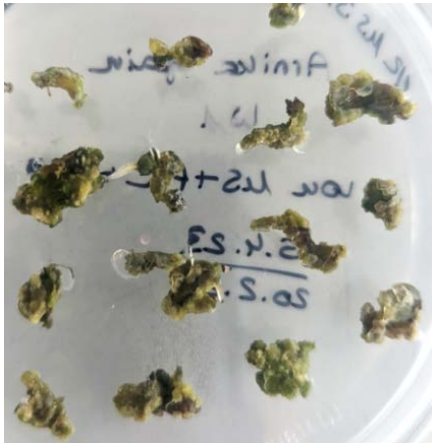


Abb. 1. Induktion und Vermehrung von Callusgewebe aus *A. montana* Blattmaterial mittels verschiedener Phytohormonkonzentrationen zur Etablierung einer Callussuspensionskultur

Fig. 1. Induction and proliferation of callus tissue from *A. montana* leaf material using different phytohormone concentrations to establish a callus suspension culture. Hairy root-Transformation

Basierend auf dem Protokoll von Petrova et al. (2013) wurde die Induktion von *hairy roots* aus Blattmaterial von *A. montana* mittels *R. rhizogenes* (ATCC15834) optimiert. Als *proof-of-concept* für die Übertragung von transgenen Sequenzen mittels *R. rhizogenes* wurde das RUBY-Reporterkonstrukt verwendet und die Rhizogenes-vermittelte Transformation von *A. montana*-Blattmaterial durchgeführt. Nach 2–6 Wochen konnte die Regeneration von ca. 15 roten Wurzeln an den einzelnen Blattsegmenten beobachtet werden (unabhängige Transformanten). Die Rotfärbung ist auf das RUBY-Reporterkonstrukt zurückzuführen, mit dem die transformierten Zellen und Gewebe in der Lage sind, den roten Farbstoff Betalain zu produzieren. Die transgenen Betalain-produzierenden *hairy roots* wurden von den Blattstücken abgetrennt und zur weiteren Kultivierung auf selektives Medium überführt (Abbildung 2A). Nach 4–6 Wochen wurden diese *hairy roots* in Erlenmeyerkolben mit flüssigem Medium zur Etablierung einer Flüssigkultur überführt und das Wachstum regelmäßig dokumentiert (Abbildung 2B). Aufbauend auf diesen Ergebnissen werden wir zukünftig die von uns identifizierten Kandidatengene der SL-Biosynthese einzeln und in Kombination in *Arnica-hairy roots* exprimieren, um auf diese Weise SLs als wertgebende Inhaltsstoffe anzureichern und zu extrahieren.

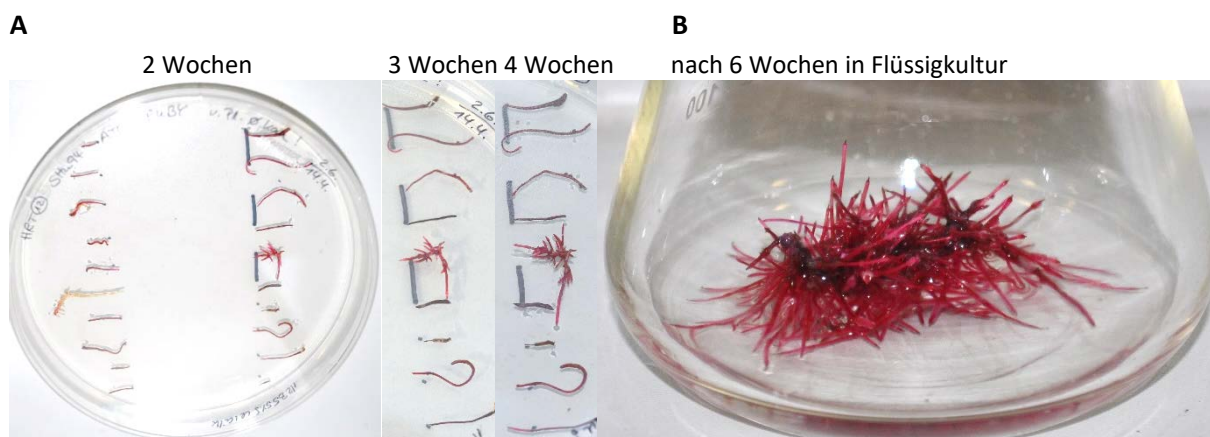


Abb. 2. Wachstum Betalain-produzierender *A. montana hairy roots* nach erfolgreicher Transformation von Blattmaterial mit *R. rhizogenes* (A) sowie die Etablierung einer *hairy root*-Flüssigkultur (B)

Fig. 2. Induction of betalain-producing *A. montana hairy roots* (A) and establishment of a *hairy root* culture (B)

Strukturwandel im Rheinischen Revier – biogene Wertschöpfung mit Medizinalpflanzen

Die hier vorgestellten Arbeiten im Rahmen von „Circular PhytoREVIER“ sind Teil der vom Bundesforschungsministerium geförderten Initiative BioökonomieREVIER (www.BiooekonomieREVIER.de). Im Rahmen des Strukturwandels soll das Rheinische Revier, eines der größten Braunkohlereviere Europas, zu einer Modellregion für ressourceneffizientes und nachhaltiges Wirtschaften entwickelt werden. Für die Verwirklichung ist es von zentraler Bedeutung, bestehende Kooperationen zwischen Wissenschaft und Wirtschaft weiter auszubauen. Durch eine enge Zusammenarbeit können Ideen und Ansätze schneller in die Wirtschaft transferiert und somit Arbeitsplätze geschaffen sowie echte Wertschöpfung für die Menschen vor Ort durch den Strukturwandel generiert werden. Ein wichtiger Schritt in diese Richtung sind die 14 sogenannten "Innovationslabore", die als Keimzellen für die schnelle Umsetzung von Forschungsideen in die wirtschaftliche Anwendung dienen. Eines dieser vom BMBF-geförderten Innovationslabore ist „Circular PhytoREVIER“. Unter der Leitung des Fraunhofer-Instituts IME zusammen mit dem Fraunhofer UMSICHT sowie dem Institut für Pflanzenwissenschaften (IBG-2, Forschungszentrum Jülich) wird eine Plattform für biointelligente und zirkuläre Wertschöpfung mit hochwertigen Nutzpflanzen geschaffen. Im Rahmen des Projekts werden ertrags- und standortoptimierte Medizinalpflanzen entwickelt und sowohl im Freiland als auch in geschlossenen Indoor-Systemen angebaut. Es werden innovative Verfahren zur gezielten Steuerung und Erhöhung des Wirkstoffgehalts durch biologische, chemische und physikalische Stressgabe sowie zur nicht-invasiven Erfassung von Wachstums- und Ernteparametern entwickelt (Nagel et al., 2012; Cendrero-Mateo et al., 2017; Thoma et al., 2020; He et al., 2021; He et al., 2022). Darüber hinaus wird an umweltfreundlichen und wirtschaftlichen Extraktions- und Weiterverarbeitungsverfahren gearbeitet. Durch den Transfer des generierten Wissens in die Agrarwirtschaft, Industrie, Politik und Gesellschaft wird eine breite Anwendung und Verwertung des Projekts angestrebt. „Circular PhytoREVIER“ liefert somit Lösungen und Beiträge zu folgenden Aspekten:

- Artenschutz durch Verzicht auf Wildsammlungen
- Erhöhung der Biodiversität in der Agrarwirtschaft
- Diversifizierung des Anbaus (inkl. neuer Wertschöpfungsketten)
- zuverlässige und hochwertige Quantität & Qualität der Rohware
- nachverfolgbare Produktionsketten sowie nachhaltige und regionale Produktion
- Unabhängigkeit von äußeren Einflüssen bei Kultivierung in Indoor-Systemen

Literatur

- Bröker, J.N., B. Müller, D. Prüfer, C. Schulze Gronover, 2020: Combinatorial Metabolic Engineering in *Saccharomyces cerevisiae* for the Enhanced Production of the FPP-Derived Sesquiterpene Germacrene. *Bioengineering* (Basel, Switzerland) 7 (4), DOI: 10.3390/bioengineering7040135.
- Bulgakov, V.P., 2008: Functions of rol genes in plant secondary metabolism. *Biotechnology advances* 26 (4), 318–324, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.03.001.
- Cardarelli, M., D. Mariotti, M. Pomponi, L. Spanò, I. Capone, P. Costantino, 1987: *Agrobacterium* rhizogenes T-DNA genes capable of inducing hairy root phenotype. *Molecular & general genetics: MGG* 209 (3), 475–480, DOI: 10.1007/BF00331152.
- Cendrero-Mateo, M.P., O. Muller, H. Albrecht, A. Burkart, S. Gatzke, B. Janssen, B. Keller, N. Körber, T. Kraska, S. Matsubara, J. Li, M. Müller-Linow, R. Pieruschka, F. Pinto, P. Rischbeck, A. Schickling, A. Steier, M. Watt, U. Schurr, U. Rascher, 2017: Field Phenotyping : Concepts and Examples to Quantify Dynamic Plant Traits across Scales in the Field. *Terrestrial Ecosystem Research Infrastructures*, CRC Press, S. 53–81, DOI: 10.1201/9781315368252-4.

- Epping, J., N. van Deenen, E. Niephaus, A. Stolze, J. Fricke, C. Huber, W. Eisenreich, R.M. Twyman, D. Prüfer, C. Schulze Gronover, 2015: A rubber transferase activator is necessary for natural rubber biosynthesis in dandelion. *Nature Plants* 1 (5), DOI: 10.1038/nplants.2015.48.
- Gelvin, S.B., 2003: Agrobacterium-mediated plant transformation: the biology behind the "gene-jockeying" tool. *Microbiology and molecular biology reviews* : MMBR 67 (1), 16-37, table of contents, DOI: 10.1128/MMBR.67.1.16-37.2003.
- Gutierrez-Valdes, N., S.T. Häkkinen, C. Lemasson, M. Guillet, K.-M. Oksman-Caldentey, A. Ritala, F. Cardon, 2020: Hairy Root Cultures-A Versatile Tool With Multiple Applications. *Frontiers in plant science* 11, 33, DOI: 10.3389/fpls.2020.00033.
- He, F., B. Thiele, T. Kraska, U. Schurr, A.J. Kuhn, 2022: Effects of Root Temperature and Cluster Position on Fruit Quality of Two Cocktail Tomato Cultivars. *Agronomy* 12 (6), 1275, DOI: 10.3390/agronomy12061275.
- He, F., B. Thiele, D. Kraus, S. Bouteyne, M. Watt, T. Kraska, U. Schurr, A.J. Kuhn, 2021: Effects of Short-Term Root Cooling before Harvest on Yield and Food Quality of Chinese Broccoli (*Brassica oleracea* var. *Alboglabra* Bailey). *Agronomy* 11 (3), 577, DOI: 10.3390/agronomy11030577.
- He, Y., T. Zhang, H. Sun, H. Zhan, Y. Zhao, 2020: A reporter for noninvasively monitoring gene expression and plant transformation. *Horticulture research* 7 (1), 152, DOI: 10.1038/s41438-020-00390-1.
- Leoni, V., G. Borgonovo, L. Giupponi, A. Bassoli, D. Pedrali, M. Zuccolo, A. Rodari, A. Giorgi, 2021: Comparing Wild and Cultivated *Arnica montana* L. from the Italian Alps to Explore the Possibility of Sustainable Production Using Local Seeds. *Sustainability* 13 (6), 3382, DOI: 10.3390/su13063382.
- Manz, C., M.L. Raorane, J. Maisch, P. Nick, 2022: Switching cell fate by the actin-auxin oscillator in *Taxus*: cellular aspects of plant cell fermentation. *Plant cell reports* 41 (12), 2363–2378, DOI: 10.1007/s00299-022-02928-0.
- Muth, J., S. Hartje, R.M. Twyman, H.-R. Hofferbert, E. Tacke, D. Prüfer, 2008: Precision breeding for novel starch variants in potato. *Plant Biotechnology Journal* 6 (6), 576–584, DOI: 10.1111/j.1467-7652.2008.00340.x.
- Nagel, K.A., A. Putz, F. Gilmer, K. Heinz, A. Fischbach, J. Pfeifer, M. Faget, S. Blossfeld, M. Ernst, C. Dimaki, B. Kastenholz, A.-K. Kleinert, A. Galinski, H. Scharr, F. Fiorani, U. Schurr, 2012: GROWSCREEN-Rhizo is a novel phenotyping robot enabling simultaneous measurements of root and shoot growth for plants grown in soil-filled rhizotrons. *Functional plant biology* : FPB 39 (11), 891–904, DOI: 10.1071/FP12023.
- Nieto-Trujillo, A., F. Cruz-Sosa, R. Luria-Pérez, G.A. Gutiérrez-Rebolledo, A. Román-Guerrero, C. Burrola-Aguilar, C. Zepeda-Gómez, M.E. Estrada-Zúñiga, 2021: *Arnica montana* Cell Culture Establishment, and Assessment of Its Cytotoxic, Antibacterial, α -Amylase Inhibitor, and Antioxidant In Vitro Bioactivities. *Plants (Basel, Switzerland)* 10 (11), DOI: 10.3390/plants10112300.
- Petrova, M., E. Zayova, M. Vlahova, 2013: Induction of hairy roots in *Arnica montana* L. by *Agrobacterium rhizogenes*. *Open Life Sciences* 8 (5), 470–479, DOI: 10.2478/s11535-013-0157-6.
- Shanks, J.V., J. Morgan, 1999: Plant 'hairy root' culture. *Current opinion in biotechnology* 10 (2), 151–155, DOI: 10.1016/S0958-1669(99)80026-3.
- Stolze, A., A. Wanke, N. van Deenen, R. Geyer, D. Prüfer, C. Schulze Gronover, 2017: Development of rubber-enriched dandelion varieties by metabolic engineering of the inulin pathway. *Plant Biotechnology Journal* 15 (6), 740–753, DOI: 10.1111/pbi.12672.

- Surmacz-Magdziak, A., D. Sugier, 2012: In vitro propagation of *Arnica montana* L.: An endangered herbal species of great importance to medicine. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 11 (2), 127–140.
- Thoma, F., A. Somborn-Schulz, D. Schlehuber, V. Keuter, G. Deerberg, 2020: Effects of Light on Secondary Metabolites in Selected Leafy Greens: A Review. *Frontiers in plant science* 11, 497, DOI: 10.3389/fpls.2020.00497.
- Weremczuk-Jezyna, I., W. Kisiel, H. Wysokińska, 2006: Thymol derivatives from hairy roots of *Arnica montana*. *Plant cell reports* 25 (9), 993–996, DOI: 10.1007/s00299-006-0157-y.

Sektion 4: Pflanzenschutz

Einfluss einer Mykorrhizierung auf den ätherischen Ölgehalt und die physiologische Reaktion von *Mentha*-Genotypen unter verschiedenen UV-Behandlungen

*Influence of mycorrhization on essential oil content and physiological response of *Mentha* genotypes under different UV-treatments*

Charlotte Hubert¹, Sonja Bartoschek¹, Katharina Luhmer^{1,2}, Marcel Dieter Moll¹, Ralf Pude^{1,2}

¹INRES – Nachwachsende Rohstoffe, Universität Bonn, Klein-Altendorf 2, 53359 Rheinbach,

²Campus Klein-Altendorf, Universität Bonn, Klein-Altendorf 2, 53359 Rheinbach

charlotte.hubert@uni-bonn.de

DOI 10.5073/20230821-142701-0

Zusammenfassung

Mentha sp. dient sowohl zur Teeproduktion als auch zur Gewinnung von ätherischen Ölen. Ätherische Öle sind aufgrund von aromatischen und gesundheitsfördernden Eigenschaften Bestandteil vieler Produkte der Lebensmittel-, Kosmetik- und Pharmaindustrie. Ein möglichst hoher ätherischer Ölgehalt in der Pflanze ist somit wünschenswert. Deswegen befasst sich diese Studie mit dem Gehalt an ätherischem Öl und der physiologischen Reaktion von verschiedenen *Mentha* Genotypen zum einen unter unterschiedlichen Lichtbedingungen und zum anderen unter Einfluss von einer Mykorrhizierung. Dazu wurden drei verschiedene *Mentha* Genotypen (*Mentha × piperita* 'Multimentha', *Mentha × piperita* 'Fränkische Blaue' und *Mentha rotundifolia* 'Apfelminze') unterschiedlichen UV-Behandlungen ausgesetzt (Kontrolle (Einstrahlung unter Gewächshausbedingungen), erhöhte UV-B-Strahlung (1,4 W/m², 700 % der Kontrolle) und schattierte Bedingungen (30 % der Kontrolle)) und teilweise mit arbuskulärer Mykorrhiza geimpft. Die Pflanzenvitalität wurde mithilfe von Vegetationsindizes (VIs) ermittelt. Unabhängig der Lichtbedingungen wurde vor allem die 'Multimentha' durch die Mykorrhizierung beeinflusst. Sie wies signifikant höhere Werte für Pflanzenhöhe, Trockenmasse und ätherischen Ölgehalt als die 'Apfelminze' und 'Fränkische Blaue' auf. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich eine Mykorrhizierung nur auf einzelne Genotypen positiv auswirkt und somit eine weitere Auswahl von Genotypen betrachtet werden sollte.

Stichwörter: *Mentha × piperita*, *Mentha rotundifolia*, UV-Strahlung, Mykorrhiza

Abstract

Mentha sp. is used both for tea production and for the extraction of essential oils. Due to aromatic and health-promoting properties, essential oils are a component of many products in the food, cosmetics and pharmaceutical industries. Thus, the highest possible essential oil content in the plant is desirable. Therefore, this study deals with the essential oil content and physiological response of different *Mentha* genotypes on the one hand under different light conditions and on the other hand under the influence of mycorrhization. For this purpose, three different *Mentha* genotypes (*Mentha × piperita* 'Multimentha', *Mentha × piperita* 'Fränkische Blaue' and *Mentha rotundifolia* 'Apfelminze') were exposed to different UV-treatments (control (irradiation under greenhouse conditions), elevated UV-B radiation (1.4 W/m², 700 % of control) and shaded conditions (30 % of control)) and partially inoculated with arbuscular mycorrhiza. Plant vitality was determined using vegetation indices (VIs). Regardless of

the light conditions, 'Multimentha' in particular was affected by mycorrhization. It exhibited significantly higher growth, dry matter, and essential oil content than 'Apfelminze' and 'Fränkische Blaue'. In conclusion, mycorrhization does not have a positive effect on every genotype and thus another selection of genotypes should be considered.

Keywords: *Mentha × piperita*, *Mentha rotundifolia*, UV-radiation, mycorrhiza

Einleitung

Ätherische Öle sind die wertgebenden Inhaltsstoffe der *Mentha* sp., die aufgrund ihrer antimikrobiellen, antiviralen und antioxidativen Eigenschaften (Mckay und Blumberg, 2006) in zahlreichen Produkten der Lebensmittel-, Kosmetik- und Pharmaindustrie (Anwar et al., 2019) genutzt werden. Neben der Sortenauswahl beeinflussen Umwelt- und Managementfaktoren die Ölausbeute. Arbuskuläre Mykorrhiza (AM) ist eine Symbiose zwischen Pilzen des Stammes Glomeromycota und Wurzeln höherer Pflanzen (Willis et al., 2013), welche unter anderem zur Verbesserung der Nährstoffaufnahme (Bolan, 1991) und des Wasserhaushalts (Auge et al., 2000) beiträgt. Bagheri et al. (2015) stellten nach Inokulation mit *Glomus mosseae* bei drei verschiedenen *Mentha spicata* Genotypen neben erhöhtem Wachstum, Chlorophyllgehalt und verbesserter Nährstoffaufnahme einen 1,4-fach höheren Ölgehalt im Vergleich zur Kontrolle fest (Bagheri et al., 2015). Aufbauend darauf ist unsere Hypothese, dass die Mykorrhizierung den Biomasseertrag und Ölgehalt insbesondere unter UV-Stress erhöht und sich positiv auf die Pflanzenvitalität auswirkt.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Versuchsaufbau

Vier Wochen nach der Stecklingsvermehrung wurden 120 Pflanzen der drei *Mentha*-Genotypen (*Mentha × piperita* 'Multimentha', *Mentha × piperita* 'Fränkische Blaue' ('Fr. Blaue') und *Mentha rotundifolia* 'Apfelminze') in 0,5 l Töpfe mit „Einheitserde ED73“ (Einheitserde Werkverband, Sinntal-Altengronau, Deutschland) umgesetzt. Die Hälfte wurde mit INOQ Sprint (*Rhizoglosum irregulare*, *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae* und *Funneliformis caledonium*; 145 IE/ml, INOQ GmbH, Schnega, Deutschland) geimpft. Der Versuch lief acht Wochen mit 40 Pflanzen pro Genotyp für jedes Treatment (Kontrolle, erhöhte UV-B-Strahlung und schattierte Bedingungen, jeweils mit und ohne Mykorrhiza (Myk.)) im Gewächshaus. Die Einstrahlung unter Kontrollbedingungen (Gewächshaus) betrug 650 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$, das Schattiernetz wurde so gewählt, dass die PAR unter schattierten Bedingungen circa 30 % (200 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$) der PAR unter Kontrollbedingungen betrug. Die erhöhte UV-B-Strahlung wurde mittels Ultraviolett-B-Leuchtstoffröhren (TL 100W/12) von Philips simuliert und betrug 1,4 W/m^2 (700 % der Kontrolle) für 6 h täglich. Dies wurde um 12 Uhr mittags mit einem X12 Optometer von Gigahertz-Optik überprüft. Die Temperatur unter Kontrollbedingungen betrug durchschnittlich 23,86 °C und die relative Luftfeuchtigkeit 54,47 %, unter schattierten Bedingungen waren es 23,19 °C und 55,56 % sowie 24,68 °C und 51,24 % unter erhöhter UV-B-Strahlung. Gemessen wurde dies mittels Omega Datalogger des Typs „OM-EL-USB-2-PLUS“.

Messparameter

Pflanzenhöhe (cm) und Hyperspektraldaten wurden wöchentlich gemessen. Für letztere wurde ein PolyPen RP400 (UV-VIS) von PSI (Drásov, Tschechische Republik) genutzt. Aus den stichprobenartigen Messungen von 5 Blättern/Variante ermittelte das PolyPen die Vegetationsindizes PSRI (Plant Senescence Reflectance Index), ARI 1 (Anthocyanin Reflectance Index), PRI (Photochemical Reflectance Index) und REIP 1 (Red Edge Inflection Point 1). Der PSRI reagiert auf Veränderungen im

Verhältnis von Carotinoiden zu Chlorophyll und kann daher zur Bestimmung der Blattseneszenz verwendet werden. Anthocyangehalte der Minzen wurden mit dem Vegetationsindex ARI 1 bestimmt. Der PRI kann zur Schätzung der photosynthetischen Aktivität und der Lichtnutzungseffizienz verwendet werden. Mit Hilfe des Vegetationsindex REIP 1 kann der Chlorophyllgehalt bestimmt und Rückschlüsse auf den Stickstoffgehalt gezogen werden (nach ROBERTS et al., 2016). Zum Versuchsende wurden Frisch- und Trockenmasse bestimmt (g/Pflanze). Getrocknet wurde bei 35 °C für vier Tage (Venticell 707 - Eco Line, MMM Group, Planegg, Deutschland). Die Extraktion des ätherischen Öls erfolgte durch Wasserdampfdestillation nach der Methodik des Europäischen Arzneibuchs (DEUTSCHER APOTHEKER VERLAG, 2020) mit den Geräten "KOL" und "KOL 2" (behr Labor-Technik GmbH, Düsseldorf, Deutschland).

Statistik

Die Datenanalyse wurde mit JMP Pro 17 (JMP Statistical Discovery LLC, 2022) durchgeführt. Für den Vergleich der Mittelwerte wurde eine ANOVA ($p \leq 0,05$) mit Tukey-HSD-Test angewendet. Die Extraktion des ätherischen Öls konnte nur als Einzelbestimmung erfolgen.

Ergebnisse & Diskussion

Pflanzenhöhe & Trockenmasse

Die höchste Pflanzenhöhe zum Erntezeitpunkt wies 'Multimentha' mit Myk. über alle UV-Bedingungen hinweg auf. Unter schattierten Bedingungen und mit Myk. erreichte sie ihr Maximum von 28,2 cm. Unter Kontrollbedingungen zeigten 'Apfelminze' und 'Fr. Blaue' geringere Werte nach Inokulierung ('Apfelminze': 18,8 cm ohne Myk. zu 16,8 cm mit Myk.; 'Fr. Blaue': 17,9 cm ohne Myk. zu 17,3 cm mit Myk.). Unter Schattierung zeigte 'Apfelminze' ohne Myk. (22,7 cm) nach 'Multimentha' die zweithöchste Pflanzenhöhe. Bei erhöhter UV-B-Strahlung erreichte nach der 'Multimentha' wieder die 'Apfelminze' den zweithöchsten Wert mit Myk. (21,5 cm). Zusammenfassend zeigte die Mykorrhizierung kein einheitliches Bild bei der Pflanzenhöhe über alle Treatments und Genotypen hinweg. Bei der Trockenmasse erreichte die 'Multimentha' unabhängig von der Mykorrhizierung die höchsten Werte, bei Kontroll- und schattierten Bedingungen mit einer Mykorrhizierung eine signifikant höhere Trockenmasse (Kontrolle: 5,8 g/Pflanze; Schattiert: 5,5 g/Pflanze) als die anderen Genotypen (2,2–2,8 g/Pflanze). Während 'Multimentha' höhere Werte mit Myk. aufwies, zeigten 'Apfelminze' und 'Fr. Blaue' keine signifikanten Steigerungen durch den Mykorrhiza-Einsatz. Unter erhöhter UV-B-Strahlung erzielte die 'Fr. Blaue' 2,3 g/Pflanze ohne Myk. aber lediglich 1,8 g/Pflanze mit Myk.

Vegetationsindizes

Der ARI 1 (Anthocyangehalt) wurde durch Myk. nicht signifikant beeinflusst. 'Apfelminze' zeigte die geringsten Werte, wohingegen sich die Pfefferminzen 'Multimentha' und 'Fr. Blaue' nicht voneinander unterschieden. Die photosynthetische Aktivität und die Lichtausnutzung (PRI) wurden vor allem bei der 'Multimentha' durch eine Mykorrhizierung gesteigert. Der PSRI (Blattseneszenz) war bei der 'Multimentha' durch Myk. etwas gesteigert und bei der 'Apfelminze' leicht verringert. Den größten Einfluss besaß die Inokulierung auf den REIP 1 (Stickstoffversorgung). Dieser war nach Inokulierung bei der 'Apfelminze' etwas geringer, bei der 'Fr. Blaue' gleichbleibend und für die 'Multimentha' signifikant höher, sodass für die 'Multimentha' von einer verbesserten Nährstoffaufnahme durch eine Mykorrhizierung ausgegangen werden kann.

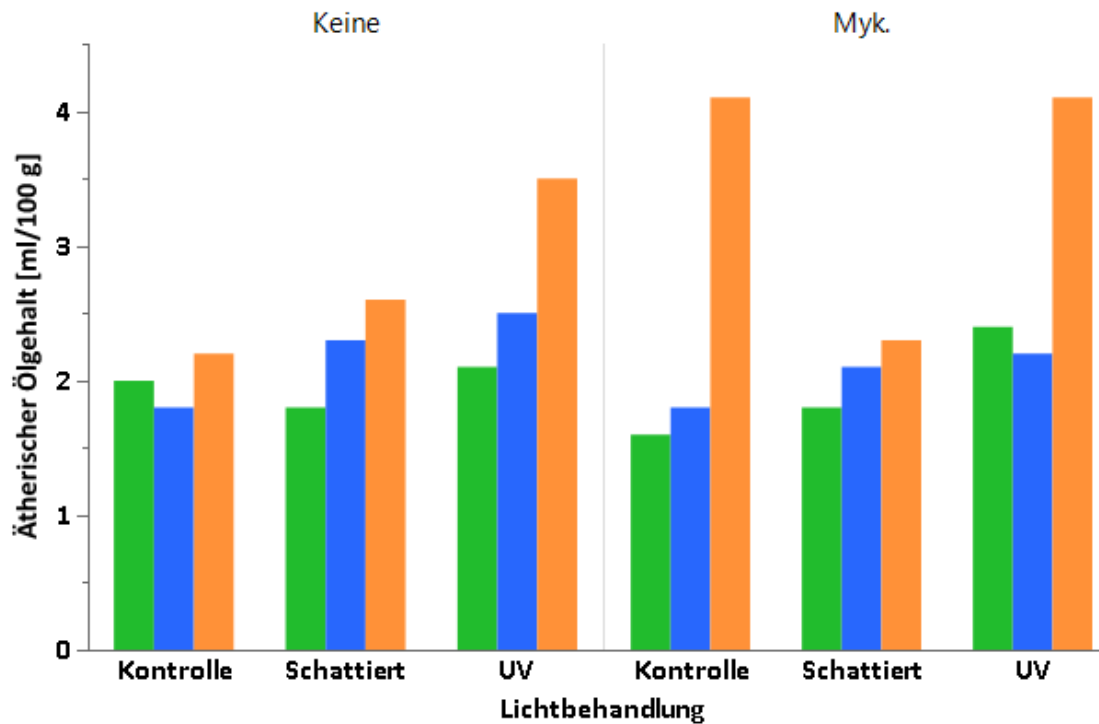


Abb. 1. Ätherische Ölgehalte [ml/100 g] der drei Genotypen 'Apfelminze' (grün), 'Fr. Blaue' (blau) und 'Multimentha' (orange) aufgeteilt nach den Lichtbedingungen und Myk. oder keine Myk. (n=1)

Fig. 1. Essential oil contents [ml/100 g] of the three genotypes 'Apfelminze' (green), 'Fr. Blaue' (blue) and 'Multimentha' (orange) ordered according to the light conditions and myc. or no myc. (n=1)

Ätherischer Ölgehalt

Die UV-B-erhöhte Variante zeigte jeweils die höchsten Ölgehalte, unabhängig von Myk. (Abbildung 1). Insgesamt waren die Ölgehalte mit Myk. geringer als ohne Myk., vermutlich bedingt durch den geringeren Stress der Pflanze durch die Symbiose. Einzig die 'Multimentha' erzielte mit Myk. unter Kontrollbedingungen und erhöhter UV-B-Strahlung höhere Gehalte im Vergleich zur Variante ohne Inokulum. Vergleicht man den Ölgehalt der 'Multimentha' unter Kontrollbedingungen, lag er ohne Myk. bei 2,2 ml/100 g und mit Myk. 1,7-fach höher bei 4,1 ml/100 g. Dies bestätigt die Ergebnisse von Bagheri et al., die einen 1,4-fach höheren Ölgehalt nach einer Inokulation feststellen konnten (Bagheri et al., 2015).

Fazit

- 'Multimentha' besaß durch die Mykorrhizierung einen höheren REIP 1 Wert, was auf eine verbesserte Nährstoffaufnahme hindeutet.
- Erhöhte UV-B-Strahlung führte bei allen drei Genotypen sowohl mit als auch ohne Mykorrhizierung zu höheren Ölgehalten im Vergleich zu den anderen Varianten.
- Durch Mykorrhizierung wurde jedoch weniger ätherisches Öl gebildet im Vergleich zu den Varianten ohne Mykorrhizierung, was vermutlich auf die Reduktion von Stress zurückzuführen ist. Ausgenommen der Genotyp 'Multimentha'.
- Der Genotyp 'Multimentha' ist am empfänglichsten für eine Mykorrhizierung, da er unter Kontrollbedingungen und erhöhter UV-B-Strahlung ein höheres Wachstum, mehr Trockenmasse und einen höheren ätherischen Ölgehalt zeigte als 'Apfelminze' und 'Fränkische Blaue'.
- Eine Mykorrhizierung wirkt sich nicht auf jeden Genotyp gleich aus und somit sollte eine weitere Auswahl von geeigneten Genotypen betrachtet werden.

Danksagung

Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen der Exzellenzstrategie - EXC 2070 - 390732324 - gefördert.

Literatur

- Anwar, F., A. Abbas, T. Mehmood, A.-H. Gilani und N.-U. Rehman, 2019: Mentha: A genus rich in vital nutra-pharmaceuticals-A review. *Phytotherapy research: PTR* 33 (10), 2548–2570, DOI: 10.1002/ptr.6423.
- Bagheri, S., S. Davazdahemami und J.M. Moghadam, 2015: Variation in Growth Characteristics, Nutrient Uptake, and Essential Oil Content in Three Mycorrhizal Genotypes of Mentha spicata L. *International Journal of Scientific Research in Knowledge* 3 (3), 67–76, DOI: 10.12983/ijsrk-2015-p0067-0076.
- Bolan, N.S., 1991: A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants.
- Dar A. Roberts, Keely L. Roth, Ryan L. Perroy, 2016: Spectral and Spatial Methods of Hyperspectral Image Analysis for Estimation of Biophysical and Biochemical Properties of Agricultural Crops. In: *Hyperspectral Remote Sensing of Vegetation*. THENKABAIL, P.S. UND J.G. LYON (Hrsg.), CRC Press, S. 325–344, DOI: 10.1201/b11222.
- Deutscher Apotheker Verlag (Hrsg.), 2020: Ph. Eur. 10.: Pharmacopoeia Europaea - Europäisches Arzneibuch. Amtliche Deutsche Ausgabe, Stuttgart, Deutscher Apotheker Verlag.
- Mckay, D.L. und J.B. Blumberg, 2006: A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy research: PTR* 20 (8), 619–633, DOI: 10.1002/ptr.1936.
- Robert M. Auge, Ann J.W. Stodola, Jayme E. Tims & Arnold M. Saxton, 2000: Moisture retention properties of a mycorrhizal soil.
- Willis, A., B.F. Rodrigues und P.J.C. Harris, 2013: The Ecology of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences* 32 (1), 1–20, DOI: 10.1080/07352689.2012.683375.

Sind Wurzelgallennematoden der Gattung *Meloidogyne* ein bedeutender Schaderreger an Arznei- und Gewürzpflanzen in Deutschland?

Are root-knot nematodes from the genus Meloidogyne a relevant pathogen on medicinal and aromatic plants in Germany?

Noskov Ilya¹, Blum Hanna², Komnik Hansjörg², Hallmann Johannes¹

¹Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Deutschland

²Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz (INRES), Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Klein-Altendorf 2, 53359 Rheinbach, Deutschland

ilya.noskov@julius-kuehn.de

DOI 10.5073/20230821-143313-0

Zusammenfassung

Der Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen in Deutschland ist oftmals mit Wuchsdepressionen und Ertragseinbußen assoziiert. Häufig werden Wurzelgallennematoden der Gattung *Meloidogyne* als Ursache vermutet, da sie ein breites Wirtsspektrum aufweisen und zahlreiche Kulturpflanzen, wie zum Beispiel Möhren, Zwiebeln und Kartoffeln schädigen. Aktuelle Daten zum Auftreten und Schadpotenzial von *Meloidogyne* an Arznei- und Gewürzpflanzen liegen für Deutschland nicht vor. Ziel des Verbundprojektes NemaAG war es, die Verbreitung von *Meloidogyne* an Arznei- und Gewürzpflanzen in Deutschland zu untersuchen und deren Schadpotenzial an ausgewählten Kulturen, wie Pfefferminze Multimentha, Petersilie und Baldrian zu erfassen. Die Untersuchungen wurden in Kooperation mit Partnern aus der Praxis und Beratung durchgeführt. Das Forschungsvorhaben wurde gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Bundestages. Die Auswertung der 533 Bodenproben von insgesamt 119 Anbauflächen aus den Jahren 2020-2022 zeigte, dass pflanzenparasitäre Nematoden an Arznei- und Gewürzpflanzen grundsätzlich weit verbreitet sind, die Befallshäufigkeit der Gattung *Meloidogyne* mit < 8 % aber recht gering ist. Auf Befallsflächen betrug die durchschnittliche Besatzdichte *Meloidogyne* 33 Tiere/100 ml Boden und lag damit nicht im kritischen Bereich.

Die Schadwirkung der in Deutschland am häufigsten vorkommenden Art, *M. hapla*, wurde an Pfefferminze Multimentha, Apfelminze, Spearmint, Fränkische Pfefferminze, Petersilie und Baldrian im Gefäßversuch untersucht. Die Versuche zeigten, dass Pfefferminze Multimentha, Spearmint, Petersilie und Baldrian eine gute Wirtspflanze für *M. hapla* sind, wohingegen Apfelminze und Fränkische Pfefferminze schlechte Wirte waren. Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob sich die Schadwirkung zwischen verschiedenen *Meloidogyne*-Arten unterscheidet. Dies wurde mit *M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. fallax* und *M. incognita* an Pfefferminze Multimentha und Petersilie durchgeführt. Hier zeigte sich, dass Pfefferminze Multimentha eine schlechte Wirtspflanze für *M. incognita* ist und keine Wirtspflanze für *M. chitwoodi* und *M. fallax*. Petersilie wiederum erwies sich als eine gute Wirtspflanze für alle vier *Meloidogyne*-Arten. Im Vergleich zu der sehr guten Wirtspflanze Tomate waren die Vermehrungsraten an allen getesteten Arznei- und Gewürzpflanzen allerdings deutlich geringer. Weiterhin konnte in Gewächshausversuchen gezeigt werden, dass Nematodendichten von 2500 Tieren/Pflanze keinen negativen Einfluss auf das Wachstum der untersuchten Arznei- und Gewürzpflanzen hatten und am oberirdischen Aufwuchs keine nematodenspezifischen Symptome verursachten.

Stichwörter: *Meloidogyne*, Pfefferminze, Petersilie, Baldrian

Abstract

Production of medicinal and aromatic plants in Germany is often associated with yield losses and growth depression. Root-gall nematodes of the genus *Meloidogyne* are often suspected as the cause, as they have a wide host spectrum and damage numerous crops like carrots, potatoes and onions. However, concrete data on the occurrence of plant parasitic nematodes, including *Meloidogyne*, on aromatic and medicinal plants in Germany is scarce. In this project we evaluated the distribution of plant parasitic nematodes on medicinal and aromatic plants in Germany and studied the damage potential of *Meloidogyne* on selected crops such as peppermint multimentha, parsley and valerian. The research was carried out in cooperation with partners from practice and consulting. The research project was funded by the Federal Ministry of Food and Agriculture based on a resolution of the Bundestag.

The evaluation of 533 soil samples collected from 119 fields in 2020-2022 showed a wide distribution of plant parasitic nematodes on medicinal and aromatic plants in Germany, with *Meloidogyne* only detected in < 8 % of the field sites. When present, average density of *Meloidogyne* was 33 nematodes/100 ml soil, which is considered non-critical for plant growth.

The host and damage potential of *M. hapla*, which is the most common species found in Germany, was studied on peppermint multimentha, apple mint, fränkische mint, spearmint, parsley and valerian. Results of pot experiments showed that peppermint multimentha, spearmint, parsley and valerian were good hosts for *M. hapla* while apple mint and fränkische mint were poor hosts or non hosts, respectively. Second, the damage potential of different *Meloidogyne* species was studied on peppermint and parsley. The results showed that peppermint multimentha is a poor host for *M. incognita* and a non-host for *M. chitwoodi* and *M. fallax*. Parsley turned out to be a good host for all four *Meloidogyne* species. Overall reproduction rates of *Meloidogyne* were much lower than for the good host tomato. Finally, it was shown that nematode densities of 2500 *M. hapla*/plant had no negative impact on plant growth and did not cause any symptoms on aboveground plant parts.

Keywords: *Meloidogyne*, peppermint, parsley, valerian

Einleitung

In Deutschland werden etwa 125 Arznei- und Gewürzpflanzen auf ca. 13.000 ha angebaut (Hoppe und Plescher, 2016). Zu den am häufigsten angebauten Kulturen gehören verschiedene Kräuter und Gewürze, wie zum Beispiel Pfefferminze, Petersilie, Baldrian und Majoran. Als ertragslimitierende Faktoren werden häufig pflanzenparasitäre Nematoden vermutet, wie zum Beispiel Wurzelgallennematoden der Gattung *Meloidogyne*.

Meloidogyne ist ein weltweit bedeutender Schaderreger an vielen Kulturpflanzen. Die wirtschaftlich bedeutendsten Arten in Mitteleuropa sind *M. hapla*, *M. chitwoodi* und *M. fallax*. Alle drei Arten verursachen teils hohe Ertrags- und Qualitätsausfälle an Kartoffeln, Zwiebeln, Möhren, sowie vielen weiteren Kulturpflanzen. Typische Symptome eines *Meloidogyne*-Befalls sind Gallen an den Wurzeln. Die Arten *M. chitwoodi* und *M. fallax* sind zudem in der EU als Quarantänenematoden eingestuft, d.h. bei einem Auftreten dieser Arten sind Maßnahmen zur Verhinderung der weiteren Verbreitung zu ergreifen. Alle drei Arten haben ein breites Wirtspflanzenspektrum und ein hohes Vermehrungspotential, was deren Bekämpfung schwierig macht.

Zum Schadpotenzial von *Meloidogyne*-Arten an Arznei- und Gewürzpflanzen ist insgesamt wenig bekannt. Aus wärmeren Regionen werden Schäden an Arznei- und Gewürzpflanzen durch *M. incognita*

berichtet, wie z. B. an Schwarzem Pfeffer, Ingwer und Minze (Eapen und Pandey, 2018) sowie durch *M. arenaria* an Petersilie (Mennan et al. 2011). Aktuelle Daten zum Auftreten und zum Schadpotenzial von pflanzenparasitären Nematoden, inklusive *Meloidogyne*, an Arznei- und Gewürzpflanzen in Deutschland liegen nicht vor. Im Rahmen des Verbundprojektes NemaAG wurde die Verbreitung von pflanzenparasitären Nematoden an Arznei- und Gewürzpflanzen untersucht und das Schadpotenzial von *Meloidogyne* an ausgewählten Kulturen, wie Pfefferminze, Petersilie und Baldrian, erfasst.

Material und Methoden

Verbreitung von *Meloidogyne* an Arznei- und Gewürzpflanzen

Die Probenahme für die Nematodenuntersuchungen erfolgte in 2020-2022. Standorte mit bekannten oder vermuteten Nematodenproblemen wurden bevorzugt. Die ausgewählten Standorte waren bundesweit verteilt und berücksichtigten verschiedene Arznei- und Gewürzpflanzenkulturen sowie konventionell und biologisch bewirtschaftete Flächen. Pro Fläche von maximal 1 ha wurde eine repräsentative Bodenprobe bestehend aus 30 Einstichen aus 0-30 cm Bodentiefe entnommen. Nach Mischen des Bodens wurden ca. 500 ml Boden in Plastiktüten abgefüllt und bis zur Untersuchung bei 5 °C gelagert. Die Extraktion der Nematoden erfolgte aus 250 ml Boden mit dem Oostenbrink Elutriator. Die Besatzdichte (Anzahl Nematoden/100 ml Boden) wurde nach Nematodengattungen getrennt ermittelt. Insgesamt wurden 533 Bodenproben ausgewertet. Die Proben stammten von 119 Praxisflächen mit 31 Kulturen von 50 Betrieben aus 8 Bundesländern (Baden-Württemberg, Bayern, Brandenburg, Hessen, Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Thüringen und Sachsen). Die am häufigsten beprobten Kulturen waren Pfefferminze, Petersilie, Baldrian, Sonnenhut und Majoran.

Wirtsstatus und Schadpotenzial von *Meloidogyne*-Arten an ausgewählten Kulturen

Das Schadpotenzial von *Meloidogyne* an Arznei- und Gewürzpflanzen wurde in Gewächshausversuchen an Pfefferminze *Multimetha*, Petersilie, Baldrian, Spearmint, Fränkische Pfefferminze und Apfelminze ermittelt sowie für verschiedene *Meloidogyne*-Arten (*M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. incognita*). Erfasst wurden Pflanzenfrischmasse, Pflanzentrockenmasse, Wurzelfrischmasse und Vermehrungsrate von *Meloidogyne*.

Insgesamt wurden 17 Gewächshausversuche durchgeführt. Der Zeitpunkt der Nematodeninokulation wurde dem Pflanzenwachstum der jeweiligen Kultur angepasst. Er lag bei Pfefferminze *Multimetha*, Apfelminze, Fränkische Pfefferminze und Spearmint 4-5 Wochen nach der Stecklingspflanzung, bei Petersilie und Baldrian 6-8 Wochen nach der Aussaat. Die Inokulummenge betrug 2500 Tiere pro Pflanze. Alle Versuche erfolgten in 11 cm Anzuchttopfen, gefüllt mit 420 ml Standardsubstrat (Sand + Vermikulit (4:1, v:v), Osmocote 3 g/kg Substrat). Als Kontrolle für die Nematodenvermehrung diente Tomate cv. Moneymaker.

Ergebnisse

Verbreitung von *Meloidogyne* an Arznei- und Gewürzpflanzen

Die Auswertung der insgesamt 533 Bodenproben aus den Jahren 2020-2022 zeigte, dass pflanzenparasitäre Nematoden an Arznei- und Gewürzpflanzen grundsätzlich weit verbreitet sind. Zu den häufig auftretenden Gattungen zählten *Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Trichodorus/Paratrachodorus*, *Paratylenchus* und *Helicotylenchus*. *Meloidogyne* wurde auf < 8 % der Flächen nachgewiesen. Die durchschnittliche Besatzdichte von *Meloidogyne* betrug 33 Tiere/100 ml Boden und lag damit im nicht kritischen Bereich (Tabelle 1).

Tab. 1. Nematodenbesatz wirtschaftlich bedeutender Nematodengattungen an ausgewählten Arznei- und Gewürzpflanzen. Dargestellt sind Mittelwert (MW) und Maximalwert (Max). Beim Mittelwert wurden nur Proben berücksichtigt, in denen die Gattung auch auftrat

Tab. 1. *Nematode population of economically important nematode genera on selected medicinal and aromatic plants. Mean value (MW) and maximum value (Max) are shown. For the mean value, only samples in which the genus also occurred were taken into account*

Gattung	Tiere/100 ml Boden MW	Tiere/100 ml Boden Max (Pflanze)
<i>Tylenchorhynchus</i>	58 (n = 421)	3344 (Fingerhut)
<i>Pratylenchus</i>	75 (n = 471)	1236 (Majoran)
<i>Heterodera</i>	8 (n = 46)	36 (Petersilie)
<i>Meloidogyne</i>	33 (n = 37)	180 (Baldrian)
<i>Paratylenchus</i>	173 (n = 242)	2668 (Angelika)
<i>Trichodorus</i>	21 (n = 200)	280 (Petersilie)

Wirtsstatus und Schadpotenzial von *Meloidogyne*-Arten an ausgewählten Kulturen

In den Versuchen erwiesen sich Pfefferminze Multimentha, Spearmint, Petersilie und Baldrian als gute Wirtspflanzen für *M. hapla*, wohingegen Apfelminze und Fränkische Pfefferminze schlechte Wirte waren (Tabelle 2). Der Wirtsstatus an den einzelnen Kulturen hing ab von der jeweiligen *Meloidogyne*-Art. Hier zeigte sich, dass Pfefferminze Multimentha eine schlechte Wirtspflanze für *M. incognita* ist und keine Wirtspflanze für *M. chitwoodi* und *M. fallax*. Petersilie wiederum erwies sich als eine gute Wirtspflanze für alle vier *Meloidogyne*-Arten (Tabelle 2). Im Vergleich zu der sehr guten Wirtspflanze Tomate waren die Vermehrungsraten an allen getesteten Pflanzen aber deutlich geringer. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Nematodendichten von 2500 Tieren/Pflanze keinen negativen Einfluss auf das Wachstum der untersuchten Arznei- und Gewürzpflanzen hatten und am oberirdischen Aufwuchs keine nematodenspezifischen Symptome verursachten.

Tab. 2. Wirtsstatus und Schadpotenzial von *Meloidogyne*-Arten an ausgewählten Pflanzenarten

Tab. 2. *Host status and damage potential of Meloidogyne species on selected plant species*

Pflanze/ Nematode	<i>M. hapla</i>	<i>M. chitwoodi</i>	<i>M. fallax</i>	<i>M. incognita</i>
Pfefferminze Multimentha	**	-	-	*
Apfelminze	*	n.a.	n.a.	n.a.
Fränkische Pfefferminze	*	n.a.	n.a.	n.a.
Spearmint	**	n.a.	n.a.	n.a.
Petersilie	**	**	**	**
Baldrian	**	n.a.	n.a.	n.a.
Tomate	***	***	***	***

Legende Schaden		Legende Vermehrung	
	unbekannt	n.a.	nicht getestet
	kein	-	kein Wirt
	gering (0-15 %)	*	schlechte Wirtspflanze
	mittel (16-35 %)	**	gute Wirtspflanze
	stark (36-100 %)	***	sehr gute Wirtspflanze

Literatur

Eapen, S.J., R. Pandey, 2018: Nematode parasites of spices and medicinal plants. In: Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Sikora, R.A., D. Coyne, J. Hallmann, P. Timper (Eds.), CABI Publishing, 755-794, DOI: 10.1079/9781786391247.0755.

Hoppe, B., A. Plescher, 2016: Der Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen in Deutschland. Zeitschrift für Phytotherapie, **37** (3), 105-108, DOI: 10.1055/s-0042-109494.

Mennan, S., G. Aydinli, T. Kati, 2011: First report of root-knot nematode (*Meloidogyne arenaria*) infecting parsley in Turkey. Journal of Phytopathology, **159** (10), 694-696, DOI: 10.1111/j.1439-0434.2011.01820.x.

Detektion von phytopathogenen Pilzen an ausgewählten Arzneipflanzen

Detection of phytopathogenic fungi on selected medicinal plants

Lana-Sophie Kreth, Monika Götz

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und urbanem Grün, Braunschweig

lana-sophie.kreth@julius-kuehn.de

DOI 10.5073/20230821-143758-0

Zusammenfassung

Trotz steigender Nachfrage stagniert der Arzneipflanzenanbau in Deutschland seit Jahren. Derzeit wird der steigende Bedarf zu ca. 85-90 % aus Importen gedeckt (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V., 2014). Ein Grund für den begrenzten Anbau stellen pilzliche Pathogene dar, die zu massiven Ernteausschlägen führen können. Ein breites Screening auf aktuell auftretende pilzliche Pathogene wurde an Johanniskraut (*Hypericum perforatum*), Anis (*Pimpinella anisum*), Kümmel (*Carum carvi*), Koriander (*Coriandrum sativum*) und Fenchel (*Foeniculum vulgare*) über vier Jahre (2020-2023) durchgeführt, wobei der Schwerpunkt auf *H. perforatum* und *P. anisum* lag. Untersucht wurden symptomatische und asymptomatische Pflanzenproben sowie Saatgutchargen der genannten Kulturen. Um Pilze aus dem Material zu isolieren, wurde die Oberfläche des Materials desinfiziert und auf ein Nährmedium übertragen. Diese kulturabhängige Methode ist jedoch nicht für den Nachweis aller Pilze geeignet. So können z. B. Pilze mit einem sehr langsamen Wachstum von anderen überwachsen werden. Zudem können obligat biotrophe Pilze nicht auf Medium kultiviert werden. Für den Johanniskrautwelkeerreger, der derzeit immer noch ein massives Problem im *H. perforatum*-Anbau darstellt, wurde eine kulturunabhängige Methode unter Verwendung der Real-Time-PCR optimiert und validiert. Dieser Test ist schneller und sensitiver als der bisher verwendete kulturabhängige Nachweis und kann sehr gut für Routinetestungen verwendet werden. An *P. anisum* stellt Rost (*Puccinia pimpinellae*) eine große Herausforderung für den Anbau dar, da dieser den Ertrag und die Qualität des Ernteguts erheblich beeinträchtigt. Für den Nachweis dieses obligat biotrophen Pathogens wurde eine kulturunabhängige Methode mittels konventioneller PCR etabliert, die die Detektion von Pilz-DNA in Pflanzenmaterial und Samen ermöglicht. Auch diese Methode steht für Routinetestungen zur Verfügung. Der routinemäßige Einsatz beider Methoden zur Überprüfung von Saatgut auf Befall mit den genannten Pathogenen ermöglicht es, kontaminierte Saatgutchargen vor der Aussaat zu identifizieren, vom Markt zu nehmen oder einer Saatgutbehandlung zu unterziehen. Dieses unterstützt eine gesunde Kultur sowie eine deutliche Einschränkung der Pathogenverbreitung.

Stichwörter: Phytopathogene, *Hypericum perforatum*, *Pimpinella anisum*, *Carum carvi*, *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare*, Arzneipflanzen, Nachweismethoden

Abstract

Despite increasing demand, the cultivation of medicinal plants in Germany has been stagnating for years. Currently, about 85-90 % of the growing demand is covered by imports (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V., 2014). One reason for the limited cultivation are fungal diseases, which can lead to massive crop losses. A broad screening for currently occurring fungal pathogens was conducted on St. John's wort (*Hypericum perforatum*), anise (*Pimpinella anisum*), caraway (*Carum*

carvi), coriander (*Coriandrum sativum*), and fennel (*Foeniculum vulgare*) for four years (2020-2023), focusing on *H. perforatum* and *P. anisum*. Symptomatic and asymptomatic plant samples and seed batches from the mentioned cultures were examined. To isolate fungi from the plant material, the surface was disinfected and the material was transferred to a nutrient medium. However, this culture-dependent method is not suitable for every fungus. For example, slow-growing fungi may be overgrown by other fungi. In addition, obligate biotrophic fungi cannot be cultivated on a medium. A culture-independent method using real-time PCR was optimized and validated for the St. John's wilt pathogen, which is currently still a massive problem for *H. perforatum*. This test is faster and more sensitive than the previously used culture-dependent method and can be used very efficiently for routine testing. On *P. anisum*, rust (*Puccinia pimpinellae*) is a major challenge for cultivation as it significantly affects yield quantity and quality. For the detection of this obligate biotrophic pathogen, a conventional PCR has been established, which allows the detection of fungal DNA in plant material and seeds. This method is also available for routine testing. The routine use of both methods to test seeds for infestation with the pathogens mentioned above allows contaminated seed lots to be identified. They can then be withdrawn from the market or subjected to seed treatment before sowing. This enables a healthy crop as well as a significant reduction in the spread of pathogens.

Keywords: Phytopathogens, *Hypericum perforatum*, *Pimpinella anisum*, *Carum carvi*, *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare*, medicinal plants, detection methods

Literatur

Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V., 2014: Marktanalyse Nachwachsende Rohstoffe. Schriftenreihe Nachwachsende Rohstoffe, 34. Gülzow-Prüzen, 1119 S., URL: <https://mediathek.fnr.de/broschuren/nachwachsende-rohstoffe/band-34-marktanalyse-nachwachsende-rohstoffe.html>

Sektion 5: Feldanbau, Ernte und Aufbereitung

Der kontrollierte Anbau von *Actea racemosa* (L.)

The controlled cultivation of Actea racemosa (L.)

Amin Chaanin

VitaPlant AG, Romanshorneerstr. 39, 8592 Uttwil, Schweiz

amin.chaanin@vitaplant.ch

DOI 10.5073/20230821-144153-0

Zusammenfassung

Im Jahr 2006 starteten bei VitaPlant für die Mutterfirma Max Zeller Söhne die Arbeiten an der Entwicklung einer nachhaltigen Produktion von Wurzeldroge von *Actea racemosa* (syn. *Cimicifuga racemosa*). Aus dem Screening erfolgte die Selektion von zwei Genotypen. Für die Vermehrung von Pflanzen entwickelte VitaPlant eine effiziente *in vitro* Methode. Pflanzen der beiden Genotypen wurden auf Klonbasis für die Pilotversuche und den anschliessenden großflächigen Anbau in Polen und Holland produziert. In den Untersuchungen bei Max Zeller Söhne an der Wurzeldroge aus dem Anbau konnten bereits nach 2-jährigem Anbau Triterpenglykosid-Gehalte oberhalb der Ph.Eur.-Grenze von 1 % ermittelt werden. In den Versuchen zeigte sich, dass neben der Anbaudauer auch die Bodenstruktur und die klimatischen Verhältnisse eine wichtige Rolle bei der Ausbildung der Triterpenglykoside spielen. Nach 4-jährigem Anbau lagen die Erträge zwischen 7,5–8,5 t/ha getrockneter Wurzeldroge.

Stichwörter: *Actea racemosa* (Syn. *Cimicifuga racemosa*), kontrollierter Anbau, *in vitro*-Vermehrung

Abstract

In 2006, VitaPlant started to work on the development of a sustainable production of *Actea racemosa* (syn. *Cimicifuga racemosa*) roots for the mother company Max Zeller Söhne two genotypes were selected from the screening. VitaPlant developed an efficient *in vitro* propagation method, and plants from the two genotypes were produced on a clone basis for pilot trials and the subsequent large-scale cultivation in Poland and The Netherlands. In the analysis of triterpene glycosides at Max Zeller Söhne in the roots, the contents have exceeded the Ph Eur limit of 1 % already after 2 years of cultivation. The trials showed that, in addition to the duration of cultivation, the soil structure and climatic conditions also play an important role in the formation and composition of the triterpene glycosides. After 4 years of cultivation, the yields were between 7.5-8.5 t/ha of dried roots.

Keywords: *Actea racemosa* (Syn. *Cimicifuga racemosa*), controlled cultivation, *in vitro*-propagation

Einleitung

Actea racemosa L., Syn.: *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt. ist eine ausdauernde Staude und wächst in reichen, fruchtbaren und gut entwässerten Böden von Wäldern im Mittleren Westen und Osten der USA. Sie gehört zu den wichtigsten Heilpflanzen und wird zur Behandlung von Beschwerden in den Wechseljahren (klimakterische Beschwerden) bei Frauen sowie als Bestandteil von homöopathischen Zubereitungen eingesetzt. In den letzten Jahren gehörte *Actea racemosa* zu den zehn meistverkauften pflanzlichen Rohstoffen in den USA. Für die Herstellung werden bislang die Wurzeln inkl. Rhizome über Wildsammlung aus den natürlichen Verbreitungsgebieten verwendet. Die grosse Nachfrage nach Rohstoffen führt zu einer starken Gefährdung der natürlichen Vorkommnisse.

Für die Versorgungssicherheit mit Wurzeldroge von *Actea racemosa* wurde seit 2006 bei der Firma Max Zeller Söhne AG intensiv an der Entwicklung eines nachhaltigen Anbaus gearbeitet. Über die Ergebnisse wird hier berichtet.

Ergebnisse

Sourcing und Selektion

In den Jahren 2006 bis 2008 wurden 31 Samen-Herkünfte von *Actea racemosa* beschafft und unter Feldbedingungen bei VitaPlant AG in der Schweiz auf ihre pflanzenbaulichen Eigenschaften sowie auf der Basis von Einzelpflanzen auf ihre Identität und die Triterpenglykoside (Actein und das 23-epi-26-Desoxyactein) untersucht. Ein Teil des Wurzelstocks einer Pflanze wurde analysiert und ein Teil jeder untersuchten Pflanze wurde in Containern im Gewächshaus für die Vermehrung nach Vorlage der Ergebnisse weiterkultiviert. Aus dem Screening erfolgte die Selektion von mehreren Genotypen für die Vermehrung und Etablierung des kontrollierten Anbaus.

Entwicklung einer geeigneten in vitro-Vermehrungsmethode

Für die Produktion von Pflanzen aus den selektierten Genotypen wurde bei VitaPlant eine effiziente *in vitro* Methode entwickelt. Hierfür wurden verschiedene Pflanzenteile, wie Knospen, Blättchen, Blattstiele oder Segmente von den Blättern als Startmaterial verwendet und die *in vitro*-Regenerationsfähigkeit bei verschiedenen Kulturmedien und Kombinationen von Phytohormonen geprüft. Als Explantatquelle erwiesen sich die Fiederblatt-Mittelrippe und die Blättchen für die Sprossinduktion als gut geeignet. Die Explantate wurden zunächst unter fließendem Leitungswasser gewaschen und anschliessend 10 Minuten mit 0,5 % NaOCl plus 0,1 % Tween 20 oberflächensterilisiert. Nach dem Spülen mit sterilem bidestilliertem Wasser wurden die gebleichten Schnittenden entfernt und die Explantate horizontal in Petrischalen mit 10 ml des Induktionsmediums bei 24 °C unter 5000 Lux und einer 16-stündigen Photoperiode kultiviert. Die maximale Sprossregeneration wurde bei einem Medium nach Murashige & Skoog 1962 (MS-Medium) und unter Zugabe von 0,1 mg/l TDZ plus 0,2 mg/l NAA festgestellt.

Die Vermehrung von Sprossen erfolgte auf einem MS-Medium mit 3 % Saccharose, 0,34 % Gelrite sowie Kinetin in der Konzentration 4 mg/l. Nach 6 Wochen Inkubation in dem Vermehrungsmedium erfolgte die Bewurzelung der Sprosse in einem ½ konzentrierten MS-Medium mit 1,5 % Saccharose und 0,36 % Gelrite sowie 1 mg/l IBA und 0,1 % Aktivkohle (Abbildungen 1-3). Nach 4 Wochen wurden die bewurzelten Sprosse zur Abhärtung in das Gewächshaus transferiert und anschließend für den Feldanbau eingesetzt.



Abb. 1-3. Blattstiele als Ausgangsmaterial für die *in vitro*-Vermehrung, Beginn der Sprossbildung sowie Pflanzenbüschel für die Fortsetzung der *in vitro* Vermehrung (Fotos von links nach rechts)

Fig. 1-3. Leaf stalks as starting material for *in vitro* propagation, beginning of shoot formation as well as plant clumps for the continuation of *in vitro* propagation (photos from left to right)

Pilotanbauversuche und Übergang zum kontrollierten Anbau

Zur Durchführung von Pilotversuchen wurden die Pflanzen in Uttwil nach der bereits entwickelten *in vitro*-Methode produziert, abgehärtet und in Uttwil in Parzellen gepflanzt. Anhand des Wachstums und der Eignung für die Vermehrung erfolgte die Selektion von zwei Klonen mit den besten Eigenschaften. Die Produktion von Pflanzen aus den beiden Klonen für die Etablierung des Anbaus fand bei einem Partnerlabor statt. Die Etablierung der Produktionsflächen erfolgte an zwei Standorten in Polen und Holland in den Jahren 2016-2018 mit je ca. 1 ha pro Jahr. Die Anbaudichte lag in den Produktionsfeldern bei 100'000 Pflanzen/ha (Abbildungen 4-5).



Abb. 4-5. Produktion von *Actea racemosa* - Anbaufläche der beiden selektierten Klone aus der Etablierung im Herbst 2018 in Holland. Foto Juli 2021

Fig. 4-5. Production of *Actea racemosa* - cultivation area from the two selected clones, established in autumn 2018 in The Netherlands. Photo July 2021

In den Untersuchungen bei Max Zeller Söhne an der Wurzeldroge aus dem Anbau konnten bereits nach 2 Jahren des Anbaus Triterpenglykosid-Gehalte oberhalb der Spezifikationsgrenze von 1 % ermittelt werden. In den Versuchen an den Ernten zu verschiedenen Entwicklungsstadien zeigte sich, dass neben der Dauer des Anbaus auch der Standort und die klimatischen Verhältnisse eine wichtige Rolle bei der Ausbildung und der Zusammensetzung der Triterpenglykoside spielen. Auch der Erntezeitpunkt spielt eine Rolle bei der Bildung der Inhaltsstoffe. Zwei Jahre nach Anbaubeginn wurden die höchsten Triterpenglykosid-Gehalte bei der Ernte im Oktober festgestellt (Abbildung 6).

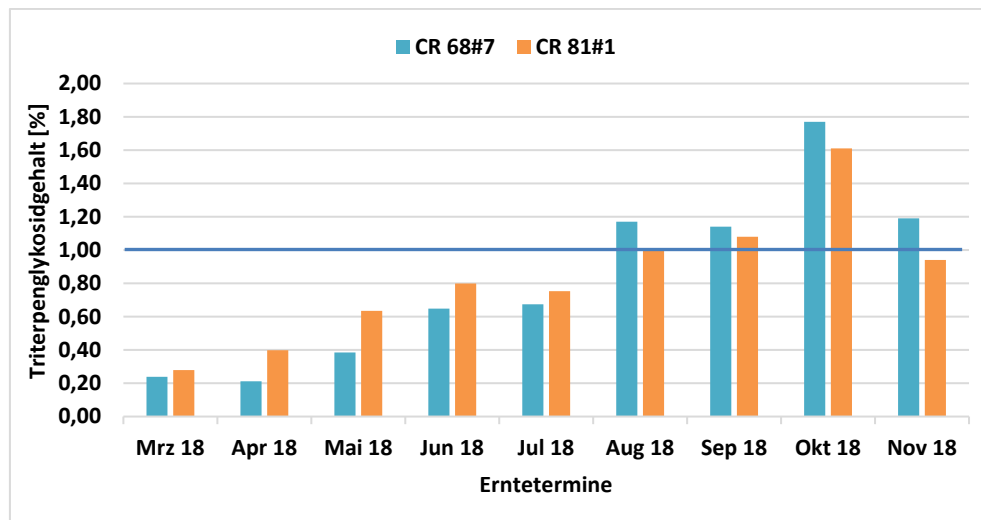


Abb. 6 Monatlich bestimmte Gehalte an Triterpenglykosiden im zweiten Anbaujahr bei den Klonen CR 68-7 und CR 81-1 aus der Etablierung im Herbst 2016 (Ph Eur-Grenze: 1 % Gesamtriterpenglykoside)

Fig. 6 Monthly determined triterpene glycoside contents in the second year of cultivation in the clones CR 68-7 and CR 81-1 from establishment in autumn 2016 (Ph Eur limit: 1 % total triterpene glycosides)

Die Wurzelерträge haben sich im Laufe des Anbaus gut entwickelt. Sie lagen bei der Ernte nach vier Jahren nach Feld-Etablierung zwischen 7,5 – 8,5 t/ha Trockensubstanz. Die zu Beginn des Anbaus verwendete hohe Anbaudichte von 100'000 Pflanzen/ha wurde später auf 75'000 Pflanzen/ha reduziert, da durch hohe Pflanzdichte kein signifikanter Anstieg der Erträge zu verzeichnen war. Auch die Etablierung der Anbaufelder mit *in vitro*-Pflanzen wechselte aus wirtschaftlichen Gründen auf die Anwendung von geteilten Pflanzen inkl. Wurzeln aus dem Feldbestand. Die Teilungsrate beträgt bei der Teilung im Durchschnitt 1:5 (Mutterpflanze zu Jungpflanze).

Literatur

Murashige, T; Skoog, F 1962: A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. 15 (3): 473–497.

Agronomische und phytochemische Charakterisierung von Brotklee-Landsorten

Agronomic and phytochemical characterization of Trigonella caerulea landraces

Manuel Pramsohler¹, Alessia Castellan¹, Mayra Galarza Pérez², Serhat S. Çiçek²

¹Versuchszentrum Laimburg, Laimburg 6 – Pfatten/Vadena, 39040 Auer/Ora, BZ, Italien

²Abteilung Pharmazeutische Biologie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Gutenbergstraße 76, 24118 Kiel, Deutschland

manuel.pramsohler@laimburg.it

DOI: 10.5073/20230821-144622-0

Zusammenfassung

Der Brotklee oder Schabziger *Trigonella caerulea* (L.) Ser. gehört zur Pflanzenfamilie der Fabaceae. Das getrocknete Kraut wird in der Alpenregion traditionell zum Würzen von Käse und Brot verwendet. Verschiedene α -Ketosäuren sind für das charakteristische Aroma verantwortlich, aber derzeit ist wenig über deren Vorkommen im getrockneten Pflanzenmaterial bekannt. Das Ziel dieser Arbeit war es, die agronomischen Eigenschaften und die Inhaltsstoffe von sieben Brotklee-Landsorten aus Südtirol (Italien) zu untersuchen. Die untersuchten Landsorten zeigten ähnliche agronomische Eigenschaften aber deutliche Unterschiede im Gehalt an α -Ketosäuren und in deren Zusammensetzung.

Stichwörter: α -Ketosäuren, pflanzengenetische Ressourcen, Schabzigerklee, *Trigonella caerulea*

Abstract

Trigonella caerulea (L.) Ser. is an annual herb that belongs to the Fabaceae plant family. The dried aerial parts of *T. caerulea* are traditionally used in the Alpine Region for flavoring cheese and bread. Different α -keto acids are considered responsible for the characteristic aroma, but at present very little is known about their quantity in the dried plant material. The aim of the present study was to analyze the agronomic traits and the phytochemical composition of seven accessions of *T. caerulea* from South Tyrol (Italy). The studied accessions showed similar agronomic traits, however differences in the overall content and composition of alpha-keto acids were found.

Keywords: α -keto acids, blue fenugreek, plant genetic resources, *Trigonella caerulea*

Einleitung

Der einjährige Brotklee *Trigonella caerulea* (L.) Ser. wird 20-100 cm hoch und besitzt eine kräftige Pfahlwurzel (Dachler & Pelzmann, 2017). Wie die meisten Kleearten hat er dreizählige Laubblätter. Die Blüten erscheinen im Zeitraum von Juni bis Juli und sind hellblau gefärbt. Die Frucht besteht aus einer eiförmigen Hülse, die Samen sind rund bis nierenförmig und in der Farbe gelbgrün bis dunkelbraun. Brotklee ist eine wärmeliebende Pflanze, die aber keine besonderen Klima- und Bodenansprüche hat (Dachler & Pelzmann, 2017). Im Alpengebiet wird das getrocknete und gemahlene Kraut als Käsegewürz für Bergkäsespezialitäten wie dem „Schabziger“ aus der Schweiz (Ney, 1986) und als Brotgewürz z.B. in Südtirol (de Rachewiltz, 1993; Rinder & Lohwasser, 2010) genutzt. Im Kaukasus werden die getrockneten Samen verwendet, sie sind Bestandteil vieler Gewürzmischungen (Dinu et al., 2013; Farag et al., 2016). Als aromarelevante Inhaltsstoffe wurden verschiedene α -Ketosäuren angegeben (Ney, 1986), diese wurden in einer aktuellen Arbeit im Detail quantifiziert (Ayvazyan et al., 2023). Über den Gesamtgehalt und die Zusammensetzung der α -Ketosäuren in verschiedenen Pflanzenherkünften

(Landsorten) ist bisher noch nichts bekannt. Das Ziel dieser Arbeit war eine agronomische Charakterisierung von sieben in Südtirol gesammelten Brotklee-Landsorten und die Analyse von α -Ketosäuren im getrockneten Pflanzenmaterial.

Material und Methoden

Das Saatgut der sieben untersuchten Brotklee-Landsorten stammt von einer Landsorten-Sammelaktion, welche im Rahmen des Interreg-Projektes „Gene-Save“ in den Jahren 2002-2004 in verschiedenen Südtiroler Gemeinden durchgeführt wurde. Die gesammelten Brotklee-Landsorten wurden zum Zeitpunkt der Sammlung zum Teil noch auf kleiner Fläche angebaut und zum Würzen von Brot verwendet. Das gesammelte Saatgut der verschiedenen Landsorten wurde in der Genbank des Versuchszentrums Laimburg (Akzessionsnummern: LTC002, LTC003, LTC004, LTC005, LTC006, LTC008, LTC009) bei -20 °C aufbewahrt. Da die verfügbaren Saatgutmengen der Landsorten gering waren, wurde der Feldversuch in Kleinparzellen angelegt. Die sieben Landsorten wurden in einer randomisierten vollständigen Blockanlage mit drei Wiederholungen am Versuchsstandort Gachhof (Meran/Labers, Provinz Bozen, Italien 46°40'01.74"N; 11°11'48,02"E) auf 620 m Meereshöhe angebaut. Die agronomische Charakterisierung wurde in den Jahren 2020 und 2021 durchgeführt. Die Jungpflanzenanzucht der Versuchspflanzen erfolgte im Gewächshaus und in beiden Versuchsjahren wurden die Pflanzen jeweils Mitte Mai ausgepflanzt. Im ersten Versuchsjahr wurden jeweils 15 Pflanzen pro Parzelle gepflanzt, im zweiten Versuchsjahr jeweils 10 Pflanzen (Pflanzabstand 15 cm, Reihenabstand 50 cm). Die Pflanzen wurden mittels Tropfbewässerung nach Bedarf mit Wasser versorgt. Das Versuchsfeld wurde nicht gedüngt und es waren keine Pflanzenschutzmaßnahmen erforderlich. Unkraut in den Parzellen wurde händisch entfernt. Es wurden die agronomischen Parameter Wuchshöhe zum Zeitpunkt der Ernte und Ertrag (Frischgewicht, Trockengewicht) erhoben. Die Ernte erfolgte zu Blühbeginn. Die Pflanzen wurden direkt nach der Ernte in einer Trocknungsanlage bei maximal 35 °C für sieben Tage getrocknet. Die statistische Auswertung der agronomischen Daten wurde mit der Software SPSS 20 mittels Varianzanalyse (Anova) durchgeführt.

Für die chemischen Analysen wurde jeweils eine Mischprobe der drei Feldwiederholungen untersucht. Die Analysen wurden an der Universität Kiel durchgeführt. Für die Bestimmung des Gehalts an α -Ketosäuren wurden 1,0 g getrocknetes und gemahlene Pflanzenmaterial durch beschleunigte Lösemittelextraktion mit n-Hexan entfettet und anschließend mit Methanol extrahiert. Die Quantifizierung erfolgte mittels UHPLC-MS/MS und Referenzstandards nach vorheriger Derivatisierung mit O-(2,3,4,5,6)-Pentafluorobenzyloxim. Es wurden jeweils drei Messwiederholungen pro Probe analysiert.

Vorläufige Ergebnisse

Hinsichtlich der agronomischen Parameter Wuchshöhe, Frischgewicht und Trockengewicht konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Landsorten festgestellt werden. Die Mittelwerte für die Wuchshöhe lagen bei 73 bis 102 cm. Es wurden, je nach Landsorte, Erträge an getrocknetem Kraut von 0,8 bis 1,3 t/ha erzielt. Die erzielten Erträge der untersuchten Landsorten waren niedriger als in der Literatur angegeben, aktuelle Herkünfte können Erträge zwischen 1,7 bis 3,4 t/ha erzielen (Dachler & Pelzmann, 2017). Da der Versuch in Kleinparzellen angelegt wurde, lassen sich die erzielten Erträge aber nur eingeschränkt auf größere Flächen übertragen. Die untersuchten Landsorten wurden traditionell nur auf sehr kleinen Flächen angebaut und es gibt keine Hinweise auf eine züchterische Bearbeitung durch die Erhalter der Landsorten. Das ist wahrscheinlich der Grund, warum die Erträge niedriger als bei aktuellen Herkünften liegen.

Die verschiedenen Landsorten zeigten deutliche Unterschiede im Gehalt an α -Ketosäuren. Während im Jahr 2020 der Gesamtgehalt an α -Ketosäuren zwischen 52 und 98 mg/kg getrocknetem Pflanzenmaterial lag (siehe Tabelle 1), betrug der Gehalt der Ernte des Jahres 2021 23 bis 71,7 mg/kg (siehe Tabelle 2), was auf einen relativen Unterschied von bis zu 300 % zwischen den verschiedenen Landsorten hinweist. Insgesamt wurden 10 verschiedene α -Ketosäuren analysiert. Die Unterschiede im Gesamtgehalt waren hauptsächlich auf die drei Hauptverbindungen Glyoxylsäure, α -Ketoglutarsäure und Brenztraubensäure zurückzuführen. Auch bei Brotkleeproben aus dem Handel konnten diese drei α -Ketosäuren als Hauptsäuren identifiziert werden (Ayvazyan et al., 2023). Die Brotkleeproben aus dem Handel zeigten Gesamtgehalte von 115 bis 185 mg/kg (Ayvazyan et al., 2023) und damit höhere Werte als die hier untersuchten Landsorten. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die sieben untersuchten Landsorten ähnliche agronomische Merkmale, aber deutliche Unterschiede im Gesamtgehalt und im Gehaltsmuster der geschmacksbestimmenden α -Ketosäuren aufwiesen.



Abb. 1. *T. caerulea* (Fabaceae) wird in der Alpenregion als Gewürz für Käse und Brot verwendet

Fig. 1. *T. caerulea* (Fabaceae) is traditionally used in the Alpine Region as a spice for cheese and bread

Tab. 1. Quantifizierung von α -Ketosäuren in getrocknetem Pflanzenmaterial der sieben untersuchten Brotklee-Landsorten (Anbaujahr 2020, mg/kg)

Tab. 1. Quantification of α -keto acids in dried plant material of the seven studied accessions of *T. caerulea* (year 2020, mg/kg)

Landsorte	Glyoxylsäure	Brenztraubensäure	α -Ketoglutarsäure	Gesamtgehalt
LTC002	49,31 \pm 2,05	5,47 \pm 0,43	29,89 \pm 0,34	88,67
LTC003	53,98 \pm 3,48	9,25 \pm 0,75	30,67 \pm 0,67	98,25
LTC004	41,30 \pm 3,56	7,47 \pm 0,41	24,02 \pm 0,89	76,04
LTC005	27,18 \pm 1,63	3,64 \pm 0,59	19,08 \pm 1,16	52,75
LTC006	31,28 \pm 2,83	1,83 \pm 0,92	18,65 \pm 0,85	52,10
LTC008	34,84 \pm 0,87	4,56 \pm 0,70	24,41 \pm 1,62	69,39
LTC009	27,87 \pm 2,22	4,30 \pm 0,37	20,29 \pm 2,08	53,61

Tab. 2. Quantifizierung von α -Ketosäuren in getrocknetem Pflanzenmaterial der sieben untersuchten Brotklee-Landsorten (Anbaujahr 2021, mg/kg)

Tab. 2. Quantification of α -keto acids in dried plant material of the seven studied accessions of *T. caerulea* (year 2021, mg/kg)

Landsorte	Glyoxylsäure	Brenztraubensäure	α -Ketoglutarsäure	Gesamtgehalt
LTC002	44,52 \pm 2,82	4,96 \pm 0,35	18,79 \pm 2,82	69,63
LTC003	47,60 \pm 2,53	4,38 \pm 0,76	18,10 \pm 2,20	71,66
LTC004	26,68 \pm 2,61	n.d.	12,86 \pm 0,91	40,74
LTC005	36,91 \pm 3,47	2,79 \pm 0,58	17,34 \pm 1,81	58,53
LTC006	40,87 \pm 3,01	1,13 \pm 0,57	13,88 \pm 1,97	58,03
LTC008	36,14 \pm 2,44	1,55 \pm 0,61	13,46 \pm 1,29	53,20
LTC009	14,79 \pm 1,57	n.d.	6,73 \pm 1,53	23,00

Literatur

- Ayvazyan, A., T. Stegemann, M. Galarza Pérez, M. Pramsöhler, S.S. Çiçek, 2023: Phytochemical Profile of *Trigonella caerulea* (Blue Fenugreek) Herb and Quantification of Aroma-Determining Constituents. *Plants*, 12, 1154, DOI: 10.3390/plants12051154.
- Dachler, M., H. Pelzmann, 2017: Arznei- und Gewürzpflanzen. Lehrbuch für Anbau, Ernte und Aufbereitung. Cadmos Verlag, München, Deutschland, 246-247.
- De Rachewiltz, S.W., 1993: Brot im südlichen Tirol. Wielander, Arunda.
- Dinu, M., R. Ancuceanu, V. Radulescu, D.C. Ilies, C. Munteanu, C. Arama, 2013: A Comparative Morphological and Chemical Study of the Seeds from *Trigonella foenum-graecum* (L.) and *T. caerulea* (L.) Ser. Species. *Farmacia*, 61, 1069-1081.
- Farag, M.A., D.M. Rasheed, M. Kropf, A.G. Heiss, 2016: Metabolite profiling in *Trigonella* seeds via UPLC-MS and GC-MS analyzed using multivariate data analyses. *Anal Bioanal Chem*, 408, 8065-8078, DOI: 10.1007/s00216-016-9910-4.
- Ney, K.H., 1986: Untersuchung des Aromas von Ziegerklee (*Coerulea mellilotus*): der Schlüsselverbindungen des Aromas von Schabzieger (Schweizer Kräuterkäse). *Gordian*, 86, 9-10.
- Rinder, R., U. Lohwasser, 2010: Arznei- und Gewürzpflanzen L-Z. Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus, Band 5. Selbstverlag des Vereins für Arznei- und Gewürzpflanzen SALUPLANTA, Bernburg, Deutschland, 446-452.

Strategien für einen erfolgreichen Anbau von Anis (*Pimpinella anisum*) in Deutschland

Strategies for successful cultivation of anise (Pimpinella anisum) in Germany

Anne-Marie Stache, Frank Marthe

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen, Erwin Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg

anne-marie.stache@julius-kuehn.de

DOI 10.5073/20230821-145751-0

Zusammenfassung

Getreide wie Weizen, Mais und Gerste werden auf mehr als 50 % der Ackerfläche in Deutschland angebaut. Diese eingeeengte Fruchtfolge hat zur Folge, dass sich Schadorganismen verstärkt vermehren und zusammen mit den Restriktionen bei den Pflanzenschutzmitteln die Bildung von Resistenzen zunehmen werden. Zusätzlich erzwingen Einschränkungen von Düngemitteln sowie der Klimawandel mit langen Hitze- und Dürreperioden ein Umdenken bei den bestehenden Anbaumethoden und -strategien. Eine Ausweitung der Fruchtfolge durch den Anbau von Kulturen verschiedener Pflanzenfamilien, die auch an die neuen Klimabedingungen angepasst sind, kann ein wichtiger Schritt sein, um diese Herausforderungen zu bewältigen.

Eine in Deutschland selten angebaute Kultur ist Anis (*Pimpinella anisum*), der wie Fenchel (*Foeniculum vulgare*) und Kümmel (*Carum carvi*) zur Familie der Apiaceen gehört und in Europa traditionell als Gewürz- und Arzneipflanze verwendet wird. In Deutschland übersteigt die hohe Nachfrage nach hochwertiger Rohware die Produktion, sodass bisher der größte Teil des in Deutschland verarbeiteten Anis aus dem Mittelmeerraum und Osteuropa importiert wird. Die traditionellen Anbauggebiete von Anis sind geprägt durch Trockenheit, Hitze und karge Böden. Aufgrund des Klimawandels, der zu immer häufiger auftretenden trockenen und heißen Sommer führt, kann sich der Anbau von Anis auch in Deutschland lohnen.

Anis ist in Deutschland eine recht neue Kultur mit einem geringen Anbauumfang (ca. 100 ha), sodass es bisher nur wenig Erfahrung mit der Kultivierung dieser Pflanze gibt. Außerdem unterscheidet sich das deutsche Klima deutlich von den traditionellen Anisanbaugebieten. Die Selektion von geeigneten Genotypen und die Optimierung der Anbaumethode ist entscheidend, um stabile Erträge und qualitativ hochwertige Produkte zu erzeugen und somit Anis als Kultur in der deutschen Agrarlandschaft zu etablieren.

In den Jahren 2021, 2022 und 2023 wurden verschiedene Feldversuche durchgeführt, um Anis-Akzessionen und -Populationen zu phänotypisieren und den Einfluss verschiedener Aussaatzeitpunkte zu untersuchen.

Um einen Eindruck von den vorhandenen Genotypen zu erhalten, wurden Anis-Akzessionen aus der Genbank (IPK Gatersleben) sowie Populationen von Saatzuchtfirmen und Landwirten in einem mehrjährigen Feldversuch an zwei Standorten (JKI Quedlinburg; Universität Bonn, Campus Klein Altendorf) charakterisiert. Dabei wurden verschiedenste Entwicklungs-, Ertrags- und Qualitätsparameter erfasst. Ein besonderes Augenmerk lag dabei auf dem Gehalt des ätherischen Öles. Dieser muss bei einer angestrebten medizinischen Verwendung des Anis mehr als 2 ml/100g Anisfrüchte betragen.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass die geprüften Genotypen sich nicht sehr stark in den untersuchten Merkmalen voneinander unterscheiden. Der geforderte Ätherischölgehalt wurde von allen Akzessionen erreicht. Jedoch haben die Jahre und die Standorte einen großen Einfluss auf die Entwicklung und den Ätherischölgehalt. Insbesondere der stark auftretende Trockenstress in 2022 führte zu erhöhten Konzentrationen. Erste populationsgenetische Untersuchungen unterstützen diese Beobachtung. Das genotypisierte Sortiment (GBS) hat eine geringe genetische Varianz. Um Selektieren und züchterisch Arbeiten zu können, bedarf es daher einer Vergrößerung des Genpools.

Der erfolgreiche Anbau von Anis wird maßgeblich durch eine gelungene Etablierung eines guten Bestandes im Feld beeinflusst. Deshalb ist der optimale Aussaatzeitpunkt ein entscheidender Faktor. In einem dreijährigen Feldversuch wurde getestet, wie der Aussaatzeitpunkt die Entwicklungs- und Ertragsmerkmale beeinflusst. Es konnte gezeigt werden, dass eine frühe Aussaat (März, April) zu höheren Keimraten und gleichmäßig entwickelten Beständen führt. Auftretende Spätfröste zeigten keinen negativen Effekt auf die Jungpflanzen. Aufgrund der auftretenden Frühjahrs- und Sommertrockenheit konnten bei den später durchgeführten Aussaaten nur lückenhafte, ungleichmäßige Bestände dokumentiert werden. Auch eine frühe Blüte und Abreife sind vorteilhaft, da die meist im Spätsommer auftretenden Niederschläge verbunden mit niedrigen Temperaturen den Ertrag und die Qualität stark beeinträchtigen können.

Um Anis erfolgreich als weitere Kultur in Deutschland etablieren zu können, um sowohl die Agrarbioidiversität als auch die Produktion von hochwertiger Rohware zu erhöhen, ist sowohl eine Entwicklung von angepassten Genotypen als auch eine Optimierung der Anbaumethodik unerlässlich.

Stichwörter: Anis, *Pimpinella anisum*, Phänotypisierung, Anbau, Aussaat

Abstract

Cereals such as wheat, maize and barley are grown on more than 50 % of the arable land in Germany. This restricted crop rotation means that harmful organisms will multiply more and, together with the restrictions on plant protection products, the formation of resistances will increase. In addition, restrictions on fertilisers and climate change with long periods of heat and drought are forcing a rethink of existing cultivation methods and strategies. Expanding crop rotation by growing crops from different plant families that are also adapted to the new climate conditions can be an important step in meeting these challenges.

One crop rarely grown in Germany is anise (*Pimpinella anisum*), which, like fennel (*Foeniculum vulgare*) and caraway (*Carum carvi*), belongs to the Apiaceae family and is traditionally used as a spice and medicinal plant in Europe. In Germany, the high demand for high-quality raw material exceeds production, so that so far most of the anise seed processed in Germany has been imported from the Mediterranean region and Eastern Europe. The traditional cultivation areas for anise are characterised by drought, heat and poor soils. Due to climate change, which is leading to increasingly frequent dry and hot summers, the cultivation of anise may also be worthwhile in Germany.

Anise is a fairly new crop in Germany with a small cultivation area (about 100 ha), so there is little experience with the cultivation of this plant so far. In addition, the German climate differs significantly from the traditional anise cultivation areas. The selection of suitable genotypes and the optimisation of the cultivation method is crucial to produce stable yields and high-quality products and thus to establish anise as a crop in the German agricultural landscape.

In 2021, 2022 and 2023, various field trials were conducted to phenotype anise accessions and populations and to investigate the influence of different sowing dates.

In order to get an impression of the existing genotypes, anise accessions from the gene bank (IPK Gatersleben) as well as populations from seed breeding companies and farmers were characterised in a field trial lasting several years at two locations (JKI Quedlinburg; University of Bonn, Campus Klein Altendorf). A wide range of development, yield and quality parameters were recorded. Special attention was paid to the content of essential oil. If anise is to be used medicinally, this must be more than 2 ml/100 g of anise fruit.

The results so far show that the genotypes tested did not differ very much from each other in the characteristics studied. The required essential oil content was achieved by all accessions. However, the years and the locations have a great influence on the development and the essential oil content. In particular, the strong drought stress in 2022 led to increased contents. Initial population genetic studies support this observation. The genotyped assortment (GBS) has a low genetic variance. In order to be able to select and breed, it is therefore necessary to increase the gene pool.

The successful cultivation of anise is significantly influenced by the successful establishment of a good stand in the field. Therefore, the optimal sowing time is a decisive factor. In a three-year field trial, it was tested how the sowing time influences the development and yield characteristics. It was shown that early sowing (March, April) leads to higher germination rates and uniformly developed stands. Late frosts had no negative effect on the young plants. Due to the occurrence of spring and summer drought, only patchy, uneven stands could be documented in the later sowings. Early flowering and ripening are also advantageous, as the precipitation that usually occurs in late summer combined with low temperatures can have a strong negative effect on yield and quality.

In order to successfully establish anise as another crop in Germany, to increase both agricultural biodiversity and the production of high-quality raw material, both the development of adapted genotypes and the optimisation of cultivation methods are essential.

Keywords: Anise, *Pimpinella anisum*, phenotyping, cultivation, sowing

Posterbeitrag zum Themenkreis: Geschützter Anbau

***Rhodiola rosea*: Potenzial des Anbaus in einem vertikalen Indoor Farming System zur Verbesserung der Produktion bioaktiver Substanzen**

Rhodiola rosea potential of cultivation in an indoor vertical farming system enhancing the production of bioactive substance

Eleonora Itri¹, Alexandra Stabl², Sabine Wittmann¹, Ivonne Jüttner¹, Sabine Grüner-Lempart², Heike Mempel¹

¹University of Applied Sciences Weihenstephan-Triesdorf, Applied Science Centre (ASC) for Smart Indoor Farming, Am Staudengarten 10, 85354 Freising, Germany

²University of Applied Sciences Weihenstephan-Triesdorf, Department of Bioengineering Sciences, Am Hofgarten 10, 85354 Freising, Germany

eleonora.itri@hswt.de

DOI: 10.5073/20230821-150501-0

Zusammenfassung

Rhodiola rosea ist eine mehrjährige Heilpflanze, deren Wurzeln für die Pharmaindustrie bedeutsame Wirkstoffe enthält. Im Rahmen des Projekts "Aufbau eines Forschungsschwerpunkts Indoor Farming" forschen die Fachbereiche Gartenbau und Biotechnologie der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf gemeinsam an einer optimierten Kultivierung und der Nutzung des pflanzlichen Rohstoffes. Dabei steht insbesondere die Inkulturnahme von *Rhodiola rosea* in das hydroponische Kulturverfahren einer Indoor Vertical Farm im Vordergrund. Die erfolgreiche Inkulturnahme von *Rhodiola rosea* in den zwei unterschiedlichen Bewässerungssystemen, Deep Water und Aeroponik, lieferte erste Erkenntnisse hinsichtlich potenzieller Erträge in Indoor Vertical Farmen und ermöglicht fortlaufende Untersuchungen zur Identifikation einer angepassten Kulturführung. Für die chemische Analyse der Sekundärmetaboliten erfolgte eine Anpassung der Extraktionsmethode für Salidroside, Rosavine und Tyrosol. Die Untersuchungen zu den Gehalten an Sekundärmetaboliten aus dem Feldanbau wurden an Modell-Pflanzenmaterial unterschiedlichen Alters durchgeführt. Hierfür wurden sowohl oberirdische als auch unterirdische Pflanzenteile miteinbezogen. Im mehrlagigen Indoor Farming System lag die Trockenmasse der jungen *Rhodiola*-Pflanzen nach 63 Tagen Kulturzeit bei $1,54 \pm 0,77$ g/Pflanze im Deep Water System und bei $0,91 \pm 0,35$ g/Pflanze im Aeroponischen System. In zukünftigen Versuchen sollen sowohl das Aeroponische System als auch die Einflüsse einer Indoor Vertical Farm auf die Produktion von Sekundärmetaboliten näher betrachtet werden. Diese und folgende Ergebnisse bilden die Basis für die Optimierung der Herstellung von *Rhodiola rosea* Produkten.

Keywords: *Rhodiola rosea*, Indoor Vertical Farming, Sekundärmetabolite, Gartenbau, Biotechnologie, Salidroside, Rosavine.

Abstract

Rhodiola rosea is a perennial medicinal plant whose roots contain active ingredients that are of special interest to the pharmaceutical industry. As part of the project "Establishment of a research focus on indoor farming", horticulturists and biotechnologists at the University of Applied Sciences Weihenstephan-Triesdorf conduct joint research with an overall aim to optimize plant cultivation and a

holistic use of all plant raw materials. In particular, the focus is on the incultivation of *Rhodiola rosea* in the hydroponic cultivation systems of an indoor vertical farm. The successful cultivation of *Rhodiola rosea* in deep water and aeroponic as hydroponic systems, provided first insights regarding potential yields that can be reached in an indoor vertical farm as well as valuable data for the ongoing investigations to identify an adapted culture management. For the chemical analysis of secondary metabolites, an existing extraction method was adjusted for salidroside, rosavine and tyrosol. The investigations on the contents of secondary metabolites from field cultivation were carried out on model plant material. For this purpose, both above-ground and below-ground plant parts were included. In the multilayer indoor farming system, the dry weight of the *Rhodiola rosea* plants was 1.54 ± 0.77 g/plant in the deep water system and 0.91 ± 0.35 g/plant in the aeroponic system after a cultivation time of 63 days. In future trials, both the aeroponic system and the influences of an indoor vertical farm on secondary metabolite production will be considered in more detail. These and the following results will form the basis for optimizing the production of *Rhodiola rosea* products.

Keywords: *Rhodiola rosea*, indoor vertical farming, secondary metabolites, horticulture, biotechnology, salidroside, rosavins.

Introduction

Vertical farms are capable of cultivating crops on multiple layers and achieving high crop productivity and uniformity, without the need of crop protection chemicals (Carotti et al., 2021). Indoor vertical farming permits plant production in a completely closed environment that is isolated from external weather conditions, including sunlight. Instead of sunlight, artificial lights provide the energy needed for plant-photosynthesis (Mempel et al., 2021). This cultivation system allows the possibility to achieve high yield with a very small cultivation area while recreating the optimal growth conditions for the specific plant characteristics. The advantage of constant and controllable weather conditions in an indoor vertical farming system is to avoid negative effects of possible harmful climatic events, which are very common in open field systems, on the harvest and profit. Moreover, indoor vertical farming offers great opportunities for a consistent and sustainable production of plant raw materials all year round for the pharmaceutical, cosmetic and food industry (Wittmann et al., 2020). The main constraints of this system are the high costs that derive from the energy usage related to the level of technology adopted. One of the ways to make indoor vertical farming profitable is by cultivating high value, high yield plants. *Rhodiola rosea*, also known as “golden root” or “roseroot” naturally stores salidroside and rosavins in its roots that are of great interest for the pharmaceutical industry. Roseroot is a perennial plant that can reach a height of 36-70 cm and usually produces yellow blossoms (Brown et al., 2002). In its natural habitat, roseroot grows on poor soil and on rocks covered with a very thin layer of soil (Galambosi et al., 2014). This aspect combined with the plant morphology makes *Rhodiola rosea* very appealing for a soilless cultivation in an indoor vertical farming system. It has always been used as a medicinal plant but only in the last decades with newly developed methods of analysis, it was demonstrated that *Rhodiola rosea* root contains three cinnamyl alcohol-vicianosides (rosavin, rosin and rosarin) that are specific to this species (Dubichev et al., 1991). These secondary metabolites give *Rhodiola rosea* the property of having beneficial effects against pain, headache, haemorrhoids, an anti-inflammatory effect and also the possibility to be used as a stimulant to improve concentration (Panossian et al., 2010). Because of these characteristics, the presence of *Rhodiola rosea* in its natural environment has been threatened by wild harvesting and for this reason it entered in the Red List of endangered species in many countries (Howes et al., 2020). The plant grows naturally in Russia, Scandinavia, European Alpine and Carpathian Mountains, and the main techniques for cultivating *Rhodiola rosea* have been reviewed (Galambosi et

al., 2014). Table 1 reassumed the main research done on the cultivation systems adopted in Europe and the relative results of the secondary metabolites, salidroside and total rosavins content (in % of dry mass). From the table it is deduced that the main cultivation system adopted in Europe is the open field cultivation. The cultivation areas in all European countries remain small, estimated totally about 8–12 (Galambosi et al., 2014). A study done in Norway documented a main influence of the chemical composition in *Rhodiola rosea* by genetic factors, temperature and day length (Thomsen et al., 2011). Another study demonstrated noticeable differences in the salidroside and total rosavin content of *Rhodiola rosea* cultivated in ten different habitats of one area of between 0.46 to 2.61 % and 0.67 to 2.7 % (György et al., 2013). The identification of optimal growing condition for *Rhodiola rosea* in an indoor vertical farm would allow to continuously ensure the optimal concentrations of secondary metabolites. In addition, *Rhodiola rosea* roots being consistently damaged from the harvest represent a consistent loss after several years of cultivation and a critical issue of open field production (Galambosi et al., 2007). The challenge of commercially cultivating this plant at significantly higher levels in order to meet the existing global demand (Brinckmann et al., 2021), could be overcome by adopting indoor vertical farming systems.

The aim of our study was to investigate the effect of a soilless, hydroponic cultivation on *Rhodiola rosea* in an indoor vertical farm system. Furthermore the extraction method of secondary metabolites was adjusted for later trials by using model plant materials from field cultivation. This study results will be used during the project to further investigate and increase secondary metabolites of *Rhodiola rosea* in indoor vertical farming hydroponic cultivation.

Tab. 1. zeigt Ergebnisse aus der Literatur zum Anbau von *Rhodiola rosea*; (g) = Trockenmasse in Gramm/Pflanze, (%) = Gehalt in der Trockenmasse in Prozent, ns= nicht untersucht, // = keine Unterscheidung zwischen Rhizom- und Wurzelmasse

Tab. 1. shows results from the literature of *Rhodiola rosea* cultivation; (g) = grams of dry mass/plant, (%) = content in the dry mass as percentage, ns = not studied, // = no distinction between rhizome and roots mass

Cult. system	Time	Country	Rhizome dry mass (g)	Roots dry mass (g)	Salidroside (%)	Total rosavins (%)	Literature
Natural env.	Diff. age	Finland	ns	51.37	1.73	2.02	(Galambosi et al., 2007)
field	5 years		ns	165.37	0.8	1.61	
field	4 years	Finland	147.9	63.71	0.35	1.28	(Galambosi et al., 2009)
field	3 years		58.05	32	0.866	2.24	
field	2 years	Norway	ns	ns	ns	4.78	(Thomsen et al., 2011)
Natural env.	Diff. age	Norway	ns	ns	1.54	1.69	(György et al., 2013)
field	5 years	Italy	ns	132.5	1.10	1.03	(Scartezzini et al., 2011)
field	5 years		ns	84	0.83	1.03	
field	3 years	Italy	ns	ns	0.558	1.65	(Egger et al., 2007)
field	5 years	Poland	120.4	//	0.462	3.61	(Węglarz et al., 2008)
field	3 years		27.3	//	0.259	3.03	

field	Diff. age	Poland	ns	ns	0.141	3.65	(Altantsetseg et al., 2007)
field	2 years	Bulgaria	ns	ns	0.85	ns	(Bozhilova et al., 2010)
field	3 years		ns	ns	1.10	ns	
field	3 years	Bulgaria	71.35	7.95	2.15	ns	(Platikanov et al., 2008)
Natural env.	Diff. age	Mongolia	17.64	//	0.469	1.00	(Magsar et al., 2011)
photo culture	135 days	Russia	2.3	ns	0.5	ns	(Kovaleva et al., 2003)
	245 days		10.5	ns	1.2	ns	
Natural env.	Diff. age	Russia	62.7	//	1.44	2.50	(Galambosi et al., 2015)
field	6 years		112.7	ns	1.24	2.22	
field	10 years		174.5	ns	1.30	1.44	

Material and methods

Cultivation trial in the indoor vertical farm

The plant material was taken from six months old *Rhodiola rosea* plants. At the Applied Science Centre for Smart Indoor Farming, the plants were washed and a random sample of 144 seedlings was chosen for the trial. The trial took place in a climate chamber equipped with two levels. On the top level an aeroponic irrigation system and on the level below a deep-water irrigation system was used (Fig. 1). Three euro-stacking boxes (0.6 x 0.4 x 0.22 m) were adjusted for each irrigation system and a plant density of 100 plants per m² was used. The nutrient solution was taken from a previously plant trial with *Rhodiola rosea* in a closed system (Jüttner et al. 2023), which presented the following amounts of nutrients: 11.75 mmol l⁻¹ N-NO³⁻, 1,25 mmol l⁻¹ P, 6.5 mmol l⁻¹ K, 1 mmol l⁻¹ Mg, 2.75 mmol l⁻¹ Ca, 1.5 mmol l⁻¹ S, 20 µmol l⁻¹ Fe, 10 µmol l⁻¹ Mn, 20 µmol l⁻¹ B, 0.5 µmol l⁻¹ Mo, 0.5 µmol l⁻¹ Cu and 1 µmol l⁻¹ Zn. The electrical conductivity (EC) and the pH was checked every week in order to reach a target EC of 1.5 mS/cm and a pH of 5.5 - 6. The average air temperature of the system during the trial was 20.5 ± 0.6 °C, with a relative humidity of 78.7 ± 8.8 %. As light source 5 LED modules (L-series NS12, Valoya, Sweden) per level with a light intensity of 190 ± 50 µmol m⁻² s⁻¹ and a photoperiod of 16 h was used. Three different plants holding systems (cone collars) were used instead of a substrate. They differed from each other in material (neoprene and foam) and shape (circular or clips). Before the cultivation started a sample of young plants at a similar morphological stage was randomly chosen and fresh mass of the whole plant weighed respectively. The average fresh weight of 1.15 ± 0.42 g was used as comparison for total plant weight increase. The cultivation in the indoor vertical farm was successful and lasted for 63 days in total. A sample of 5 plants in each box was harvested and averaged, which served as one repetition. In total 15 plants per treatment were analysed in 3 repetitions. Every sample plant was analysed regarding fresh mass and dry mass of stems, rhizome and roots. The drying process was done in a drying oven (Memmert UN750plus), set at a temperature of 60 °C for 4 days.

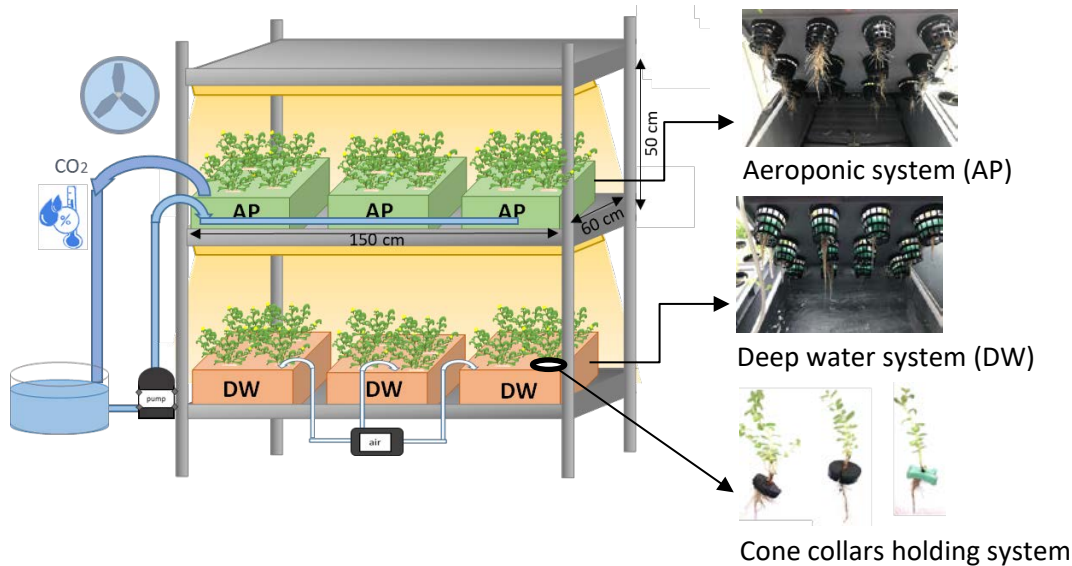


Abb. 1. Links eine Darstellung des technischen Aufbaus der vertikalen Indoor Vertical Farm für den Anbau von *Rhodiola rosea*. Rechts von oben das aeroponische Bewässerungssystem, das Deep Water System sowie die drei Haltesysteme (cone collars)

Fig. 1. On the left a representation of the indoor vertical farm's technical set up adopted for *Rhodiola rosea* cultivation. On the right from above a picture of the aeroponic irrigation system, the deep water irrigation system as well as the holding support system (cone collars)

Extraction of secondary metabolites from *Rhodiola rosea* plants

Preparation of the plants for the extraction

The model plants which were analysed came from field cultivation of a farmer specialised in *Rhodiola rosea* production in Thuringia. The plants were harvested in summer 2021 and came from different cultivation years, here described as cultivation year 1 to 4. The youngest plants were harvested after one year of cultivation (year 1) and the oldest plants were harvested after four years of cultivation (year 4). First, the harvested plants were cleaned of excess soil and washed with tap water. Then the plants were divided into their individual components: leaf and stem, rhizome, rhizome shell, roots and fine roots. The fractions were dried in a convection dryer at 60 °C for 61 h, followed by additional 28 h at 40 °C (Fig 2).



Abb. 2. links) Pflanze aufgeteilt in Blätter, Knospen, Rhizom, Wurzeln, Feinwurzeln sowie Rhizomschalen. Rechts) Pflanzenteile im Konvektionstrockner

Fig 2. Left) Plant organs leaves, buds, rhizome, roots, fine roots and rhizome shells. Right) Plant parts in convection dryer

The dried plant parts were shrink-wrapped and stored at 7 °C in a refrigerator, until further processing. For the subsequent determination of the active ingredient content, the plant parts were grinded for 20 seconds at 30 Hz using a ball mill (Retsch GmbH MM 400). The obtained powder was stored in the refrigerator at approximately 7 °C until extraction. For the extraction two sample plants per year were used. The fresh mass of the plants are shown in table 2.

Tab. 2. Frischmasse der Pflanzenteile in Gramm aus den 4 Anbaujahren

Tab. 2. *Fresh mass in gram of the plant parts in 4 years of field cultivation*

	fresh mass (g) year 1	fresh mass (g) year 2	fresh mass (g) year 3	fresh mass (g) year 4
roots	7.41	26.59	24.04	37.08
fine roots	11.95	15.20	18.62	15.10
rhizom	11.53	14.39	20.08	29.06
rhizom shells	10.14	12.94	21.80	19.81
leaves and buds	8.76	9.58	16.74	13.91

Extraction and measurement of the active ingredients with UV-HPLC

The method used was adapted from Ganzera et al. (2001). The detected substances were: salidroside, tyrosol, rosin, rosavin and rosin. 150 mg of the grinded plant parts (by the measurement of the particle-size distribution an average median value of $x_{50} = 557.5 \pm 10.6 \mu\text{m}$ was obtained) were added to an Erlenmeyer flask with 450 μl of methanol (analytical grade), which was then placed in an ultrasonic bath (frequency: 35 kHz) for 10 minutes. After subsequent transfer to a suitable centrifuge tube, the mixture was centrifuged at 3500 rpm (781 G) for 5 minutes. For this the centrifuge from Heraeus Sepatech Biofuge A was used. The supernatant was removed and transferred to a 25 ml volumetric flask. The residue was again mixed with 450 μl methanol. This procedure was performed three times. Then 25 ml volumetric flask was filled with methanol up to the calibration mark. The solution was measured using an HPLC with UV detector from VWR Hitachi Chromaster at a wavelength of 205 nm, a high pressure double piston pump from VWR Hitachi Chromaster and a column from Agilent (ZORBAX Eclipse XDB-C18; 4.6 x 150 mm) with a pore size of 5 μm and a suitable precolumn. The flow rate used was 1.0 ml/min and the injection volume was 10 μl (Meyer et al., 2009). As a reference a standard solution with the 5 compounds (salidroside, tyrosol, rosin, rosavin and rosin) from PhytoLab GmbH & Co. KG was used (7.9 $\mu\text{g/ml}$ salidroside, 7.6 $\mu\text{g/ml}$ tyrosol, 6.1 $\mu\text{g/ml}$ rosin, 6.4 $\mu\text{g/ml}$ rosavin, 6.2 $\mu\text{g/ml}$ rosin). For the extraction a representative sample of 150 mg was taken by using a Cross plate division. The extract was measured 3 times with the HPLC.

Results and discussion

Cultivation results from the indoor vertical farm

The average final fresh weight in the aeroponic system was $10.53 \pm 5.68 \text{ g/plant}$, meanwhile in the deep water system it was slightly higher at $11.37 \pm 7.18 \text{ g/plant}$. The weight distribution between the plants organs was similar in the two systems except for the rhizome that, on average, developed more in the deep water system reaching 1.98 g/plant compared to 0.94 g/plant in the aeroponic system (see Fig. 3). This difference can be explained by the intrinsic properties of the aeroponic system, since during this trial the plants were hanging without any substrate, just held by cone collars, and so they have been subjected to a greater force of gravity with respect to the plants in the deep water system (Gopinath et al., 2017).

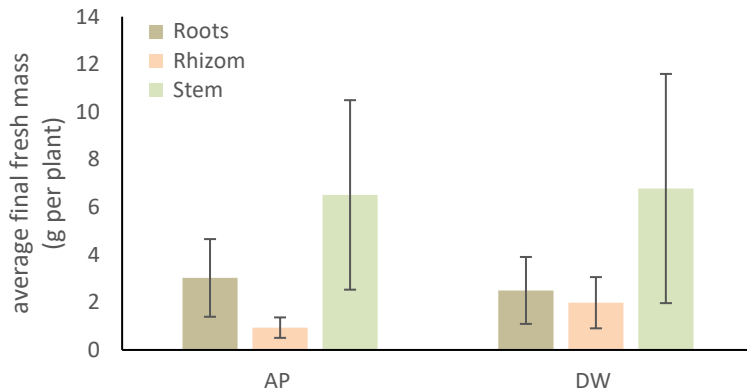


Abb 3. Frischmasse (g/Pflanze) von *Rhodiola rosea* Pflanzen, aufgeteilt in ihre Organe nach 63 Tagen Anbau in einem vertikalen Anbausystem mit verschiedenen Bewässerungsverfahren Aeroponik (AP) und Deep Water (DW)

Fig 3. Final fresh mass (g/plant) of *Rhodiola rosea* plants divided in their organs after 63 days of cultivation in a vertical farming setup. Two irrigation systems were adopted: the aeroponic (AP) and deep water (DW)

Subsequently, the average total final dry mass per plant in the aeroponic system was 0.91 ± 0.35 g/plant and in the deep water system was 1.54 ± 0.77 g/plant. In our case the average dry rhizome weight after 63 cultivation days was 0.20 ± 0.9 g/plant in the aeroponic system and 0.67 ± 0.33 g/plant in the deep water system (see Fig. 4). The generally lower values obtained with the aeroponic system can be explained with the same reasoning as before and with the higher complexity that the usage of this system implies. These results are in line with another study done on *Rhodiola rosea* in a closed system regarding the overall growth of the plants (Kovaleva et al., 2003).

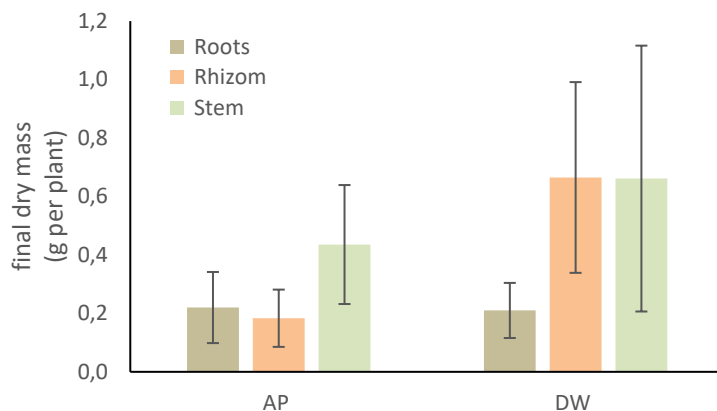


Abb. 4. Trockenmasse (g/Pflanze) von *Rhodiola rosea* Pflanzen, aufgeteilt in ihre Organe nach 63 Tagen Anbau in einem vertikalen Anbausystem mit verschiedenen Bewässerungsverfahren Aeroponik (AP) und Deep Water (DW)

Fig. 4. Final dry mass (g/plant) of *Rhodiola rosea* plants divided into their organs after 63 days of cultivation in a vertical farming setup. Two irrigation systems were tested: the aeroponic (AP) and deep water (DW)

Rhodiola rosea yield potential in indoor vertical farm

According to a statement of a specialist for *Rhodiola rosea* cultivation in the open field in Germany, indoor vertical farming production would need to reach a yield increase of 10 to 40 times compared to his current yield of 3-5 t/ha (dry weight of the roots) to be an alternative ready for application. In our experiment an annual yield of 37.45 g/m^2 , based on the yield obtained after 63 days, was calculated. Even though these results are still low, according to the literature the usage of indoor vertical farming can increase the yield of plants per square meter compared to field production (van Delden et al., 2021). This could be done by an optimization of climatization conditions, higher light intensities, the use

of hydroponic and by having the possibility to cultivate year-round with optimal conditions. Accordingly, indoor vertical farming can reduce the cultivation time of several crops (van Delden et al., 2021). Based on this, a potential yield of 1 t/ha could be reached after 12 weeks at a plant density of 50 plants/m² in indoor vertical farming (Jüttner et al., 2023). Further research is needed to develop climate strategies which increase yields per square meter while reducing the cultivation time. Furthermore, the quality of secondary metabolites must be continuously monitored. In this regard, applying specifically adjusted light strategies can influence secondary metabolites accumulation, as verified for different plants (Loconsole et al., 2021). Based on this, the potential to reach a yield increase of up to 10 to 40 times per square meter seems feasible. Consequently, the use of a multilayer system in indoor vertical farming can significantly increase yield potential further.

Content of secondary metabolites in *Rhodiola rosea* coming from the field Results of the active ingredient ratio inside the different plants organs

The plants were evaluated in regards of how the active ingredient content changes over the time of cultivation and in the different plant parts. The individual active ingredients salidroside, tyrosol and the rosavins (rosarin, rosavin, rosin) were analyzed. In Figure 5, the proportions of the total active ingredients extracted are presented in relation to the dry mass of the individual plant parts are plotted in % over the 4 years of cultivation. There was a tendency that the content of salidroside increases over the cultivation years, while the content of rosavins tends to decrease over the cultivation years (data not shown).

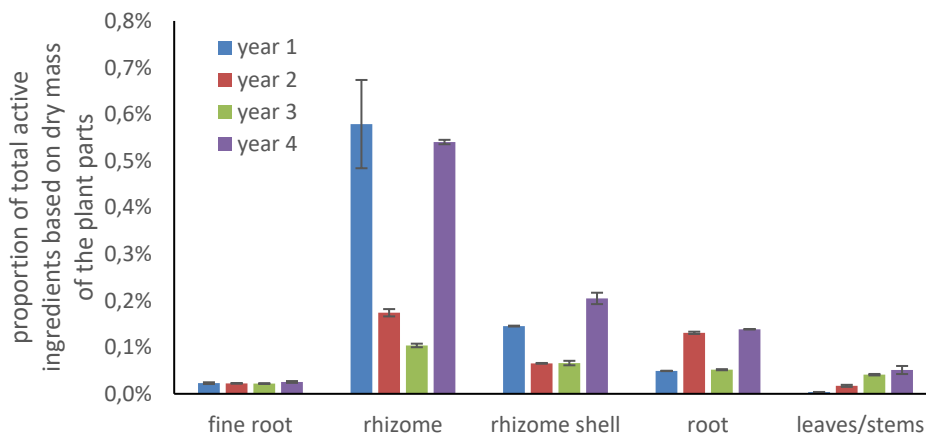


Abb. 5. Anteil der Gesamtwirkstoffe bezogen auf die Trockenmasse der Pflanzenteile in % über 4 Jahre Feldanbau, Wiederholung der HPLC-UV-Messung n=3, 2 Pflanzen

Fig. 5. Proportion of total active ingredients based on dry mass of the plant parts in % over 4 years of field cultivation, repeat of the hplc-uv-determination n=3, 2 plants

Within the plant components, active compounds were found in all parts, but mostly in the rhizome, followed by the root on a dry weight basis. This indicates that the entire plant can be used for active ingredient extraction. In order to have more consistent data more trials will be carried out.

Conclusion and future further steps

Critical initial steps have been achieved regarding *Rhodiola rosea* cultivation in an indoor vertical farm and a defined methodology for the secondary metabolite extraction has been tested and delineated. The method will be used in the next trials on plants cultivated in the indoor vertical farm. In particular, the fact that a high concentration of secondary metabolites, from *Rhodiola rosea* cultivation on the field, has been found already in the first year makes it possible to suppose that the life cycle of this

perennial plant can be optimized in a shorter period. In the next steps, we will also consider the legal requirements for pharmaceutical production that at the moment would prevent the market production in indoor vertical farming systems. However, in the future new production systems will be necessary to fulfil the demand of pharmaceutical material and at the same time prevent the wild harvesting. Indoor vertical farming constitutes the optimal system to experiment different environmental conditions that can stimulate the active ingredients development in the plant organs. Regarding that, the focus on the optimal growth of roots and rhizome is going to be investigated further, considering different specific parameters like root temperature, a new sustainable cultivation system and also the possibility to provide beneficial bacteria to the underground part of the plant (Lee et al., 2015). Alongside, the influence of different cultivation parameters will be checked to identify how they act as stressors for increasing secondary metabolites accumulation. At the same time, the currently used aeroponic irrigation systems will be used again and optimized regarding the type of nozzles and the time of irrigation. On the other hand, the deep water system confirmed, to have high potential for the *Rhodiola rosea* cultivation.

Acknowledgement

The authors thank the Bavarian State Ministry for Science and Art for providing funds for the project that finance the experiments conducted.

Literature

- Altantsetseg, K., Przybył, J. L., Węglarz, Z., & Geszprych, A., 2007: Content of biologically active compounds in roseroot (*Rhodiola* sp.) raw material of different derivation. *Herba Polonica Journal*, 53 (4), 20-26.
- Bozhilova, M., 2011: Salidroside content in *Rhodiola rosea* L., dynamics and variability. *Botanica Serbica*, 35 (1), 67-70.
- Brinckmann, J. A., Cunningham, A. B., & Harter, D. E., 2021: Running out of time to smell the roseroots: Reviewing threats and trade in wild *Rhodiola rosea* L.. *Journal of Ethnopharmacology*, 269, 113710. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113710.
- Brown, R. P., Gerbarg, P. L., & Ramazanov, Z., 2002: *Rhodiola rosea*. A phytomedicinal overview. *HerbalGram*, 56, 40-52.
- Carotti, L., Graamans, L., Puksic, F., Butturini, M., Meinen, E., Heuvelink, E., & Stanghellini, C., 2021: Plant factories are heating up: Hunting for the best combination of light intensity, air temperature and root-zone temperature in lettuce production. *Frontiers in plant science*, 11, 592171.
- Dubichev, A.G., Kurkin, V.A., Zapesochnaya, G.G. et al., 1991: Chemical composition of the rhizomes of the *Rhodiola rosea* by the HPLC method. *Chemistry of Natural Compounds*, 27(4), 161–164, DOI: 10.1007/BF00629750.
- Egger, P., D'Ambrosio, M., Aiello, N., Contrini, C., Fusani, P., Scartezzini, F., & Vender, C., 2007: Active constituents profiling of *Rhodiola rosea* L. *Planta Medica*, 73 (09), 269.
- Galambosi, B., & Slacanin, I., 2007: Comparison of natural and cultivated roseroot (*Rhodiola rosea* L.) roots in Finland. *Z. Arznei-Gewürzpfla*, 12 (3), 141-147.
- Galambosi, B., Galambosi, Z., Uusitalo, M., & Heinonen, A., 2009: Effects of plant sex on the biomass production and secondary metabolites in roseroot (*Rhodiola rosea* L.) from the aspect of cultivation. *Zeitschrift für Arznei- & Gewürzpflanzen*, 14 (3), 114-121.
- Galambosi, B., 2014: Cultivation of *Rhodiola rosea* in Europe - *Rhodiola rosea*. CRC Press, Taylor & Francis Group, p. 87-124.

- Galambosi, B., & Galambosi, Z., 2015: Biomass and quality of natural and cultivated roseroot *Rhodiola rosea* L. originated from North Lapland. University of Helsinki. Accessed: 16. April 2023, URL: <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/243252/Kilpisjarvi%20Notes%2025%202015%20screen.pdf?sequence=1>.
- Ganzera, M., Yayla, Y., & Khan, I., 2001: Analysis of the Marker Compounds of *Rhodiola rosea* L. (Golden root) by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. *Chemical and pharmaceutical Bulletin*, 49 (4), 465-467.
- Gopinath, P., Vethamoni, P. I., & Gomathi, M., 2017: Aeroponics soilless cultivation system for vegetable crops. *Chemical Science Review and Letters*, 6 (22), 838-849.
- György, Z., Fjellidal, E., Ladányi, M., Aspholm, P. E., & Pedryc, A., 2013: Genetic diversity of roseroot (*Rhodiola rosea*) in North-Norway. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50, 361-367.
- Howes, M. J. R., Quave, C. L., Collemare, J., Tatsis, E. C., Twilley, D., Lulekal, E., ... & Nic Lughadha, E., 2020: Molecules from nature: Reconciling biodiversity conservation and global healthcare imperatives for sustainable use of medicinal plants and fungi. *Plants, People, Planet*, 2 (5), 463-481.
- Jüttner, I., Mauser, N., Wittmann, S., Itri, E. and Mempel, H. (2023). Development of an indoor farming cultivation process for *Rhodiola rosea*, using an aeroponic and deep water irrigation method. *Acta Hort.* 1369, 165-170, DOI: 10.17660/ActaHortic.2023.1369.20.
- Kovaleva, N. P., Tikhomirov, A. A., & Dolgushev, V. A., 2003: Specific characteristics of *Rhodiola rosea* growth and development under the photoculture conditions. *Russian journal of plant physiology*, 50, 527-531.
- Kurkin, V. A., Zapesochnaya, G. G., Dubichev, A. G., Vorontsov, E. D., Aleksandrova, I. V., & Panova, R. V., 1991: Phenylpropanoids of a callus culture of *Rhodiola rosea*. *Chemistry of Natural Compounds*, 27, 419-425.
- Lee, S., & Lee, J., 2015: Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: Types and characteristics of hydroponic food production methods. *Scientia Horticulturae*, 195, 206-215.
- Loconsole, D., & Santamaria, P. (2021). UV lighting in horticulture: A sustainable tool for improving production quality and food safety. *Horticulturae*, 7(1), 9.
- Magsar, J., Sharkhuu, A., Bączek, K., Przybył, J. L., & Węglarz, Z., 2011: Intraspecific variability of roseroot (*Rhodiola Rosea*) naturally occurring in Mongolian Altai. Publishing in: I International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas (MAP-Mountain 2011), p. 51-58.
- Mempel, H., Jüttner, I., & Wittmann, S., 2021: The potentials of indoor farming for plant production. *Automatisierungstechnik*, 69 (4), 287-296.
- Meyer, V. R., 2009: Praxis der Hochleistungsflüssigchromatographie, Weinheim. Publishing in: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Panossian, A., Wikman, G., & Sarris, J., 2010: Rosenroot (*Rhodiola rosea*): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy. *Phytomedicine*, 17 (7), 481-493.
- Platikanov, S., & Evstatieva, L., 2008: Introduction of wild golden root (*Rhodiola rosea* L.) as a potential economic crop in Bulgaria. *Economic Botany*, 62, 621-627.
- Plescher, A., Holzapfel, C., Hannig, H.-J., 2010: Inkulturnahme und Pilotanbau von Rosenwurz (*Rhodiola rosea* L.). Bernburger Winterseminar zu Fragen der Arznei- und Gewürzpflanzenproduktion. Accessed: 15 April 2023, URL: <https://docplayer.org/35181796-Inkulturnahme-und-pilotanbau-von-rosenwurz-rhodiola-rosea-l.html>.

- Scartezzini, F., Aiello, N., Vender, C., Cangì, F., Mercati, S., & Fulceri, S., 2011: Quantitative and qualitative performance of two golden root (*Rhodiola rosea*) accessions grown at different altitude in Northern Italy. Publishing In: I International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas (MAP-Mountain 2011), p. 165-168.
- Thomsen, M. G., Galambosi, B., Galambosi, Z., Uusitalo, M., Mordal, R., & Heinonen, A., 2011: Harvest time and drying temperature effect on secondary metabolites in *Rhodiola rosea*. Publishing In: I International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas (MAP-Mountain 2011), p. 243-252.
- Van Delden, S. H., SharathKumar, M., Butturini, M., Graamans, L. J. A., Heuvelink, E., Kacira, M., ... & Marcelis, L. F. M. (2021). Current status and future challenges in implementing and upscaling vertical farming systems. *Nature Food*, 2(12), 944-956.
- Węglarz, Z., Przybył, J. L., & Geszprych, A., 2008: Roseroot (*Rhodiola rosea* L.): Effect of internal and external factors on accumulation of biologically active compounds. *Journal of bioactive molecules and medicinal plants*, 297-315.
- Wittmann, S., Jüttner, I., & Mempel, H., 2020: Indoor farming marjoram production—quality, resource efficiency, and potential of application. *Agronomy*, 10 (11), 1769.

Posterbeitrag zum Themenkreis: Feldanbau

Agronomische und phytochemische Eigenschaften verschiedener Sorten von Zitronenmelisse (*Melissa officinalis* L.): Anbauversuch in unterschiedlichen Höhenlagen in Südtirol

*Agronomic and phytochemical traits of different lemon balm varieties (*Melissa officinalis* L.): a field trial at different altitudes in South Tyrol*

Alessia Castellan¹, Manuel Pramsohler¹, Stefan Martens², Angelika Ruele¹, Daniel Ortler¹

¹Versuchszentrum Laimburg, Institut für Berglandwirtschaft und Lebensmitteltechnologie, Laimburg 6, I-39040 Post Auer (BZ), Italien

²Fondazione Edmund Mach, Centro Ricerca e Innovazione, Via E. Mach, 1, 38098 San Michele all'Adige, TN, Italien

alessia.castellan@laimburg.it

DOI: 10.5073/20230821-151122-0

Zusammenfassung

Zitronenmelisse (*Melissa officinalis* L.) ist eine der am häufigsten angebauten Heilpflanzen und Hauptbestandteil vieler Kräutertees, da sie bemerkenswerte aromatische, krampflösende, karminative und entspannende Eigenschaften besitzt. Über die agronomischen und phytochemischen Eigenschaften von Zitronenmelissesorten in unterschiedlichen Höhenlagen gibt es einige Studien, jedoch gibt es nur wenige Untersuchungen dazu im Alpenraum. In den Jahren 2018 bis 2020 wurden sieben Sorten in zwei verschiedenen Höhenlagen (620 und 1100 m Meereshöhe) in der Provinz Bozen (Italien) getestet. Die Feldversuche wurden in randomisierten vollständigen Blöcken mit drei Wiederholungen durchgeführt. Für jede Sorte wurde der Trockenblattertrag und der Gehalt an ätherischem Öl und Rosmarinsäure bestimmt. Die Ergebnisse zeigten, dass je nach Sorte sowohl agronomische als auch qualitative Merkmale der Zitronenmelisse unterschiedlich waren. In diesem Zusammenhang konnte in ertragsreiche bzw. ertragschwache Sorten sowie Sorten mit hohem bzw. niedrigem Gehalt an ätherischem Öl differenziert werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass auch in höheren Lagen in Berggebieten hohe Erträge und eine gute Qualität erzielt werden können.

Stichwörter: Zitronenmelisse, Sortenprüfung, Alpenregion, ätherisches Öl, Rosmarinsäure

Abstract

Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) is one of the most widely cultivated medicinal plants and the main ingredient in many herbal teas, as it has remarkable aromatic, antispasmodic, carminative and relaxing properties. Although some research has been carried out on the potential influence of variety and altitude on the agronomic and qualitative outcome of lemon balm production, there have been few empirical investigations into this in the alpine region. The field trial was carried out using a randomized complete block design with three replications, testing seven varieties in two different altitudinal sites (620 and 1100 m a.s.l.) in the province of Bolzano (Italy) between 2018 and 2020. Dry leaves yield, essential oil content and rosmarinic acid were determined for each variety in both sites. Results indicated that both agronomic and qualitative traits of lemon balm were affected by variety. In this context high-yield varieties and low-yield varieties were distinguished. Moreover, it was possible to

identify varieties with a high essential oil content and varieties with a low one. Interestingly, the results consequently suggest that high yield and good quality can be achieved even in mountainous areas.

Keywords: lemon balm, variety trial, alpine region, essential oil, rosmarinic acid

Einleitung

Zitronenmelisse (*Melissa officinalis* L.) gehört zur Familie der Lippenblütler (Lamiaceae) und ist eine wichtige und bekannte Arznei- und Gewürzpflanze. Sie stammt aus dem mediterranen Raum, wird aber inzwischen auch in Mittel- und Osteuropa kultiviert (Bomme, 2001). Es handelt sich um eine mehrjährige krautige Pflanze mit einer Bestandeshöhe von etwa 50 cm bis 90 cm (Bomme et al., 2013). Die gebräuchlichen Pflanzenteile sind die getrockneten Blätter (*Melissae folium et herba*). Ein wesentlicher Inhaltsstoff ist das ätherische Öl mit den Hauptkomponenten Citral (Geranial und Neral), Citronellal und β -Caryophyllen. Weitere therapeutisch relevante Inhaltsstoffe sind Rosmarinsäure, Chlorogen- und Kaffeesäure, Triterpene und Flavonoide (Bomme, 2001). Zitronenmelisse wird als Beruhigungsmittel eingesetzt und wirkt verdauungsfördernd, blähungsmindernd, krampflösend, schweißtreibend, antimikrobiell und antiviral (Wichtl, 2002; Dachler & Pelzmann, 2017). Sie kann für Kräuterteemischungen, als Einzelpräparat, als Küchengewürz oder auch zur Herstellung von Melissengeist oder Kräuterlikör verwendet werden. Zitronenmelisse wird seit langem züchterisch bearbeitet (Bomme et al., 2013) mit dem Ziel Winterhärte, Blattertrag, Gehalt an ätherischem Öl und Wuchsform zu verbessern (Kästner et al., 2016). Auch in Südtirol zählt die Zitronenmelisse zu den am häufigsten angebauten Arten im Kräuteranbau und wird im Berggebiet auch auf Standorten über 1000 m Meereshöhe angebaut. Regionale Sortenprüfungen sind wichtig, um zu ermitteln welche Sorten die gewünschten Eigenschaften (Ertrag, Gehalt an ätherischem Öl, Verhältnis Blätter/Stängel) in einem bestimmten Gebiet bestmöglich erreichen. Die richtige Sortenwahl ist eine wichtige Voraussetzung für die Erzeugung von qualitativ hochwertigen Kräuterprodukten.

Material und Methoden

Zwischen 2018 und 2020 wurden folgende sieben Sorten in einem dreijährigen Feldversuch geprüft: 'Erfurter Aufrechte', 'Lorelei', 'Sativa', 'Lemona', 'Quedlinburger', 'Citrina', 'Citronella'. Untersucht wurden die Sorten an zwei Standorten in Südtirol (Italien), auf 620 m Meereshöhe (Meran) und auf 1100 m Meereshöhe (Laurein). Als Versuchsdesign wurde an beiden Standorten eine randomisierte vollständige Blockanlage mit drei Wiederholungen angelegt. Die Parzellen waren jeweils 2,10 m x 0,9 m groß, jede Parzelle wurde mit sieben Pflanzen im Abstand von 0,3 m bepflanzt. Für die Jungpflanzenanzucht wurde im Gewächshaus gesät, später pikiert und einmal umgetopft, im Mai/Juni wurden die Pflanzen ins Feld gepflanzt. An beiden Standorten wurde eine Tropfbewässerungsanlage verlegt. Die Ernte erfolgte jeweils vor der Blüte, je nach Standjahr in zwei bis drei Schnitten pro Saison. Im ersten Jahr wurden zwei Schnitte (Ende Juli/Anfang August und Ende August), im zweiten und dritten Jahr 3 Schnitte durchgeführt (Ende Mai/Anfang Juni, Mitte Juli/Ende Juli und Ende August/Anfang September). Die Schnitte wurden in 10 cm Höhe durchgeführt, um einen guten Wiederaustrieb zu sichern. Nach der Ernte wurde das Frischmaterial in einer Trockenanlage bei einer Temperatur von 30-35 °C für ca. eine Woche getrocknet. Das Trockenmaterial wurde nach einigen Wochen gerebelt, um Blätter und Stängel zu trennen.

Über die 3 Versuchsjahre wurden die folgenden Parameter erhoben:

- Wuchshöhe (cm)
- Frischgewicht (g)
- Trockengewicht (g)
- Trockengewicht der Blätter nach der Rebelung (g)
- Blatt/Stängelverhältnis
- Gehalt an ätherischem Öl (ml/100g Trockenmasse)
- Hauptkomponenten des ätherischen Öls (%)
- Gehalt an Rosmarinsäure (mg/g)

Die Bestimmung vom Gehalt des ätherischen Öls (Methodik nach Ph.Eur. 9.0, 2.8.12) und der Hauptkomponenten (GC/MS, Methodik nach Ph.Eur. 9.0, 2.2.28) wurde an Mischproben der 3 Feldwiederholungen von einem externen Labor (IGV Testlab, Deutschland) durchgeführt. Der Gehalt an Rosmarinsäure wurde an den Einzelproben mittels einer etablierten LC-MS/MS Methode analysiert (Vrhovsek et al. 2012). Die statistische Auswertung der agronomischen Daten wurde mit der Software SPSS 20 mittels gemischter Modelle durchgeführt.

Ergebnisse

Ertragsunterschiede der geprüften Sorten

Zwischen den verschiedenen Sorten konnten signifikante Ertragsunterschiede festgestellt werden (Abbildung 1). Als besonders ertragreich zeigten sich die Sorten 'Citronella', 'Quedlinburger', 'Lorelei' und 'Citrina' mit einem mittleren Jahresertrag (Dreijahresmittel) an getrockneter Blätware von über 3 t/ha. Die erzielten Erträge sind vergleichbar mit Werten aus der Literatur (Dachler & Pelzmann, 2017), allerdings ist die Skalierbarkeit der Ergebnisse aufgrund der geringen Parzellengröße mit Vorsicht zu betrachten. Die Erträge am Standort Laurein auf 1100 m Meereshöhe unterschieden sich nicht signifikant von den Erträgen am Standort Meran auf 620 m Meereshöhe. Der höchste Blätterertrag wurde an beiden Standorten jeweils beim 2. Schnitt erreicht.

Unterschiedliche Gehalte an ätherischen Ölen und Rosmarinsäure

Besonders deutlich zeigten sich die Unterschiede zwischen den Sorten hinsichtlich des Gehaltes an ätherischem Öl. In allen drei Jahren wurden an beiden Standorten beim dritten Schnitt die höchsten Gehalte erzielt. Besonders ölreiche Sorten - 'Erfurter Aufrechte' und 'Lemona' - wiesen beim dritten Schnitt des 2. Jahres einen Gehalt von bis zu 0,87 % bzw. 0,85 % auf, während ölärmere Sorten niedrigere Werte erzielten, beispielsweise lag der Gehalt bei 'Citronella' bei 0,33 %. Auch die Zusammensetzung der Hauptkomponenten des ätherischen Öls war für jede Sorte unterschiedlich, insbesondere der Gehalt an Geranial und Neral. Die beiden ölreichen Sorten erzielten die niedrigsten Blättererträge. Für Zitronenmelisse gilt als Qualitätsanforderung ein ätherischer Ölgehalt von mindestens 0,1 bis 0,3 %. In unserem Sortenversuch lag der Gehalt je nach Sorte mehr oder weniger deutlich über diesem Wert, und das auch am Standort Laurein auf 1100 m Meereshöhe. Der Gehalt an Rosmarinsäure in den Proben schwankte zwischen 7,88 mg/g und 25,85 mg/g. Es konnten keine signifikanten Sortenunterschiede festgestellt werden. Die höchsten Gehalte an Rosmarinsäure wurden beim ersten Schnitt gemessen.

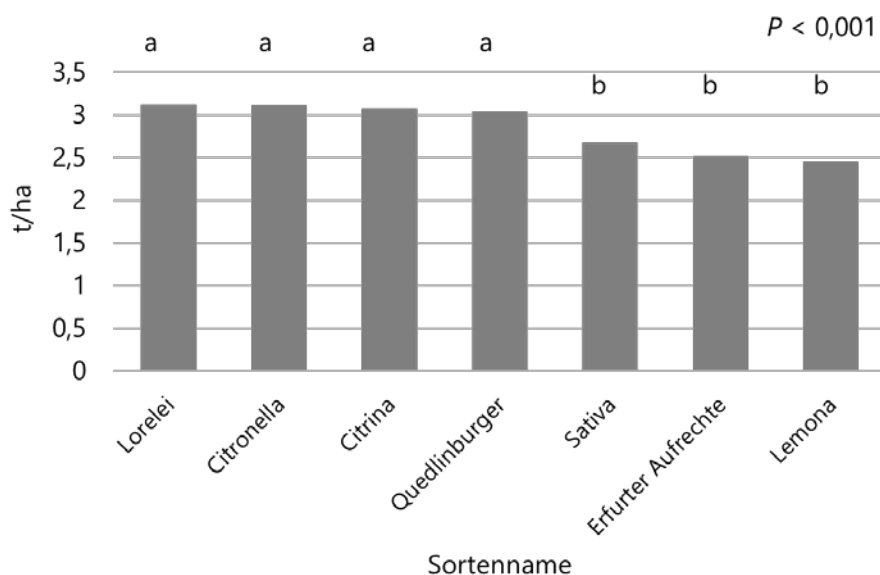


Abb. 1. Mittelwerte des getrockneten Blattertrags (t/ha) der geprüften Sorten über alle Jahre und Standorte. Es handelt sich um rücktransformierte Werte und deshalb wird keine Standardabweichung gezeigt

Fig. 1. Mean values of the dried leaf yield (t/ha) of the tested varieties over all years and both locations. These are back-transformed values and therefore no standard deviation is shown

Tab. 1. Gehalt an ätherischem Öl (ml/100 g Trockenmasse) der geprüften Sorten

Tab. 1. Essential oil content (ml/100 g DW) of the tested varieties

Standort	Sortenname	MW Äth. Öl (ml/100 g)								
		2018		2019			2020			
		1. Schnitt	2. Schnitt	1. Schnitt	2. Schnitt	3. Schnitt	1. Schnitt	2. Schnitt	3. Schnitt	
Meran (620 m)	Citrina	0,26	0,44	0,14	0,24	0,44	0,16	0,26	0,47	
	Citronella	0,23	0,36	0,09	0,21	0,33	0,2	0,19	0,34	
	Erfurter Aufrechte	0,44	0,68	0,19	0,52	0,87	0,3	0,58	0,72	
	Lemona	0,48	0,67	0,2	0,51	0,85	0,3	0,63	0,72	
	Lorelei	0,26	0,4	0,14	0,19	0,49	0,17	0,27	0,42	
	Quedlinburger	0,25	0,43	0,16	0,2	0,51	0,17	0,3	0,48	
	Sativa	0,35	0,55	0,16	0,23	0,59	0,15	0,27	0,56	
Laurein (1100 m)	Citrina	0,18	0,12	0,11	0,23	0,39	0,19	0,35	0,4	
	Citronella	0,25	0,15	0,12	0,17	0,27	0,18	0,24	0,33	
	Erfurter Aufrechte	0,36	0,27	0,17	0,51	0,74	0,23	0,56	0,74	
	Lemona	0,46	0,27	0,16	0,52	0,66	0,19	0,56	0,67	
	Lorelei	0,21	0,12	0,13	0,22	0,39	0,2	0,27	0,44	
	Quedlinburger	0,24	0,14	0,15	0,24	0,43	0,19	0,34	0,47	
	Sativa	0,21	0,18	0,19	0,28	0,41	0,14	0,22	0,5	

Literatur

- Bomme U., Honermeier B., Hoppe B., Kittler J., Lohwasser U., Marthe F., 2013: Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus, Band 5, Arznei- und Gewürzpflanzen von L-Z, Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen Saluplanta e.V. Bernburg, p. 151-173.
- Bomme U., 2001: Kulturanleitung für Zitronenmelisse, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, URL: www.lfl.bayern.de/publikationen/merkblaetter/040612/index.php. Zugriff: 16. Juni 2023.
- Dachler M., Pelzmann H., 2017: Arznei- und Gewürzpflanzen, Lehrbuch für Anbau, Ernte und Aufbereitung. Cadmos Verlag, München, Deutschland, p. 216-218.
- Kästner, U.; Krüger, H.; Krähmer, A.; Böttcher, Ch.; Rose-Rehse, C.; Kittler, J.; Blüthner, W.D.; Junghanns, W.; Marthe, F., 2016 (vorgetragen von Kästner, U.). Züchterische Bearbeitung von Zitronenmelisse (*Melissa officinalis*). Vortrag auf dem 26. Bernburger Winterseminar Arznei- und Gewürzpflanzen 2016, 23.-24.2.2016, Bernburg, Deutschland. Abstract in: Tagungsband 26. Bernburger Winterseminar Arznei- und Gewürzpflanzen, p. 26-28.
- Vrhovsek U, Masuero D, Gasperotti M, et al., 2012: A versatile targeted metabolomics method for the rapid quantification of multiple classes of phenolics in fruits and beverages. *Journal of agricultural and food chemistry* 60(36): 8831–8840. DOI: 10.1021/jf2051569.
- Wichtl M., 2002: Teedrogen und Phytopharmaka: ein Handbuch für die Praxis auf wissenschaftlicher Grundlage, 4. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, p. 382-396.

Posterbeitrag zu Themenkreis: Inkulturnahme und Züchtung

'Carola' eine neue Salbeisorte (*Salvia officinalis* L.) von Agroscope

'Carola', a new variety of sage (*Salvia officinalis* L.) from Agroscope

Xavier Simonnet, Bastien Christ, Claude-Alain Carron, Christoph Carlen

Agroscope, Centre de recherche Conthey, Route des Eterpys 18, 1964 Conthey, Switzerland,
christoph.carlen@agroscope.admin.ch

DOI 10.5073/20230821-151724-0

Zusammenfassung

Salbei (*Salvia officinalis* L.) ist eine der wichtigsten Aromapflanzen in der Schweiz. Im Jahr 2010 wurde ein Züchtungsprogramm gestartet, um eine einfach zu vermehrende, leistungsstarke Sorte für den Anbau im Berggebiet zu entwickeln. Das Resultat dieser Arbeit war eine neue Sorte, die den Namen 'Carola' trägt und mittels Polycross vermehrt wird. 'Carola' wurde seit 2020 an 2 Standorten in der Schweiz im Vergleich zur früheren Agroscope-Sorte 'Regula' und der deutschen Sorte 'Extrakta' geprüft. Im ersten Anbaujahr unterschieden sich die Blatterträge der drei getesteten Sorten nicht signifikant. Im zweiten Jahr war 'Carola' mit einem durchschnittlichen Trockenertrag von zirka 2,7 t ha⁻¹ gleichwertig mit 'Extrakta' und etwas höher als 'Regula'. Der Gehalt an ätherischem Öl in den Blättern dieser neuen Sorte 'Carola' lag zwischen den beiden Kontrollsorten, aber signifikant höher als Extrakta. Das Saatgut der neuen Agroscope-Sorte 'Carola' wird ab 2024 bei mediSeeds GmbH (www.mediseeds.ch) erhältlich.

Stichwörter: *Salvia officinalis*, Gewürzpflanzen, ätherische Öle, Züchtung, Polycross

Abstract

Common sage (*Salvia officinalis* L.) is one of the most important aromatic plants in Switzerland. In 2010, a breeding programme was started to develop an easy-to-propagate, high-performance variety for cultivation in the mountain area. The result of this work is a new variety called 'Carola', which is propagated via a polycross. Since 2020, 'Carola' has been tested at 2 locations in Switzerland in comparison with the former Agroscope variety 'Regula' and the German variety 'Extrakta'. In the first year of cultivation, the leaf yields of the three tested varieties did not differ significantly. In the second year, 'Carola' with an average leaf dry yield of about 2.7 t ha⁻¹ is equivalent to 'Extrakta' and slightly higher than 'Regula'. The essential oil content in the leaves of this new variety 'Carola' was intermediate between the two control varieties, but significantly higher than Extrakta. The seeds of this new Agroscope variety 'Carola' will be available from 2024 at mediseeds GmbH (www.mediseeds.ch).

Keywords: *Salvia officinalis*, aromatic plant, essential oil, breeding, polycross

Einleitung

Salbei (*Salvia officinalis* L.) wird heutzutage vor allem als Küchenkraut, Kräuterbonbons, Kräutertees, Kräutergetränke oder als Extrakt in Kosmetika und in der Parfümerie verwendet. Der Salbei ist eine der am meisten angebauten Gewürzpflanzen in der Schweiz. Angesichts des Fehlens einer kommerziellen Sorte und um den Anforderungen des biologischen Anbaus unter den klimatischen Bedingungen im Schweizer Berggebiet gerecht zu werden, führte ein erstes Züchtungsprogramm in den 1990er Jahren zur Schaffung einer Sorte namens 'Regula' (Carron *et al.*, 2005). Schwierigkeiten bei der Saatguterzeugung dieser Klonhybrid-Sorte führten jedoch dazu, dass ab 2010 ein neues Züchtungsprogramm initiiert wurde. Um das frühere Problem der geringen Erträge von Handelssaatgut

zu überwinden, aber auch um die Kosten der Saatguterzeugung zu senken, entschied man sich für die Schaffung einer Polycross-Sorte. Zwanzig Akzessionen von verschiedenen Anbietern in Europa dienten als genetische Grundlage für dieses neue Programm. Nach agronomischen (Blattertrag, Ausdauer, Wuchs) und phytochemischen (Gehalt und Zusammensetzung der ätherischen Öle) Kriterien wurden 10 Genotypen mit hermaphroditen Blüten aus den verschiedenen Akzessionen vorselektiert. Neben ihrer agronomischen Leistung wurden diese 10 Genotypen auch auf ihre Kombinationsfähigkeit und die Eignung für die Saatgutproduktion geprüft. Schliesslich wurden 4 Genotypen als Eltern für eine Polykreuzung ausgewählt. Die Polycross-Sorte wurde durch offenes Abblühen der 4 Genotypen und Ernten des Saatgutes erhalten. Die daraus resultierende neue Sorte mit dem Namen 'Carola' wurde an zwei Schweizer Standorten in zwei aufeinanderfolgenden Jahren (2020-2021) im Vergleich mit der früheren Sorte 'Regula' und der deutschen Sorte 'Extrakta' geprüft.

Material und Methoden

Die Setzlinge der 3 Sorten ('Carola', 'Regula', 'Extrakta') wurden von der Firma Biojardins (Fully, Schweiz) produziert. Die Bewertungen wurden in der Schweiz unter realen Bedingungen auf zwei Feldern im kommerziellen Anbau nach den Schweizer Biolandbauvorschriften durchgeführt (Tab. 1).

Das Versuchsdesign war eine randomisierte vollständige Blockanlage (completely randomised block design), die vierfach wiederholt angelegt und beprobt worden ist. Die Pflanzung erfolgte am 16. (Standort 2) und 25. Mai 2020 (Standort 1) in Beeten mit 3 Reihen und einer Dichte von 6,3 Pflanzen/m². Je nach Standort und Jahr wurden 1 bis 3 Schnitte pro Jahr durchgeführt (Tab. 1). Die Ernte wurde mit einem SuperCut-Trimmer auf 2 m² grossen Kernparzellen (die totale Parzellengrösse betrug 6 m²; 1.20 m x 5 m) maschinell durchgeführt. Nach dem Trocknen bei 37 °C wurden die Stängel von den Blättern von Hand getrennt.

Die Bestimmung des Gehalts an ätherischen Ölen (v/w) wurde mit 20 g Proben 2 Stunden lang mit einem Clevenger-Hydrodestillationssystem durchgeführt. Die Ölzusammensetzung der Proben des zweiten Jahres (2021) wurde mittels GC-MS gemäß der Norm NF ISO 11024 durch das Labor Pyrenessences Analyses (Frankreich) bestimmt.

Die statistischen Analysen (ANOVA) wurden mit dem statistischen Computerprogramm XLSTAT im Blockdesign (4 Wiederholungen) durchgeführt. Die Unterschiede zwischen den Mittelwerten wurden mit dem Tukey-Test verglichen.

Tab. 1. Standorte und Erntezeitpunkte

Tab. 1. Sites location and harvesting times

Standorte	Ort	Höhenlage	Jahr 2020	Jahr 2021
Ort 1	Bannwil (BE)	415 m	1.Schnitt: 18. August	1.Schnitt: 26. Mai
	(47.23679, 7.73780)		2.Schnitt: 08. October	2.Schnitt: 09. Juli 3.Schnitt: 30.Sept.
Ort 2	Sembrancher (VS)	730 m	1.Schnitt: 25. August	1. Schnitt: 17. Juni 2. Schnitt: 07. Sept.
	(46.07551, 7.16357)			

Ergebnisse

Im ersten Jahr unterschieden sich die durchschnittlichen Trockensubstanzerträge und die Blatterträge nur wenig. Tendenzmässig waren die Erträge bei 'Regula' am höchsten. Im zweiten Jahr dagegen wies 'Regula' eine geringere Produktivität als die beiden anderen Sorten auf, was auf ihre höhere Empfindlichkeit gegenüber Winterfrost zurückzuführen ist (Tab. 2). Die Sorten 'Carola' und 'Extrakta'

zeigten keine signifikanten Ertragsunterschiede in beiden Jahren. Die an diesen beiden Schweizer Standorten erzielten Erträge bestätigen die Ergebnisse von Versuchen, die in Italien mit den Sorten 'Regula' und 'Extrakta' (De Maestro *et al.*, 2006) und in der Schweiz mit der Sorte 'Regula' (Carlen *et al.*, 2009) durchgeführt wurden.

Die ätherischen Ölgehalte in den Blättern unterschieden sich zwischen den Sorten in beiden Versuchsjahren (Tab. 2). 'Regula' wies systematisch höhere Gehalte auf als die beiden anderen Sorten, wobei diese Überlegenheit am Standort 2 stärker ausgeprägt war. Die Sorte 'Carola' lag in beiden Jahren auf mittlerem Niveau zwischen 'Regula' und 'Extrakta'. 'Carola' wies immer signifikant höhere ätherischen Ölgehalte auf als 'Extrakta'.

Obwohl diese Versuche für die Produktion von getrockneten Blättern und nicht für ätherisches Öl durchgeführt wurden, gaben die Ergebnisse dennoch einen guten Hinweis auf das Produktionspotenzial der geprüften Sorten. So waren die Erträge an ätherischem Öl, die in den beiden Versuchsjahren erzielt wurden, zwischen den Sorten 'Carola' und 'Regula' sehr ähnlich, mit 95 l ha⁻¹ bzw. 102 l ha⁻¹ am Standort 1 und 77 l ha⁻¹ bzw. 75 l ha⁻¹ am Standort 2. 'Carola' zeigte einen Produktivitätsgewinn an ätherischem Öl von 10 bis 15 % gegenüber 'Extrakta' (85 l ha⁻¹ am Standort 1 und 70 l ha⁻¹ am Standort 2).

Die Zusammensetzung des ätherischen Öls von *S. officinalis* zeichnete sich durch das Vorhandensein von Monoterpenketonen (α -Thujon, β -Thujon, Kampfer) und anderen sauerstoffhaltigen Terpenen wie 1,8-Cineol aus. Diese Verbindungen zeigen eine sehr hohe Variabilität innerhalb der *S. officinalis*-Arten, aber auch je nach Organ, Erntestadium und Anbaustandort (Perry *et al.*, 1999; Bagdat *et al.*, 2017). Die drei getesteten Sorten unterschieden sich in ihrer Zusammensetzung kaum (Simonnet *et al.*, 2023).

Zusammenfassend kann die Sorte 'Carola' für den Anbau in der Schweiz empfohlen werden, da sie höhere Gehalte an ätherischen Ölen aufweist und ähnliche Erträge produziert wie 'Extrakta'.

Tab. 2. Blatterträge, ätherische Öl Gehalte und Erträge von 3 Salbei Sorten an 2 Standorten (1=Bannwil, 2=Sembrancher) in den ersten beiden Jahren nach der Pflanzung (2020, 2021). Die Werte entsprechen dem Mittelwert von vier Wiederholungen. Unterschiedliche Buchstaben neben den Werten weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Pflanzendichten hin (Tukey-Test, P <0,05)

Tab. 2. Biomass yield, essential oil content and yield of 3 sage cultivars in 2 sites (1=Bannwil, 2=Sembrancher) during the first two growing season (2020, 2021). The values correspond to the mean of four repetitions. Different letters beside the values indicate significant differences between plant densities (Tukey test, P <0.05)

Sorten	TS-Ertrag (t ha ⁻¹)		TS-Blattertrag (t ha ⁻¹)		Ätherischer Öl-Gehalt (% v/w)		Ätherischer Öl-Ertrag (l ha ⁻¹)	
	Ort 1	Ort 2	Ort 1	Ort 2	Ort 1	Ort 2	Ort 1	Ort 2
2020								
'Carola'	3.25 b	2.32	2.50	1.60	1.89 a	1.68 a	47.3 b	26.7 b
'Regula'	3.81 a	2.73	2.75	1.67	1.95 a	1.76 a	52.1 a	29.4 a
'Extrakta'	3.38 b	2.71	2.47	1.78	1.78 b	1.38 b	44.2 c	24.5 b
2021								
'Carola'	4.07	4.15 ab	2.73	2.70 ab	1.74 b	1.85 b	47.7 a	50.0 a
'Regula'	3.60	3.30 b	2.49	2.13 b	2.01 a	2.15 a	50.2 a	46.0 b
'Extrakta'	3.82	4.46 a	2.60	2.79 a	1.55 c	1.62 c	40.4 b	45.4 b

Literatur

- Bagdat, R.B., N. Cinkaya, K.Y. Demiray, C. Bozemir, E. Cakir, 2017. Common sage (*Salvia officinalis* L.) breeding studies in Central Anatolian climatic conditions. *Int. J. Metabolite*, 4(3), 499-507.
- Carlen, C., C.A. Carron, S. Previdoli, C. Baroffio, 2009. *Salvia officinalis*: influence of cutting frequency, cutting height and date of the last harvest before winter. *Acta Hort.* 826, 25-29.
- Carron, C.A., S. Previdoli, A. Cottagnoud, C. Rey, C. Carlen (2005). *Sauge officinale*: productivité et qualité de la nouvelle variété Regula. *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 37(4), 235-239.
- De Mastro, G., N. Aiello, F. Scartezzini, C. Vender, G. Brunetti, 2006. Herbage yield and essential oil quality of three cultivars of sage (*Salvia officinalis* L.) grown in two Italian environments. *Acta Hort.* 723, 233-237.
- Perry, N.B., R.E. Anderson, N. Brennan, M.H. Douglas, A.J. Heaney, J.A. McGimpsey, B.M. Smallfield, 1999. Essential oils from Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons and sites. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2048-2054.
- Simonnet, X., B. Christ, C.A. Carron, J. Vouillamoz, M. Pramsohler, C. Carlen, 2023. Agroscope launches 'Carola', a new cultivar of sage (*Salvia officinalis* L.). *Acta Hort.* 1358, 37-42.

Posterbeitrag zu Themenkreis: Pflanzenschutz

Einfluss von gewobenen Polypropylen-Bodenabdeckungen während des Winters auf den Unkrautdruck, den Ertrag und die Qualität von Zitronenminze im folgenden Jahr

Influence of woven polypropylene groundcovers during winter on weed pressure, yield and quality of a lemon mint crop in the following season

Christoph Carlen, Xavier Simonnet, Claude-Alain Carron, Bastien Christ

Agroscope, Centre de recherche Conthey, Route des Eterpys 18, 1964 Conthey, Switzerland,

christoph.carlen@agroscope.admin.ch

DOI 10.5073/20230821-152222-0

Zusammenfassung

Die Unkrautbekämpfung ist ein Schlüsselfaktor für die Produktivität und Rentabilität von Arznei- und Gewürzpflanzen, insbesondere im ökologischen Landbau. Bei Minze (*Mentha x piperita var. citrata* Ehrh.) besteht eine Möglichkeit zur Verringerung des Unkrautdrucks darin, die Pflanzen und den Boden während des Winters von Anfang November bis Ende März mit einem Polypropylen-Gewebe (PPG) abzudecken. Um die Auswirkungen einer solchen Bodenabdeckung während des Winters zu bewerten, wurde Zitronenminze mit und ohne Bodenabdeckung beobachtet, um Unkrautdruck, Ertrag und Qualität der Minze zu bestimmen.

In diesen Versuchen war die hemmende Wirkung der schwarzen, lichtundurchlässigen PPG auf die Entwicklung der Unkrautflora überzeugend. In abgedeckten Parzellen wurde der Zeitaufwand für die mechanische Unkrautbekämpfung im Vergleich zu Parzellen ohne PPG um 440 Stunden pro ha reduziert. Darüber hinaus war der Trockenmasseertrag der ersten Ernte mit PPG deutlich höher als ohne (plus zirka 1,0 t Trockengewicht ha⁻¹). Der Gehalt an ätherischem Öl in den Blättern wurde dagegen durch die Bodenbedeckung nur gering beeinflusst. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die schützende und positive Wirkung der Bodenabdeckung mit PPG offensichtlich war. Der Unkrautdruck im Winter und Frühjahr wurde drastisch reduziert, und der Ertrag sowie die Rentabilität der Minzekultur wurden erheblich gesteigert.

Stichwörter: Mypex-Bodenabdeckung, *Mentha x piperita var. citrata* Ehrh., Qualität, Unkrautbekämpfung, Ertrag

Abstract

Weed control is a key factor for the productivity and profitability of medicinal and aromatic plants, especially in organic farming. In mint (*Mentha x piperita var. citrata* Ehrh.), one way to reduce weed pressure is to cover the plants and the soil with a woven polypropylene fabric (PPF) during winter from early November to late March. To evaluate the effects of such a soil cover during winter, lemon mint with and without soil cover were observed to determine weed pressure, yield and quality of mint.

In these trials, the inhibitory effect of the black, opaque PPF on weed flora development was convincing. In covered plots, the time required for mechanical weed control was reduced by 440 hours per ha compared to plots without PPF. In addition, the dry matter yield of the first harvest was significantly higher with than without PPF (plus about 1.0 t dry weight per ha). However, the essential oil content in the leaves was much less influenced by the soil cover. In summary, the protective and

positive effects of the soil cover with a woven PPF was evident. Weed pressure in winter and spring was drastically reduced and yield as well as profitability of lemon mint was significantly increased.

Keywords: Mypex ground cover, *Mentha x piperita var. citrata* Ehrh., quality, weed management, yield

Einleitung

Für die Erzeuger von Arznei- und Gewürzpflanzen ist das Unkrautmanagement ein Schlüsselfaktor für Produktivität und Rentabilität. Minzeproduzenten suchen nach innovativen Lösungen, um den Zeitaufwand für die Unkrautbekämpfung zu verringern. Einige Schweizer Produzenten haben ihre Minzekulturen im Winter mit einem oberirdischen Mulch abgedeckt, d. h. mit einem gewebten Polypropylen-Gewebe (PPG) über den Winter, um den Unkrautdruck zu Beginn der Vegetation im Frühjahr zu verringern.

Viele Autoren haben die positiven Auswirkungen von organischen oder anorganischen Mulchen während der Vegetationsperiode hervorgehoben, wie z. B. verringerter Unkrautdruck und geringere Unkrautbekämpfungskosten, besseres Pflanzenwachstum, verbesserte Bodenstruktur und erhöhte mikrobiologische Aktivität, Begrenzung der Wind- und Wassererosion, bessere Wasser- und Nährstoffverfügbarkeit, konstantere durchschnittliche Bodentemperatur und erhöhter Schutz vor Schadstoffen (Carron *et al.* 2013; Grundy und Bond 2007; Feldmann *et al.* 2000; Seitz 1985). Es gibt jedoch nur wenige Daten über die Bodenbedeckung mit PPG während des Winters, insbesondere für hemikryptophytische Arten wie die Minze.

Ziel dieses Projekts war es, den Einfluss einer Bodenbedeckung mit PPG während des Winters auf den Unkrautdruck, den Ertrag und die Qualität von Zitronenminze zu untersuchen.

Material und Methoden

Der Versuch wurde in Attiswil (BE) auf einem Biobetrieb in der Nähe des Juras auf 600-650 m Höhe an einem Südhang durchgeführt. Diese Region ist durch strenge Winter und relativ regnerische Sommer gekennzeichnet. Die Durchschnittstemperatur für den Zeitraum 2008-2013 betrug etwa 10 °C und die durchschnittliche Niederschlagsmenge 1150 mm pro Jahr. Der Boden ist ein sandiger Lehm mit einem Humusgehalt von 3,5 %, leicht saurem bis neutralem pH-Wert (6 bis 7,5), mäßig bis ausreichend reich an Nährstoffen (N, P, K, Mg).

Die Versuche wurden in den Jahren 2012 und 2013 durchgeführt, mit *Mentha x piperita var. citrata* Ehrh. Klon 'Camich'.

Um die Auswirkungen einer Bodenabdeckung mit einem gewebten Polypropylen-Gewebe (PPG, Mypex, 100 g m⁻², schwarz, UV-stabilisiert und wasserdurchlässig) während des Winters von Anfang November bis Ende März auf den Unkrautdruck, den Ertrag und die Qualität von Zitronenminze zu bewerten, wurden vier Behandlungen verglichen: 1) Bodenabdeckung – keine Unkrautbekämpfung im Frühjahr; 2) Bodenabdeckung - mit manueller Unkrautbekämpfung im Frühjahr; 3) keine Bodenabdeckung - keine Unkrautbekämpfung im Frühjahr; 4) keine Bodenabdeckung - mit Unkrautbekämpfung im Frühjahr. Die Minzepflanzen und der Boden wurden im Winter von Anfang November 2012 bis zum 19. März 2013 mit PPG-Mulch abgedeckt und die Auswirkungen der Bodenbedeckung und der Unkrautbekämpfung auf das Trockengewicht der oberirdischen Biomasse und die Qualität (ätherisches Öl der Blätter) sowie die Entwicklung des Unkrauts untersucht. Darüber hinaus wurden die Bodenporosität, die mikrobielle Biomasse und die Stickstoffmineralisierung mit und ohne Bodenbedeckung untersucht (Ergebnisse nicht gezeigt).

Der Versuchsaufbau bestand aus zwei Beeten, die in zwanzig Elementarblöcke von je 1,20 x 6,60 m unterteilt waren, d. h. vier Behandlungen x fünf Wiederholungen. Diese Versuche wurden in

randomisierten Blockversuchen mit fünf Wiederholungen durchgeführt. Alle statistischen Analysen (Varianzanalyse) wurden mit XLSTAT Version 20011.5.01 (Addinsoft, Paris, Frankreich) durchgeführt. Der Tukey-Test wurde durchgeführt, um die Mittelwerte der Behandlungen auf Unterschiede auf einem signifikanten Niveau von 95 % ($P < 0,05$) zu vergleichen.

Ergebnisse

Die Bodenbedeckung mit einem Polypropylengewebe (PPG) während des Winters von Anfang November bis Ende März verbesserte die Frühzeitigkeit des Austriebs, das Wachstum und den Biomasseertrag bei Zitronenminze erheblich (plus 1.0 t Trockengewicht ha^{-1}) (Tab. 1). Die Zunahme des Trockenmasseertrags bei Bodenbedeckung erfolgte bei der ersten Ernte. Die Biomasse wurde bei den folgenden Ernten nicht gemessen. Visuell zeigten die folgenden Ernten jedoch keinen Unterschied zwischen den Behandlungen. Der Gehalt an ätherischen Ölen in den Blättern wurde durch die Behandlungen weniger stark beeinflusst als der Ertrag (Tab. 1).

Die Bodenbedeckung mit PPG während des Winters hatte einen deutlichen Einfluss auf die Unkrautflora, indem sie die Entwicklung der wichtigsten Unkräuter stark reduzierte (Tab. 1). Die wichtigsten Unkräuter waren *Arabis hirsuta*, *Capsella bursa-pastoris*, *Echium vulgare*, *Geranium columbinum*, *Lamium purpureum*, *Leucanthemum vulgare*, *Matricaria chamomilla*, *Papaver rhoeas*, *Plantago lanceolata*, *Poa sp.*, *Sonchus sp.*, *Silene pratensis*, *Stellaria media*, *Taraxacum officinalis*, *Trifolium pratense*, *Verbascum thapsus*, *Veronica arvensis* und *Vicia sepium*. Diese Unkräuter konkurrierten mit der Minze, was das Wachstum der Minzepflanzen vor allem bei den Verfahren ohne Bodenbedeckung beeinträchtigte (Tabelle 1).

In diesem Versuch war die hemmende Wirkung der Bodenabdeckung mit PPG auf die Entwicklung der Unkrautflora überzeugend. In den abgedeckten Parzellen wurde der Zeitaufwand für die manuelle Unkrautbekämpfung im Vergleich zu Parzellen ohne PPG um 440 Stunden pro ha reduziert. Erfahrungsgemäss beträgt der Aufwand für die Unkrautbekämpfung in dieser Kultur (manuell in Kombination mit mechanischen Methoden) rund 500 bis 600 Stunden pro ha und Jahr. Die Rentabilität der Behandlung mit einer Bodenbedeckung wird noch gesteigert, wenn man diesen Arbeitsgewinn mit der höheren Biomasseproduktion kombiniert (Tab. 1). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Rentabilität der Minzekulturen mit einer Bodenabdeckung aus gewebtem Polypropylengewebe bedeutend höher war als ohne.

Tab. 1. Einfluss von 4 'Bodenbedeckung - Unkrautbekämpfung'-Behandlungen auf den Ertrag und die Qualität der Minzart *Mentha x piperita* var. *citrata* Ehrh. Die Werte entsprechen dem Mittelwert von fünf Wiederholungen. Unterschiedliche Buchstaben neben den Werten weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen hin (Tukey-Test, $P < 0,05$)

Tab. 1. Influence of 4 'soil covering – weeding' treatments on yield and quality of the mint species *Mentha x piperita* var. *citrata* Ehrh. The values correspond to the mean of five repetitions. Different letters beside the values indicate significant differences between the treatments (Tukey test, $P < 0.05$)

Art	Parameter	Boden abgedeckt	Boden abgedeckt	Boden nicht abgedeckt	Boden nicht abgedeckt
		Mit Unkrautregulierung	Ohne Unkrautregulierung	Mit Unkrautregulierung	Ohne Unkrautregulierung
<i>Mentha x piperita</i> var. <i>citrata</i> Ehrh. 'Camich'	TS-Ertrag (t/ha)	1.94 a	1.91 a	0.98 b	0.95 b
	Ätherischer Ölgehalt (%)	1.84 ab	1.91 ab	1.97 a	1.80 b
	Unkrautanteil (Ernte) (%)	0.8 a	4.6 a	1.7 a	30.5 b
	Unkrautbekämpfung (h/ha)	67	0	511	0
	Abdecken des Bodens (h/ha)	104	104	0	0

Literatur

- Carlen, C., C.A. Carron, B. Christ, X. Simonnet, 2023. Influence of woven polypropylene groundcovers during winter on weed pressure, yield and quality of mint crops in the following season. *Acta Hort.* 1358, 191-194.
- Carron, C.A., J. Vouillamoz, C. Baroffio, 2013. Mélisse officinale: couverture agrotexile et rendement en matière sèche, en huile essentielle et en acide rosmarinique. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture* 45 (5): 276-282.
- Feldman, R. S., C.E. Holmes, T.A. Blomgren, 2000. Use of fabric and compost mulches for vegetable production in a low tillage, permanent bed system: Effects on crop yield and labor. *American Journal of Alternative Agriculture* 15 (4), 146–153.
- Grundy, A. C., B. Bond, 2007. Use of non-living mulches for weed control. In: *Non-Chemical Weed Management. Principles, Concepts and Technology*. Upadhyaya, M.K., and Blackshaw R.E., (eds). CAB International 9, 135–154.
- Seitz P., 1985. *Folien und Vliese für den Gartenbau*. Verlag Ulmer GmbH & Co, Stuttgart, 244 p.

Erhebung von Zikaden (Hemiptera: Auchenorrhyncha) in Kräuteranbauflächen Südtirols

A survey of leafhopper species (Hemiptera: Auchenorrhyncha) in South Tyrolean herb cultivation areas

Angelika Ruele¹, Alessia Castellan¹, Manuel Pramsohler¹, Katrin Janik², Stefanie Fischnaller³

¹Arbeitsgruppe Acker- und Kräuteranbau, Institut für Berglandwirtschaft und Lebensmitteltechnologie, Versuchszentrum Laimburg, Laimburg 6, I-39040 Post Auer (BZ), Italien

²Arbeitsgruppe Funktionelle Genomik, Institut für Agrikulturchemie und Lebensmittelqualität, Versuchszentrum Laimburg, Laimburg 6, I-39040 Post Auer (BZ), Italien

³Arbeitsgruppe Entomologie, Institut für Pflanzengesundheit, Versuchszentrum Laimburg, Laimburg 6, I-39040 Post Auer (BZ), Italien

angelika.ruele@laimburg.it

DOI: 10.5073/20230821-152739-0

Zusammenfassung

Im Kräuteranbau kommen verschiedene Arten von Zikaden (Auchenorrhyncha) vor, die als Pflanzensaftsauger, vor allem an Lamiaceae, Schäden verursachen. Da es in Südtirol noch keine Daten über die Zikadenfauna im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau gibt, wurde vom Versuchszentrum Laimburg (Südtirol, Italien) 2020-2021 eine Erhebung der dort vorkommenden Zikadenarten durchgeführt. Über zwei Vegetationsperioden wurde mittels Streifnetz (Kescher) verschiedene Pflanzenarten beprobt: Zitronenmelisse (*Melissa officinalis* L.), Pfefferminze (*Mentha x piperita* L.), Salbei (*Salvia officinalis* L.), Rosmarin (*Rosmarinus officinalis* L.), Brennnessel (*Urtica dioica* L.) und Origan (*Origanum vulgare* L.). Von 1.615 gekescherten Adulttieren konnten 1.317 auf Artniveau identifiziert und 15 Arten zugeordnet werden. Auf Zitronenmelisse wurden insgesamt zehn Arten nachgewiesen, wobei *Eupteryx curtisii* (Flor, 1861), *Eupteryx atropunctata* (Goeze, 1778) und *Emelyanoviana mollicula* (Boheman, 1845) zu den Hauptarten zählten. Acht Zikadenarten wurden auf Pfefferminze identifiziert, hier waren *Em. mollicula* und *E. atropunctata* und *Eupteryx decemnotata* (Rey, 1891) am häufigsten vertreten. *E. decemnotata* war auf Rosmarin von den wenigen detektierten Arten mit Abstand die häufigste. Auf Salbei wurden sechs Arten nachgewiesen, wie auch für Pfefferminze kamen vor allem *Em. mollicula*, *E. atropunctata* und *E. decemnotata* vor. An Origan- und Brennnesselpflanzen wurden generell nur wenig Zikaden-Individuen ermittelt. Zur genaueren Untersuchung ihres Fressverhaltens werden die Zikaden auf das Vorhandensein von pflanzlicher DNA untersucht. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen als Grundlage für weitere Forschungsarbeit zum Thema ökologische Schädlingsbekämpfung dienen.

Stichwörter: Auchenorrhyncha, Zikaden, Kräuteranbau, Schädlinge, Südtirol

Abstract

Various species of Auchenorrhyncha occur in cultivations of medicinal and aromatic plants (MAPs) and cause damage as sap-sucking insects, especially on the Lamiaceae plant family. As there are no surveys of the species occurring in South Tyrolean MAP production, a monitoring of Auchenorrhyncha was carried out in South Tyrol, Italy during the years 2020 and 2021. The semi-quantitative surveys using the sweep netting technique took place at three points during the vegetation period. The following plant species were sampled: lemon balm (*Melissa officinalis* L.), peppermint (*Mentha x piperita* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), nettle (*Urtica dioica* L.) and origano

(*Origanum vulgare* L.). Out of 1.615 captured adults, 1.317 were morphologically identified at species level and assigned to 15 species. Ten species were recorded on lemon balm, whereby the main species were *Eupteryx curtisii* (Flor, 1861), *E. atropunctata* (Goeze, 1778), *Emelyanoviana mollicula* (Boheman, 1845). On peppermint, eight species were identified, with *Em. mollicula*, *E. atropunctata* and *Eupteryx decemnotata* as dominant species. On rosemary *E. decemnotata* (Rey, 1891) were predominantly present. On sage six species and on origano and nettle only a few individuals were detected. For a more detailed investigation of the feeding behaviour of the different leafhopper species, DNA-analyses of their stomach contents will be carried out. The findings of these investigations will serve as a basis for further research on the topic of ecological pest control.

Keywords: Auchenorrhyncha, leafhoppers, medicinal and aromatic plants, pests, South Tyrol

Einleitung

Zikaden sind ein bedeutender Bestandteil terrestrischer Tiergemeinschaften und generell eine der dominierenden Phytophagengruppen (Holzinger et al., 2003). Im Kräuteraanbau treten verschiedene Arten von Zikaden - insbesondere Kleinzikaden (Hemiptera: Cicadellidae) auf, welche als Pflanzensaugauger, besonders an Lippenblütlern (Lamiaceae), Schäden verursachen (Mazzoni & Conti, 2006, Nickel et al., 2014, Meyer et al., 2020). Vor allem Arten der Unterfamilie der Typhlocybinæ (Blattzikaden) haben sich auf diese Pflanzenfamilie spezialisiert und weisen dort hohe Artenzahlen auf (Nickel et al., 2014). Als typisches Schadbild treten Saugflecken auf, die auch im getrockneten Zustand sichtbar sind und die Qualität der Blattware negativ beeinflussen. Die in Mitteleuropa relevantesten Zikadenarten an Arznei- und Gewürzpflanzen sind *Eupteryx atropunctata* (Goeze, 1778), *Eupteryx aurata* (Linné, 1758), *Eupteryx collina* (Flor 1861), *Eupteryx decemnotata* (Rey, 1891), *Eupteryx florida* (Ribaut 1936), *Eupteryx melissae* (Curtis 1837) und *Emelyanoviana mollicula* (Boheman, 1845) (Meyer et al., 2010, Nickel et al., 2014). Eine Gesamtübersicht der in Südtirol nachgewiesenen Zikaden gibt die Publikation von Remane & Hellrigl (1996) mit 240-250 Arten. In weiteren Arbeiten zur Zikadenfauna Südtirols wurden weitere Neufunde für Südtirol beschrieben (Hellrigl & Minerbi 2004, Carl 2008, Kunz et al. 2010, Fischnaller et al. 2021). In Summe wurden bis dato etwa 280 Arten in Südtirol eindeutig nachgewiesen. Welche Arten in Südtirol speziell in Kräuteraanbauflächen vorkommen ist jedoch bislang noch nicht untersucht worden. Zu diesem Zweck wurde im Rahmen dieses Projektes die Zikadenfauna innerhalb kleinstrukturierter Kräuteraanbauflächen Südtirols erhoben. Um einen ersten Überblick zu erhalten, welche Zikadenarten auf welchen Arznei- und Gewürzpflanzenarten vorkommen, wurden sechs verschiedene Pflanzenarten beprobt. Die Ergebnisse dienen als Grundlage für weitere Forschungsarbeit zum Thema ökologische Schädlingsbekämpfung wie der Push-Pull-Strategie. Diese nachhaltige Bekämpfungsstrategie nutzt die anlockende bzw. abstoßende Wirkungen bestimmter Heil- und Gewürzpflanzen auf Zikaden, um deren Populationen auf den kultivierten Pflanzenarten zu reduzieren (vgl. Lenne et al., 2017, Niu et al., 2022). Die erfolgreiche Umsetzung solcher Methoden erfordert ein ausgezeichnetes Verständnis der ökologischen Wechselwirkungen zwischen Zikaden und Pflanzen (Lenne et al., 2017). Aus diesem Grund wird in weiteren Untersuchungen das Fressverhalten der unterschiedlichen Zikadenarten anhand von DNA-Sequenzierungsanalysen genauer untersucht.

Material und Methoden

Die Erhebungen erfolgten im Sommer 2020 und 2021. Die Hauptuntersuchungsfläche befand sich in Labers (Meran, 620 m ü. d. M), zusätzlich wurden in Laurein (1100 m ü. d. M., nur Jahr 2020) und in Wiesen (Pfitsch, 980 m ü. d. M., nur Jahr 2021) einzelne Beprobungen durchgeführt. Um die Zikadenfauna zu erfassen, wurden an 3 Zeitpunkten während der Vegetationsperiode Kescherungen

durchgeführt (Ende Juni, Ende Juli, Anfang September). Untersucht wurden Zitronenmelisse, (*Melissa officinalis* L.), Pfefferminze (*Mentha x piperita* L.), Salbei (*Salvia officinalis* L.), Rosmarin (*Rosmarinus officinalis* L.), Brennessel (*Urtica dioica* L.) und Origan (*Origanum vulgare* L.). Für Zitronenmelisse wurde zusätzlich eine Kescherung in Laurein und zwei Kescherungen in Wiesen (Pfitsch) durchgeführt. Die Anbauflächen der einzelnen Kulturen beschränkten sich auf wenige 50 bis 400 m², daher waren die Grenzlindichten der Untersuchungsflächen generell hoch. Für das Abfangen der Zikaden wurden mit einem Fangnetz für den Insektenfang (Kescher) jeweils 5 Schwünge pro Kescherung durchgeführt. Die Proben wurden anschließend am Versuchszentrum Laimburg bei -20 °C tiefgefroren und bis zur Sortierung aufbewahrt. Die Bestimmung der vorkommenden Zikadenarten erfolgte in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Entomologie des Instituts für Pflanzengesundheit des Versuchszentrums Laimburg. Die taxonomische Identifizierung basiert auf den Standardwerken von Ossiannilsson (1978-1983) und Biedermann & Niedringhaus (2004). Eine taxonomische Zuordnung der Nymphen wurde in dieser Studie nicht vorgenommen. Für jede untersuchte Pflanzenart wurde die Dominanz der vorkommenden Zikadenarten ermittelt, die Klassifizierung der Artdominanz erfolgte nach Engelmann, 1978. Über die Dominanz (D) wird die relative Häufigkeit einer Art im Vergleich zu den restlichen Arten beschrieben; sie stellt den Prozentsatz dar, mit dem eine Art in den gesamten Individuen-Fängen vertreten ist (Mühlenberger et al., 1993; Engelmann, 1978; Kunz et al., 2011).

Vorläufige Ergebnisse und laufende Untersuchungen

Die vorliegenden Ergebnisse geben erste Auskünfte über die in Südtirols Kräuteranbauflächen vorkommenden Zikadenarten. Die identifizierten Arten gehören 3 Familien an: Cicadellidae (Unterfamilien: Typhlocibinae, Deltocephalinae), Delphacidae und Cixiidae. Von insgesamt 1.615 gekescherten Adulttieren wurden 1.317 Individuen auf Artniveau identifiziert und 15 Arten zugeordnet. Fünf Arten gehören der Gattung *Eupteryx* (Cicadellidae: Thyphlocybinae) an, von der zahlreiche Vertreter als Schädlinge im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau bekannt sind (Blum et al., 2011). Einige Zikaden, insbesondere weibliche Adulttiere (273 Individuen), konnten aufgrund fehlender morphologischer Merkmale nicht eindeutig auf Artniveau angesprochen werden. 25 Individuen konnten nur auf Gattungs- oder Familienebene angesprochen werden (in Tabelle 1 als „not specified“ angegeben). Generell gut vertreten waren die polyphagen Kleinzikaden *Em. mollicula*, *E. atropunctata* und *E. decemnotata*, drei in ganz Mitteleuropa etablierte Arten (Nickel et al., 2014). *Eupteryx curtisii* (Flor, 1861), (oligophag), kam ausschließlich auf Zitronenmelisse vor. In Mitteleuropa ist die Art sonst nahezu auf allen kultivierten ausdauernden Lamiaceen anzutreffen (Nickel et al., 2014). Auf Zitronenmelisse wurden insgesamt zehn Arten nachgewiesen. Neben *Eu. curtisii* zählten *Eu. atropunctata* und *Em. mollicula* zu den Hauptarten, diese wurden in über 90 % der Fänge nachgewiesen. Auf Pfefferminze wurden acht Zikadenarten identifiziert, wobei *Em. mollicula*, *E. atropunctata* und *E. decemnotata* die dominanten Arten waren (85,5 %). Auf Rosmarin sind über beide Studienjahre lediglich vier verschiedene Arten festgestellt worden, wobei *E. decemnotata* mit Abstand am häufigsten vertreten war (98,4 %), eine oligophage Art, die bekanntlich fast ausschließlich auf kultivierten Pflanzenarten vorkommt und für die *R. officinalis* eine der Hauptwirtspflanzen darstellt (Mazzoni & Conti 2006; Nickel et al., 2014). Auf *O. vulgare* wurden drei Arten nachgewiesen, wobei *Em. mollicula* am stärksten vertreten war (73,7 %). Auf Salbei wurden sechs Arten dokumentiert, auch hier waren vor allem *Em. mollicula*, *E. atropunctata* und *E. decemnotata* präsent (Tab. 1). An Brennesselpflanzen wurden 2020 kaum Zikaden-Individuen nachgewiesen, im zweiten Erhebungsjahr wurden allerdings 25 Individuen einer Art erfasst, die sonst auf keiner anderen Pflanzenart beobachtet wurde, die Winden-Glasflügelzikade (*Hyalesthes obsoletus*), eine Art dessen Larven typischerweise auf *Urtica*-Arten vorkommen (Kunz et al., 2011). Bei den Anbauflächen handelt es sich um kleine,

strukturell vielfältige, relativ komplexe landwirtschaftliche Flächen, die reich an nicht pflanzlichen Elementen sind (Zäune, Trockenmauern, Felsen usw.), z. T. von Hecken, Wald und Obstwiesen umgeben sind und auf denen eine große Vielzahl an Pflanzenarten auf relativ kleinem Raum angebaut wird. Diese Flächen bieten somit Lebensraum sowie eine konstante Nahrungsquelle für zahlreiche Tierarten (Obwegs et al., 2023). Es ist daher anzunehmen, dass die Anzahl an Zikadenarten auf den untersuchten aufgrund der hohen Grenzliniendichten und der strukturellen Vielfalt der Umgebung erhöht ist. Bei den rezedent (1,0–3,1 %), subrezedent (0,32–0,99 %) sowie sporadisch (<0,32 %) vorkommenden Arten handelt es sich vermutlich nur um Zufallsfänge, also keine Arten, die sich explizit in Kräuteraanbauflächen vermehren und dort als typische Schädlinge auftreten (Engelmann, 1978; Kunz et al. 2011; Nickel et al. 2014).

Tab. 1. Artliste und relative Häufigkeiten (%) der unterschiedlichen Zikadenarten auf den beprobten Pflanzenarten über beide Jahre

Tab. 1. *Auchenorrhyncha species and their relative abundances (%) on the different MAPs over the two years*

	Σ	%	<i>Melissa officinalis</i> L.	<i>Mentha x piperita</i> L.	<i>Origanum vulgare</i> L.	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<i>Salvia officinalis</i> L.	<i>Urtica dioica</i> L.
<i>Emelyanoviana mollicula</i>	273	16,90	16,7	48,1	73,7	0,6	25,0	3,3
<i>Eupteryx atropunctata</i>	400	24,77	31,0	21,4	15,8	0,3	51,1	6,7
<i>Eupteryx curtisii</i>	207	12,82	20,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Eupteryx cf. curtisii</i> ¹	272	16,84	26,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Eupteryx decemnotata</i>	375	23,22	2,3	16,0	0,0	98,4	15,2	0,0
<i>Eupteryx cf. stachydearum</i> ¹	1	0,06	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Eupteryx notata</i>	5	0,31	0,2	0,8	5,3	0,0	1,1	0,0
<i>Empoasca decipiens</i>	1	0,06	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Euscelis incisus</i>	1	0,06	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3
<i>Hardya tenuis</i>	3	0,19	0,1	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hyalesthes obsoletus</i>	25	1,55	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	83,3
<i>Laodelphax striatella</i>	4	0,25	0,1	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Macrosteles ossiannilssoni</i>	1	0,06	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0
<i>Ophiola decumana</i>	15	0,93	1,0	3,8	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Philaenus spumarius</i>	3	0,19	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Psammotettix gr. alienus</i>	4	0,25	0,0	0,8	0,0	0,0	3,3	0,0
<i>Zyginidia pullula</i>	0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0
not specified (n)	25	1,55	1,2	5,3	5,3	0,3	3,3	3,3

Identifizierung pflanzenspezifischer DNA

Zur Aufklärung des Fressverhaltens der am häufigsten gefundenen Zikadenarten ist die Durchführung einer DNA-Sequenzierungsanalyse geplant. Um Rückschlüsse darauf ziehen zu können, von welchen Pflanzenarten sich die unterschiedlichen Zikadenarten ernähren, sprich welche Arznei- und Gewürzpflanzen von welchen Arten befallen werden, wird mithilfe einer speziellen Technologie (deep-sequencing-technology) DNA aus dem gesamten Körper des Insekts extrahiert und auf das Vorhandensein von pflanzlicher DNA untersucht (vgl. Barthel et al., 2020). Diese Analysen erfolgen in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Funktionelle Genomik, Fachbereich Molekular- und Mikrobiologie des Versuchszentrums Laimburg.

¹ aufgrund fehlender morphologischer Merkmale nicht eindeutig bestätigt

Literatur

- Barthel, D., Schuler, H., Galli, J., Borruso, L., Geier, J., Heer, K., Burckhardt, D., Janik, K., 2020: Identification of plant DNA in adults of the Phytoplasma vector *Cacopsylla picta* helps understanding its feeding behavior. *Insects*, 11(12), p. 835.
- Biedermann, R., Niedringshaus, R., 2004: Die Zikaden Deutschlands – Bestimmungstabellen für alle Arten. WABV-Fründ, Scheeßel.
- Blum, H., Jung, K., Nickel, H., Planer J., 2011: Entwicklung praxistauglicher Strategien zur Regulierung von Zikaden im ökologischen Arznei- und Gewürzpflanzenanbau im Freiland und unter Glas.
- Carl, M., 2008: Die Zikaden (Insecta, Auchenorrhyncha) des Schlern (Südtirol, Italien). *Gredleriana*, 8, p. 321-340.
- Engelmann, H.D., 1978: Zur Dominanzklassifizierung von Bodenarthropoden. *Pedobiologia*, 18, p. 378-280.
- Fischnaller, S., Parth, M., Messner, M., Stocker, R., Kerschbamer, C. and Janik, K., 2020: Surveying Potential Vectors of Apple Proliferation Phytoplasma: Faunistic Analysis and Infection Status of Selected Auchenorrhyncha Species. *Insects*, 12(1), p.12.
- Hellrigl, K., Minerbi, S., 2004: Monitoring-Erhebungen zur Zikadenfauna Südtirols 1992–2000 (Homoptera, Auchenorrhyncha). *Faune Fr*, 1, p. 41-54.
- Holzinger, W. E., Kammerlander, I., Nickel, H., 2003: Die Zikaden Mitteleuropas (Vol. 1). Brill.
- Kunz, G., Roschatt, C., Schweigkofler, W., 2010: Biodiversity of plant-hoppers (Auchenorrhyncha) in vineyards infected by the Bois noir phytoplasma. *Gredleriana*, 10, p. 89–108.
- Kunz, G., Nickel, H. & Niedringshaus, R., 2011: Fotoatlas der Zikaden Deutschlands – Photographic Atlas of the Planthoppers and Leafhoppers of Germany. WABV-Fründ, Scheeßel.
- Lenne, F., Carron, C.A., Baroffio, C., 2017: Swiss Herbal Note 3-Push & Pull: a new approach to the control of cicadas on labiates. *Agroscope Transfer*, (195).
- Mazzoni, V., Conti, B., 2006: Le tiflocibine dannose alle aromatiche in Toscana, *Informatore Fitopatologico*, p. 35-38.
- Meyer, U., Blum, H., Gärber, U., Hommes, M., Pude, R., Gabler J., 2010: Praxisleitfaden Krankheiten und Schädlinge im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau. DPG Selbstverlag.
- Mühlenberger, M., Behre, G.F., Bogenrieder, A, 1993: Freilandökologie. 3. überarb. Auflage. Quelle & Meyer UTB für Wissenschaft, p. 595.
- Nickel, H., Blum, H., Jung, K, 2014: Verbreitung und Biologie der an mitteleuropäischen Arznei- und Gewürzpflanzen schädlichen Blattzikaden (Hemiptera: Cicadellidae, Typhlocybinae). *Cicadina* 14, p. 13-42.
- Niu, Y., Han, S., Wu, Z., Pan, C., Wang, M., Tang, Y., Zhang, Q.H., Tan, G., Han, B., 2022: A push–pull strategy for controlling the tea green leafhopper (*Empoasca flavescens* F.) using semiochemicals from *Tagetes erecta* and *Flemingia macrophylla*. *Pest Management Science*, 78(6), p. 2161-2172.
- Obwegs, L., Nocker, L., Guariento, E., Mörl, G. v., Fontana, P., Anderle, M., Paniccia, C., Plunger, J., Tappeiner, U., Hilpold, A., Pramsohler, M., 2023: Biodiversity surveys in medicinal and aromatic plant fields. *Laimburg Journal*. Kurz vor Veröffentlichung.
- Ossianilsson, F., 1978: The Auchenorrhyncha (Homoptera) of Fennoscandia: Part 1: Introduction, infraorder Fulgoromorpha. In *Fauna Entomologica Scandinavia, Scandinavia*; Lyneborg, L., Ed.; Scandinavia Science Press: Copenhagen, Denmark, p. 1–222.
- Ossianilsson, F., 1981: The Auchenorrhyncha (Homoptera) of Fennoscandia: Part 2: The families Cicadidae, Cercopidae, Membracidae, and Cicadellidae (excl. Deltocephalinae). In *Fauna*

Entomologica Scandinavia; Lyneborg, L., Ed.; Scandinavia Science Press: Copenhagen, Denmark, p. 223–593.

Ossianilsson, F., 1983: The Auchenorrhyncha (Homoptera) of Fennoscandia: Part 3: The family Cicadellidae: Deltocephalinae, Catalogue, Literature and Index. In Fauna Entomologica Scandinavia; Lyneborg, L., Ed.; Scandinavia Science Press: Copenhagen, Denmark, p. 1–338.

Remane, R., Hellrigl, K., 1996: Auchenorrhyncha (Cicadina) - Zikaden. – In: Hellrigl, K. (ed.), Die Tierwelt Südtirols: p. 365-383. – Veröff. Nat.-Mus. Südtirol Bozen, Bd.1: p. 832.

Posterbeitrag zum Themenkreis: Biodiversität

Biodiversitätsmonitoring im Südtiroler Kräuteraanbau

Biodiversity surveys in medicinal and aromatic plant fields in South Tyrol

Lisa Obwegs¹, Laura Nocker², Elia Guariento¹, Georg v. Mörl, Livia Zanotelli³, Paolo Fontana³, Ulrike Tappeiner^{1,4}, Andreas Hilpold¹, Manuel Pramsohler²

¹Eurac Research, Institut für Alpine Umwelt, Drususallee 1, 39100 Bozen, Italien

²Versuchszentrum Laimburg, Laimburg 6, 39040 Auer, Italien

³Fondazione Edmund Mach, Centro Trasferimento Tecnologico, Via Mach 1, 38098 San Michele all'Adige, Italien

⁴Universität Innsbruck, Institut für Ökologie, Technikerstrasse 25, 6020 Innsbruck, Österreich
manuel.pramsohler@laimburg.it

DOI: 10.5073/20230821-153536-0

Zusammenfassung

Der Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen zeichnet sich in der Regel durch vielfältige Anbaukulturen auf relativ kleinen Flächen aus. Dies gilt insbesondere für Südtirol, wo diese Kulturen hauptsächlich von kleinen Betrieben im Berggebiet angebaut werden. Dieser kleinflächige Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen lässt vermuten, dass die Betriebe einen hohen ökologischen Wert haben. Es gibt wenige Studien zur Erfassung der Biodiversität im Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen. Daher wurden in dieser Arbeit Kräuteraanbau-Betriebe als Lebensraum für blütenbesuchende Arthropoden untersucht. An drei Untersuchungsstandorten wurden im Jahr 2021 jeweils an drei Terminen Farbschalen zur Sammlung von Arthropoden verwendet. Kräuteraanbau-Betriebe stellten sich als ein wertvoller Lebensraum für verschiedene Arthropoden heraus. Insgesamt wurden 12.570 Individuen mit den Farbschalen gesammelt. Insbesondere Wildbienen waren mit 10 % des regionalen Artenpools sehr artenreich. Auch potenzielle Schädlinge, wie zum Beispiel Blattläuse, waren sehr häufig anzutreffen, wobei natürliche Feinde, wie zum Beispiel Parasitoide, ebenfalls zahlreich vertreten waren. Insgesamt können Kräuteraanbaubetriebe als strukturreiche Oasen für Arthropoden fungieren und sich somit auf einer breiteren Skala positiv auf die Biodiversität auswirken.

Stichwörter: Agrarökosysteme, Arznei- und Gewürzpflanzen, Bestäuber, Biodiversitätsmonitoring, Wildbienen

Abstract

Medicinal and aromatic plants in mountain regions such as South Tyrol are cultivated on small-scale farms, which are characterized by a high diversity of cultivated crop species grown on a relatively small area. This small-scale cultivation of medicinal and aromatic plants suggests that MAP fields are of high ecological value. However, research on this topic is generally lacking. In this study flower-visiting arthropods were recorded with pan traps in three herb fields during three survey events conducted in 2021. Our results indicate that medicinal and aromatic plant fields are valuable habitats for several taxa. In total 12.570 individuals were collected. Wild bees were particularly species-rich, accounting for 10 % of the regional wild bee species pool. Next to beneficial arthropods, potential pests, such as aphids were also highly abundant. However, natural enemies possibly counteracting pests were also numerous. Overall, we conclude that medicinal and aromatic plant cultivation may act as resource-rich oases for several arthropod groups, thereby promoting biodiversity also on a broader scale.

Keywords: agroecosystems, biodiversity monitoring, medicinal and aromatic plants, pollinator, wild bee

Einleitung

Der Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen zeichnet sich in der Regel durch vielfältige Anbaukulturen auf relativ kleinen Flächen aus. Das trifft besonders auch auf den Kräuteraanbau in Südtirol zu, dieser stellt eine Nische in der Südtiroler Landwirtschaft dar. Ungefähr 50 Betriebe bewirtschaften etwa 25 ha Anbaufläche, wobei die bewirtschaftete Fläche pro Betrieb oft nur wenige 1.000 m² umfasst. Trotz der kleinen Flächen werden oft mehr als 80 verschiedene Pflanzenarten angebaut. Im Anbau sind einjährige und mehrjährige Kulturen zu finden, bei den mehrjährigen Arten gibt es immergrüne und laubabwerfende Arten. Genutzt werden überwiegend das oberirdische Kraut oder die Blüten.

Dieser kleinflächige Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen lässt vermuten, dass die Betriebe einen hohen ökologischen Wert haben (Šálek et al., 2018). Die Anbauflächen sind zudem meistens reich an Strukturen wie Hecken, Zäunen und Trockenmauern und können kontinuierliche und vielfältige Nahrungsquellen für Arthropoden und andere Tiere bieten. Ein nachhaltiger Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen kann dazu beitragen, die biologische Vielfalt von Agrarökosystemen zu erhalten und zu verbessern (Licata et al., 2022). Bisher sind nur wenige Studien zu diesem Thema durchgeführt worden. Die meisten zoologischen Studien, die bei Arznei- und Gewürzpflanzen durchgeführt wurden, konzentrierten sich auf schädliche Arthropoden (Hoppe et al., 2007), wie Käfer (Blattkäfer, Rüsselkäfer; Pramsohler et al., 2022), Zikaden (Meyer et al., 2010; Nickel et al., 2014), Blattläuse, phytophage Thripse (Meyer et al., 2010; Pobożniak & Sobolewska, 2011) und Milben (Gupta & Karmakar, 2011). Nur wenige Studien haben sich mit anderen Insektengruppen, wie z. B. Bestäubern befasst (Kumari & Ravinder, 2017; Venkatesh et al., 2022). Um diese Lücke zu schließen, haben wir verschiedene Arthropodengruppen untersucht, wobei unser Augenmerk auf blütenbesuchenden Insekten, einschließlich Bestäuber- und Schädlingsarten lag. Für die Erhebung wurden Farbschalen verwendet. Farbschalen sind eine selektive Sammelmethode, sie eignen sich besonders für Erhebungen von in der Vegetation vorkommenden und blütenbesuchenden Arthropoden.

Material und Methoden

Die Erhebungen wurden von Mai bis August 2021 an drei Kräuteraanbau-Betrieben in Südtirol (Meran (620 m MH), Kastelruth (800 m MH) und Wiesen (980 m MH)) durchgeführt. Die Daten wurden im Rahmen des Projektes Biodiversitätsmonitoring Südtirol (Hilpold et al., 2023) von Eurac Research in Zusammenarbeit mit dem Versuchszentrum Laimburg erhoben. An allen drei Standorten kamen Farbschalen zum Einsatz, mit deren Hilfe sowohl Insektengruppen, die in der Vegetation leben (Pflanzenläuse, Zikaden), als auch solche die das Blütenangebot zum Nektar sammeln nutzen (v.a. Wildbienen und Schwebfliegen), gesammelt werden konnten. Die Farbschalen wurden in Bereichen mit hoher Kulturpflanzenvielfalt, wie zum Beispiel Schnittpunkten von verschiedenen Anbauflächen aufgestellt. Die Höhe der Farbschalen wurde an die Wuchshöhe der umgebenden Arznei- und Gewürzpflanzen angepasst. Die Erhebungen wurden an drei Terminen im Sommer (Ende Juni, Ende Juli, Ende August) mit jeweils vier Farbschalen-Sets bestehend aus einer gelben, einer weißen und einer blauen Farbschale (Farbschalen pro Fläche und Erhebungsrunde = 12) durchgeführt. Die Farbschalen wurden mit Seifenwasser gefüllt und nach 24 Stunden wieder eingesammelt. Anschließend wurden Collembolen auf Klassenniveau und Arthropoden auf Ordnungsniveau bestimmt. Für einige Arthropodengruppen (Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Hemiptera und Arachnidae) erfolgte die Bestimmung auch auf niedrigerer taxonomischer Ebene (Familien-, Gattungs- oder Artniveau). Alle gesammelten Bockkäfer, Prachtkäfer und Wildbienen wurden auf Artniveau bestimmt.

Ergebnisse

Insgesamt konnten mit den Farbschalen 12.570 Individuen gesammelt werden (siehe Tabelle 1). Die häufigsten Pflanzenschädlinge waren Pflanzenläuse (Sternorrhyncha) mit 793 Individuen und Thripse (Thysanoptera) mit 1.977 Individuen. Insgesamt wurden 15 blütenbesuchende Bockkäfer-Arten und sieben Prachtkäfer-Arten erfasst. Unter den Bestäubern waren die Wildbienen mit 235 Individuen und 50 Arten die häufigste Bestäubergruppe. An den drei Standorten konnten 10 % der in Südtirol vorkommenden Wildbienenarten erfasst werden. Rund 18 % der erfassten Wildbienen sind oligolektisch, davon waren 78 % auf Korbblütler und jeweils 11 % auf Geißblatt- und Glockenblumengewächse spezialisiert (Scheuchl & Willner, 2016; Westrich, 2018). Bestäuber wie Schwebfliegen (Syrphidae) und Honigbienen waren jeweils mit 222 und 151 Individuen vertreten. Insgesamt wurden 334 Parasitoide gefunden. Aphelinidae, Encyrtidae und Aphidiinae (Braconidae), welche vor allem als Parasitoide bei Pflanzenläusen auftreten (Goulet & Huber, 1993), machten 38,4 % der gesamten Parasitoide aus. Detaillierte Ergebnisse zu den gefundenen Arten können in Obwegs et al., 2023 nachgelesen werden.

a)



b)



Abb. 1 a. Kräuterbetrieb am Standort Kastelruth; **b.** Farbschalenset mit gelber, weißer und blauer Farbschale
Fig. 1 a. Medicinal and aromatic plant field at the site in Kastelruth; **b.** A pan trap set consisting of a yellow, a white, and a blue pan trap

Tab. 1. Mit Farbschalen erfasste Arthropoden an den drei Untersuchungsstandorten (M: Meran, K: Kastelruth, W: Wiesen)

Tab. 1. *Arthropods collected with pan traps at the three field sites (M: Meran, K: Kastelruth, W: Wiesen)*

	Taxa	Anzahl	M	K	W	Durchschnitt (\pm SD) / Standort	
	Coleoptera varia	524	247	188	89	174,7 (SD \pm 79,8)	
	Buprestidae	89	12	53	24	29,7 (SD \pm 21,1)	
	Cerambycidae	29	4	5	20	9,7 (SD \pm 9)	
	Curculionidae	7	5	1	1	2,3 (SD \pm 2,3)	
	Diptera varia	7.585	1.303	2.686	3.596	2.528,3 (SD \pm 1.154,6)	
	Syrphidae	222	28	155	39	74 (SD \pm 70,4)	
Zieltaxa von Farbschalen	Parasitoide/Cynipoidea	334	123	138	73	111,3 (SD \pm 34)	
	Wildbienen	235	67	91	77	78,3 (SD \pm 12,1)	
	<i>Apis mellifera</i>	151	74	57	20	50,3 (SD \pm 27,6)	
	Symphyta	100	4	16	80	33,3 (SD \pm 40,9)	
	Vespoidea/Spheciformes	86	29	14	43	28,7 (SD \pm 14,5)	
	Sternorrhyncha	793	409	255	129	264,3 (SD \pm 140,2)	
	Thysanoptera	1.977	951	776	250	659 (SD \pm 364,9)	
	Lepidoptera	23	5	8	10	7,7 (SD \pm 2,5)	
		Acari	206	34	53	119	68,7 (SD \pm 44,6)
		Heteroptera	70	22	41	7	23,3 (SD \pm 17)
	Auchenorrhyncha	63	23	19	21	21 (SD \pm 2)	
	Collembola	32	3	17	12	10,7 (SD \pm 7,1)	
Nicht-Zieltaxa von Farbschalen	Formicidae	23	17	5	1	7,7 (SD \pm 8,3)	
	Araneae/Opiliones	10	3	3	4	3,3 (SD \pm 0,6)	
	Mecoptera	4	1		3	1,3 (SD \pm 1,5)	
	Dermaptera	3		2	1	1 (SD \pm 1)	
	Psocoptera	3	2		1	1 (SD \pm 1)	
	Orthoptera	1			1	0,33 (SD \pm 0,6)	
	Gesamt-Anzahl	12.570	3.366	4.583	4.621		

Literatur

- Goulet H., Huber J.T. (eds.) (1993): Hymenoptera of the world. An identification guide to families. Canada Communication Group, Ottawa, Canada, p. 65-529.
- Gupta S.K., Karmakar K. (2011): Diversity of mites (Acari) on medicinal and aromatic plants in India. *Zoosymposia* 6, 56-61, DOI: 10.11646/zoosymposia.6.1.10.
- Hilpold A., Anderle M., Guariento E., Marsoner T., Mina M., Paniccia C., Plunger J., Rigo F., Rüdissler J., Scotti A., Seeber J., Steinwandter M., Stifter S., Strobl J., Suárez-Munoz M., Vanek M., Bottarin R., Tappeiner U. (2023): Handbook – Biodiversity Monitoring South Tyrol. Eurac Research, Bolzano, Italy, DOI: 10.57749/2qm9-fq40.
- Hoppe B. (ed.) (2007): Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus. Bd. 3: Krankheiten und Schädigungen an Arznei- und Gewürzpflanzen. SALUPLANTA e. V., Bernburg, Germany.
- Kumari B., Ravinder R. (2017): Pollination studies in *Tagetes minuta*, an important medicinal and aromatic plant. *Medicinal Plants – International Journal of Phytomedicines and Related Industries* 9 (2), 140-142, DOI: 10.5958/0975-6892.2017.00021.1.

- Licata M., Maggio A.M., La Bella S. et al. (2022): Medicinal and aromatic plants in agricultural research, when considering criteria of multifunctionality and sustainability. *Agriculture* 12 (4), 529, DOI: 10.3390/agriculture12040529.
- Meyer U., Blum H., Gärber U. et al. (2010): Praxisleitfaden Krankheiten und Schädlinge im Arznei- und Gewürzpflanzenanbau. Julius Kühn-Institut Selbstverlag, Braunschweig, Germany.
- Nickel H., Blum H., Jung K. (2014): Verbreitung und Biologie der an mitteleuropäischen Arznei- und Gewürzpflanzen schädlichen Blattzikaden (Hemiptera: Cicadellidae, Typhlocybinae). *Cicadina* 14, 13-42, DOI: 10.25673/92235.
- Obwegs L., Nocker L., Guariento E., Mörl Georg v., Fontana P., Anderle M., Paniccia C., Plunger J., Tappeiner U., Hilpold A., Pramsohler M. (2023): Biodiversity surveys in medicinal and aromatic plant fields. *Laimburg Journal*. kurz vor Veröffentlichung.
- Pobożniak M., Sobolewska A. (2011): Biodiversity of thrips species (Thysanoptera) on flowering herbs in Cracow, Poland. *Journal of Plant Protection Research* 51 (4), 393-398, DOI: 10.2478/v10045-011-0064-2.
- Pramsohler M., Gallmetzer A., Castellan A. et al. (2022): Erster Nachweis und molekularbiologische Bestimmung von *Donus intermedius* (Coleoptera: Curculionidae) als Schädling bei Zitronenmelisse in Südtirol. *Laimburg Journal* 4, DOI: 10.23796/LJ/2022.003.
- Šálek M., Hula V., Kipson M. et al. (2018): Bringing diversity back to agriculture. Smaller fields and non-crop elements enhance biodiversity in intensively managed arable farmlands. *Ecological Indicators* 90, 65-73, DOI: 10.1016/j.ecolind.2018.03.001.
- Scheuchl E., Willner W. (2016): Taschenlexikon der Wildbienen. Alle Arten im Porträt. Quelle und Mayer, Wiebelsheim, Germany, pp. 100-817.
- Venkatesh Y.N., Neethu T., Ashajyothi M. et al. (2022): Pollinator activity and their role on seed set of medicinal and aromatic Lamiaceae plants. *Journal of Apicultural Research*, Vol. ahead-of-print, DOI: 10.1080/00218839.2022.2080949.
- Westrich P. (2018): Die Wildbienen Deutschlands. Ulmer, Stuttgart, Germany, pp. 399-719.

Posterbeitrag zu Themenkreis: Ernte und Nacherntetechnologie

Trocknungskinetik und Farbveränderung von *Cannabis sativa* L. während der konvektiven Heißlufttrocknung

Drying kinetics and effect on color during convective hot-air drying of Cannabis sativa L.

Alice-Jacqueline Reineke¹, Lisa Lesser², Simone Graeff-Hönninger², Joachim Müller¹

¹Tropics and Subtropics Group, Institute of Agricultural Engineering, University of Hohenheim, Garbenstraße 9, 70599 Stuttgart, Germany

²Profile Department Agronomy, Institute of Crop Science, University of Hohenheim, Fruwirthstraße 23, 70599 Stuttgart, Germany

a.reineke@uni-hohenheim.de

DOI 10.5073/20230821-154100-0

Zusammenfassung

In Folge der Verabschiedung des Koalitionsvertrags im Jahr 2021 ist die Pflanze *Cannabis sativa* L. in den Fokus der Medien und Forschung gerückt. Um Empfehlungen für eine Standardisierung des Trocknungsprozesses der Blütendroge aussprechen zu können, bedarf es weiterer Forschung. Das et al. (2022) weisen daraufhin, dass es derzeit noch kein Modell zur Vorhersage des Trocknungsendes und der Trocknungszeit gibt. Unsere Ziele waren (i) die Modellierung der Trocknungskinetik von zwei phytocannabinoidreichen medizinischen Genotypen bei verschiedenen Temperaturen (20, 40, 60 °C) und (ii) die Bewertung des Einflusses von Trocknungstemperatur auf die Farbe des Blütenmaterials. Die Versuchsergebnisse zeigen ein typisches Trocknungsverhalten. Die Trocknungskurven von Genotyp B weisen eine geringere negative Steigung als die Trocknungskurven von Genotyp A auf. Die kompakteren Blüten von Genotyp B verlangsamen die Trocknungsrate im Vergleich zu Genotyp A. Bei 20 °C zeigt das Page-Modell für beide Genotypen das höchste Bestimmtheitsmaß (R^2) und die niedrigste Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme (RMSE). Bei 40 und 60 °C zeigt das Midilli-Modell die beste Kombination aus R^2 und RMSE. Die Farbveränderungen durch die Trocknung sind geringfügig und selbst die höchste Trocknungstemperatur von 60 °C hat keinen Einfluss auf die Farbe.

Stichwörter: Hanf, Marihuana, Trocknungskurve

Abstract

As a result of the adoption of the coalition agreement in 2021, the plant *Cannabis sativa* L. has become the focus of media and research. Further research is needed to make recommendations for standardizing the drying process of the flowers. Das et al. (2022) point out that there is currently no model to predict the end of drying and the drying time. Our objectives were (i) to model the drying kinetics of two phytocannabinoid-rich medicinal genotypes at different temperatures (20, 40, 60 °C) and (ii) to evaluate the effect of drying temperature on the color of the flowers. The experimental results show typical drying behavior. The drying curves of genotype B show a lower negative slope than the drying curves of genotype A. The more compact flowers of genotype B slow down the drying rate compared to genotype A. At 20 °C, the Page model shows the highest coefficient of determination (R^2) and the lowest root mean square error (RMSE) for both genotypes. At 40 and 60 °C, the Midilli model

shows the best combination of R^2 and RMSE. The color changes due to drying are minor and even the highest drying temperature of 60 °C does not affect the color.

Keywords: hemp, marijuana, drying curve

Einleitung

In Folge der Verabschiedung des Koalitionsvertrags im Jahr 2021 ist die Pflanze *Cannabis sativa* L. in den Fokus der Medien und Forschung gerückt. Die Regierungsparteien wollen „die kontrollierte Abgabe von Cannabis an Erwachsene zu Genusszwecken in lizenzierten Geschäften“ (Sozialdemokratische Partei Deutschlands et al. 2021) einführen. Dadurch soll eine Qualitätskontrolle der Pflanzendroge ermöglicht werden. In der Vergangenheit wurde der Anbau von *Cannabis sativa* L. in Deutschland und anderen Ländern aufgrund seines Gehalts der psychoaktiven Substanz Tetrahydrocannabinol untersagt (Campiglia et al. 2017) oder stark reglementiert. Im Jahr 2022 hat das Council of Europe um Kommentare zum Entwurf für die Monographie von Cannabisblüten für das Europäische Arzneibuch gebeten (Council of Europe 2022). All diese Vorhaben zeigen den Bedarf nach einer Standardisierung im Anbau und im Nachernteprozess auf. Um Empfehlungen für eine Standardisierung des Trocknungsprozesses der Blütendroge aussprechen zu können, bedarf es weiterer Forschung. Challa et al. (2021) haben in ihrem Review dargestellt, dass es bei der industriellen Cannabistrocknung mehrere Herausforderungen gibt. So beschreiben sie, dass teilweise traditionelle Methoden wie das Aufhängen der Pflanzen am Stamm und die Trocknung bei Temperaturen zwischen 19 und 21 °C auch in industriellen Cannabis Betrieben durchgeführt wird. Durch die langen Trocknungsperioden von 5 bis 6 Tagen bei diesen Temperaturen ist das Risiko für den Verderb des Materials durch Schimmelbildung erhöht. Auch Das et al. (2022) weisen daraufhin, dass es derzeit noch kein Modell zur Vorhersage des Trocknungsendes und der Trocknungszeit gibt oder Standards, die das Trocknungsende definieren. In dieser Studie wurde das Trocknungsverhalten zweier Genotypen von *Cannabis sativa* L. untersucht. Unsere Ziele waren (i) die Modellierung der Trocknungskinetik von zwei Genotypen bei verschiedenen Temperaturen (20, 40, 60 °C) und (ii) die Bewertung des Einflusses von Trocknungstemperatur auf die Farbe des Blütenmaterials.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Zwei verschiedene Genotypen von phytocannabinoidreichem medizinischem *Cannabis sativa* L. (nicht psychoaktive Cannabinoide) wurden im Oktober 2022 auf einer zentralen Forschungsstation der Universität Hohenheim (Ihinger Hof) geerntet. Der Ihinger Hof befindet sich etwa 25 km westlich von Stuttgart (Deutschland). Beide Genotypen weisen einen erhöhten Gehalt an nicht psychoaktiven Substanzen auf. Für den Trocknungsprozess wurde die Ganzpflanze geerntet und die Einzelblüten manuell vom Stamm getrennt sowie getrimmt. Blüten von Seitentrieben mit einem Durchmesser von weniger als 2 cm wurden aussortiert. Die vorbereiteten Blüten wurden gemischt und vor dem Trocknen in einem Plastikbeutel bei 4 °C gelagert. Bevor die Blüten in die Probenhalter des Trockners gelegt wurden, wurden sie aus dem Kühlschrank entnommen und gewartet bis sie Raumtemperatur erreicht haben. Der Feuchtigkeitsgehalt der frischen Proben wurde mittels Ofenmethode (103 ± 2 °C bis zur Gewichtskonstanz) bestimmt.

Trocknungsmethode

Die Trocknungsversuche wurden in dreifacher Wiederholung mit dem Labortrockner HPD TF3+ durchgeführt, der am Institut für Agrartechnik der Universität Hohenheim entwickelt wurde (REYER et al.

2022). Die Trocknung erfolgte bei Lufttemperaturen von 20, 40 und 60 °C und einer spezifischen Feuchtigkeit von 7,28 g H₂O pro kg trockener Luft. Der Luftstrom durch die Proben betrug 0,2 m·s⁻¹. Der Labortrockner wurde mindestens 2 Stunden vor jedem Versuch eingeschaltet, um stationäre Bedingungen zu erreichen. Die Proben wurden einlagig in die Stahlgitterprobenschalen der drei Trocknungssäulen und der Flachbett-trocknungseinheit gelegt. Während des Trocknungsprozesses wurden die Massen der Proben automatisiert in einem festgelegten Zeitintervall von 20 Minuten durch Anheben der Stahlgitterprobenschalen, die an einer Waage befestigt sind, gemessen. Während der Trocknungsexperimente wurden in mehreren Abständen Proben aus der Flachbett-trocknungseinheit entnommen. Die Farbe und der Feuchtegehalt der Proben wurden direkt im Anschluss an die Entnahme bestimmt.

Modellierung der Trocknung

Der Anfangs-, Zwischen- und Endfeuchtegehalt U wurde mit der Ofenmethode (103 ± 2 °C bis zur Gewichtskonstanz) bestimmt. Der Feuchtegrad X der Proben wurde aus der während der Trocknung erfassten Masse m und des Trockensubstanzgehalts TS mit Hilfe nachfolgender Gleichung (1) berechnet:

$$X = \frac{100}{m_{GL} \cdot TS} \cdot m_t - 1$$

wobei m_{GL} die Masse der Proben im Gleichgewichtszustand und m_t die Masse der Probe zu verschiedenen Trocknungszeitpunkten darstellt.

Bei konstanter relativer Luftfeuchte kann die dimensionslose Kennzahl MR (moisture ratio) anhand der folgenden Gleichung (2) berechnet werden:

$$MR = \frac{X_t - X_{GL}}{X_1 - X_{GL}}$$

Dabei ist X_t der Feuchtegrad der Proben zu verschiedenen Trocknungszeitpunkten, X_{GL} der Gleichgewichtsfeuchtegrad und X_1 der Feuchtegrad der frischen Probe.

Tabelle 1 zeigt die in dieser Arbeit verwendeten Trocknungsmodelle zur Anpassung des Kurvenverlaufs an die experimentell ermittelten Daten.

Tab. 1. Trocknungsmodelle der Dünnschichttrocknung, die zur Modellierung der experimentellen Daten verwendet wurden

Tab. 1. Single layer drying models used for the curve fitting of the experimental data

Model name	Model	Reference
Newton	$MR = \exp(-kt)$	(LEWIS 1921)
Page	$MR = \exp(-kt^n)$	(PAGE 1949)
Henderson and Pabis	$MR = \alpha \exp(-kt)$	(HENDORSON & PABIS 1961)
Logarithmic	$MR = \alpha \exp(-kt) + b$	(CHANDRA & SINGH 1995)
Midilli	$MR = \alpha \exp(-kt) + bt$	(MIDILLI et al. 2002)

Bestimmung der Kompaktheit

Die Masse und die Länge von zehn frischen und getrimmten Blüten pro Genotyp wurden mit einer Waage bzw. einem Messschieber gemessen. Mit Hilfe der Petiole-Applikation Version 5.0.0 wurden die Flächen der zehn Blüten in der Draufsicht erfasst. Die Applikation wurde auf einem Smartphone der Kamera Leica Summilux-H1.6/27 ASPH verwendet. Jede Blüte wurde zunächst gewogen, dann wurde

die Länge entlang des Stiels gemessen und schließlich wurde die Fläche der Draufsicht aus fünf verschiedenen Perspektiven mit dem Smartphone erfasst. Der Mittelwert der fünf Draufsichtsflächen wurde berechnet. Um einen Faktor zur Beschreibung der Kompaktheit C der Blüten zu erhalten, wurde die Masse m jeder Blüte durch ihre mittlere Draufsichtsfläche A dividiert, siehe Gleichung (3):

$$C = \frac{m}{A}$$

Farbmessung

Für die Farbmessung wurde das Chroma-Meter CR-400 (Konica Minolta, Osaka, Japan) mit der Lichtquelle D65 verwendet. Die Werte L^* , b^* und a^* wurden im CIELAB-Farbraum aufgezeichnet. Jede der Wiederholungen der frischen, teilweise getrockneten und getrockneten Proben wurde nach dem Zufallsprinzip an drei verschiedenen Stellen der Blüten gemessen. Das arithmetische Mittel dieser drei Messungen wurde berechnet und in der Software des Farbmessgeräts gespeichert. Vor den Messungen wurde eine weiße Kalibrierplatte verwendet. Chroma C^* und Farbtonwinkel h° wurden unter Verwendung der folgenden Gleichungen berechnet:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$
$$h^\circ = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

Der Farbabstand ΔE zwischen den frischen und den getrockneten Proben lässt sich anhand der folgenden Gleichung berechnen, wobei Δ die Differenzen der einzelnen Werte (L^* , a^* , b^*) angibt:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$$

Statistische Analysen

Die statistische Analyse wurde mit Hilfe der Software R Version 4.2.2 (R Core Team 2022) durchgeführt. Die Merkmale Masse, Länge und Fläche wurden an zehn getrimmten Einzelblüten gemessen. Die Normalverteilung und die Varianzhomogenität wurden mit dem Shapiro-Wilk-Test (Kassambara 2023) bzw. dem Leven-Test (Fox & Sanford 2019) überprüft. Wenn die Voraussetzungen Normalverteilung und Varianzhomogenität erfüllt waren, wurden die beiden Genotypen mit Hilfe des Welch-Test und der Funktion `geom_signif` auf signifikante Unterschiede mit einem Signifikanzniveau von 5 % getestet. Waren die Voraussetzungen nicht erfüllt, wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt (Ahlmann-Eltze & Patil 2021). Die Modellierung der Trocknung fand mit den Mittelwerten der Kennzahl MR unter Anwendung der `nlm` Funktion statt (R Core Team 2022). Das Bestimmtheitsmaß (R^2) und die Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme der resultierenden Modelle wurden über die Funktion `R2_Score` (YAN 2016) bzw. die Funktion `rmse` (Hamner & Frasco 2018) berechnet. Zur Erstellung der Diagramme für diese Arbeit wurde das Paket `ggplot2` verwendet (Wickham 2016).

Ergebnisse

Kompaktheit der Blüten

Abbildung 1 zeigt die Masse, die Länge, die Fläche und die Kompaktheit der getrimmten Blüten für Genotyp A und B. Der Mittelwert der Masse der getrimmten Blüten beträgt 5,86 g für Genotyp A und 9,34 g für Genotyp B. Aufgrund der hohen Inhomogenität der Blüten des Genotyps B kann kein signifikanter Unterschied zwischen den Blütenmassen festgestellt werden. Der Mittelwert der Länge beträgt 4,97 cm bei Genotyp A und 4,95 cm bei Genotyp B. Die Mittelwerte der Flächen liegen mit 24,74 cm² bei Genotyp A und 25,73 cm² bei Genotyp B nahe zusammen. Die Mittelwerte der

Kompaktheit (Fläche geteilt durch Masse) der beiden Genotypen zeigen einen signifikanten Unterschied ($p < 0,001$).

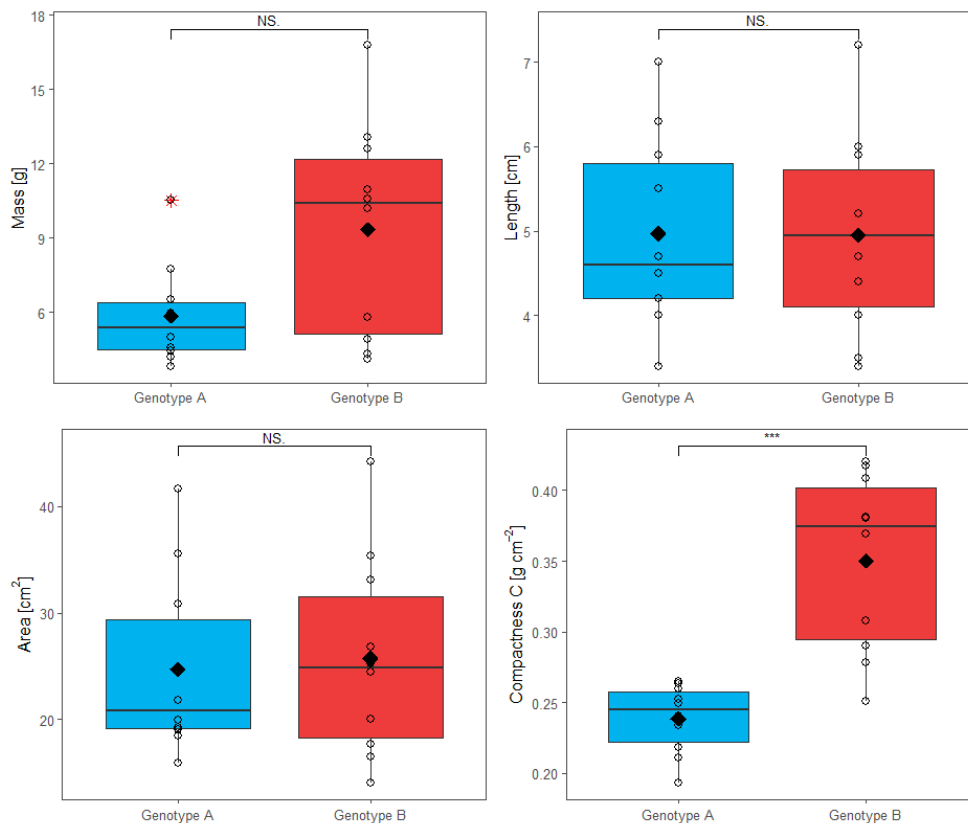


Abb. 1. Masse, Länge, Fläche und Kompaktheit des Genotyps A (n=10) und B (n=10). ◦ gemessene Datenpunkte, * Ausreißer, ◆ Mittelwerte, — Mediane, Kästen zeigen die Interquantilabstände. NS: nicht signifikant, ***: $p < 0,001$

Fig. 1. Mass, length, area and mass divided by area of the genotype A (n=10) and B (n=10). ◦ measured data points, * outliers, ◆ mean values, — medians, boxes show the interquartile ranges. NS: not significant, ***: $p < 0.001$

Trocknungsverhalten

Tabelle 2 zeigt die Koeffizienten der in dieser Studie verwendeten Dünnschichttrocknungsmodelle des Genotyps A. Die Bestimmtheitsmaße (R^2) sind für alle Temperaturen und Modelle höher als 0,96. Die Bestimmtheitsmaße für Genotyp B sind alle höher als 0,98 (Tabelle 3). Zur Identifikation der Trocknungsmodelle, die die experimentell ermittelten Daten am besten beschreiben, sind die Wurzeln der mittleren Fehlerquadratsummen (RMSE) der fünf Trocknungsmodelle angegeben. Unabhängig von Genotyp und Temperatur liefert das Newton-Modell immer den höchsten RMSE. Bei 20 °C besitzt das Page-Modell den niedrigsten RMSE für beide Genotypen. Bei 40 °C und Genotyp A sind die Ergebnisse nicht eindeutig. Die Modelle von Henderson und Pabis, das logarithmische Modell und das Midilli-Modell liefern alle ein R^2 von 0,9993 und einen RMSE von 0,006. Da das Midilli-Modell bei 60 °C für beide Genotypen und bei 40 °C für Genotyp B zum höchsten R^2 und niedrigsten RMSE führt, wurde das Midilli-Modell auch für Genotyp A bei 40 °C ausgewählt.

Tab. 2. Koeffizienten von fünf Dünnschichttrocknungsmodellen und Vergleich ihrer Modellparameter (R^2 und RMSE) sortiert nach Temperaturen für den Genotyp A**Tab. 2.** *Coefficients of five single-layer drying models and comparison of their model parameters (R^2 and RMSE) by temperature for the genotype A*

T, °C	Model	Coefficients				Parameter	
		k	n	a	b	R^2	RMSE
20	Newton	0.0012265 5				0.9614	0.0371
	Page	0.0081209 6	0.7291692 0			0.9992	0.0054
	Henderson and Pabis	0.0009875 1		0.8261220 0		0.9890	0.0198
	Logarithmic	0.0010606 9		0.8284813 0	0.0134473 3	0.9910	0.0179
	Midilli	0.0010154 5		0.8339580 0	0.0000018 1	0.9901	0.0188
40	Newton	0.0042195 3				0.9980	0.0103
	Page	0.0061681 1	0.9336504 0			0.9993	0.0061
	Henderson and Pabis	0.0040475 5		0.9597474 0		0.9993	0.0060
	Logarithmic	0.0040445 4		0.9597804 0	- 0.0001877 9	0.9993	0.0060
	Midilli	0.0040437 1		0.9594826 0	- 0.0000003 4	0.9993	0.0060
60	Newton	0.0152328 6				0.9995	0.0068
	Page	0.0165259 9	0.9815638 7			0.9995	0.0062
	Henderson and Pabis	0.0151316 6		0.9931937 3		0.9995	0.0064
	Logarithmic	0.0148564 3		0.9966713 0	- 0.0058596 5	0.9996	0.0058
	Midilli	0.0149572 1		0.9910808 0	- 0.0000220 8	0.9996	0.0057

Tab. 3. Koeffizienten von fünf Dünnschichttrocknungsmodellen und Vergleich ihrer Modellparameter (R^2 und RMSE) sortiert nach Temperaturen für den Genotyp B**Tab. 3.** Coefficients of five single-layer drying models and comparison of their model parameters (R^2 and RMSE) by temperature for the genotype B

T, °C	Model	Coefficients				Parameter	
		k	n	a	b	R^2	RMSE
20	Newton	0.0007753 3				0.9855	0.0265
	Page	0.0025578 3	0.8396233 0			0.9970	0.0120
	Henderson and Pabis	0.0006908 1		0.8960073 0		0.9955	0.0147
	Logarithmic	0.0006883 0		0.8960567 0	- 0.0008384 7	0.9955	0.0147
	Midilli	0.0006863 0		0.8941517 0	- 0.0000003 7	0.9956	0.0147
40	Newton	0.0031373 8				0.9949	0.0178
	Page	0.0047254 0	0.9320958 0			0.9966	0.0145
	Henderson and Pabis	0.0029803 2		0.9501991 0		0.9974	0.0127
	Logarithmic	0.0028134 1		0.9551207 0	- 0.0160098 1	0.9982	0.0106
	Midilli	0.0028720 5		0.9406252 0	- 0.0000113 9	0.9982	0.0104
60	Newton	0.0101220 0				0.9989	0.0092
	Page	0.0099443 7	1.0036630 0			0.9989	0.0092
	Henderson and Pabis	0.0100786 8		0.9956285 0		0.9989	0.0091
	Logarithmic	0.0095417 7		1.0044980 0	- 0.0172857 0	0.9996	0.0055
	Midilli	0.0097311 4		0.9881876 0	- 0.0000431 4	0.9997	0.0051

Die Trocknungskurven der Blüten von Genotyp A und B bei drei verschiedenen Temperaturen (20, 40, 60 °C) sind in Abbildung 2 dargestellt. Der Feuchtegehalt U des frischen Blütenmaterials lag zwischen 79,92 und 85,78 %, ohne signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen. Bei beiden Genotypen und allen Temperaturen zeigt sich ein typisches Trocknungsverhalten mit einer hohen Anfangstrocknungsrate.

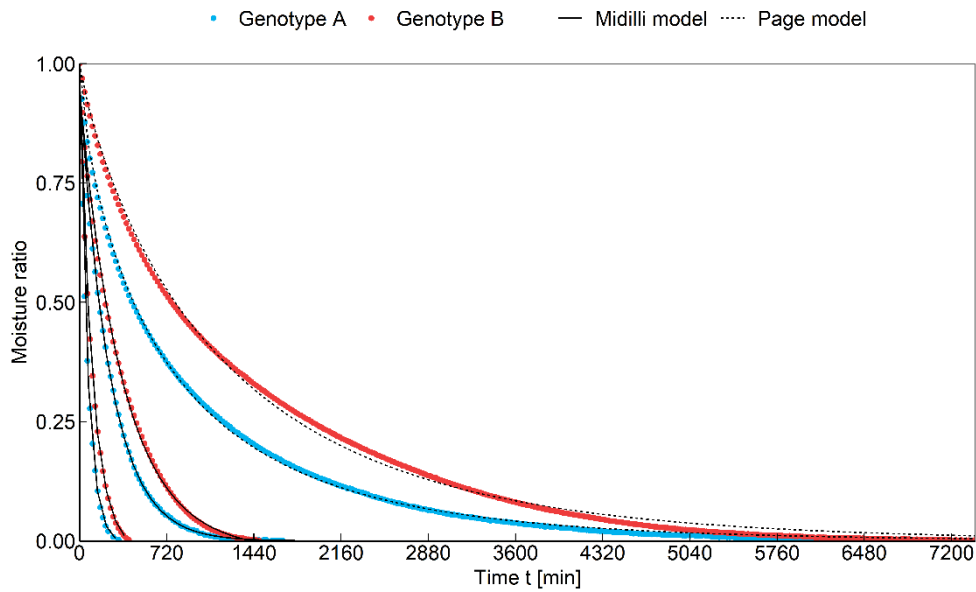


Abb. 2. Trocknungskurven von *Cannabis sativa* L. Blüten zweier Genotypen bei verschiedenen Temperaturen. Bei 20 °C sind die Kurven nach dem Page-Modell, bei 40 und 60 °C nach dem Midilli-Modell gezeichnet

Fig. 2. *Drying curves of Cannabis sativa L. inflorescence from two genotypes at different temperatures. At 20 °C lines are drawn using the Page model, at 40 and 60 °C lines are drawn using the Midilli model*

Der Einfluss der Temperatur auf die Trocknungsgeschwindigkeit ist deutlich zu erkennen. Nach etwa 6 Stunden Trocknung bei 60 °C erreichten die Proben eine Gleichgewichtsfeuchte von 6 %, während die Trocknung bei 20 °C nach 5 Tagen zu einer Gleichgewichtsfeuchte von 14 bzw. 15 % bei Genotyp A und B führte. Bei 40 °C Lufttemperatur war die Trocknung nach etwa einem Tag beendet, wobei für beide Genotypen eine Gleichgewichtsfeuchte von 9 % erreicht wurde (Tabelle 4).

Tab. 4. Trocknungszeit, Feuchtegehalt und Trocknungsmodell für Genotyp A und B bei verschiedenen Temperaturen

Tab. 4. *Drying time, moisture content and drying model for genotype A and B at different temperatures*

Temp. [°C]	Genotype	Drying time [h]	MC _{eq} [% w.b.]	Drying model
20	A	119.5	13.70 ± 0.88 ^a	MR = exp(-0.00812096 t ^{0.72916915})
20	B	130.6	14.93 ± 0.91 ^a	MR = exp(-0.002557827 t ^{0.839623259})
40	A	27.9	8.49 ± 0.20 ^b	MR = 0.95948260 exp(-0.00404371 t) - 0.00000034
40	B	24.7	9.44 ± 0.94 ^b	MR = 0.9406252 exp(-0.002872052 t) - 0.00001138736 t
60	A	5.4	6.20 ± 0.36 ^c	MR = 0.9910808 exp(-0.1495721 t) - 0.00002207943 t
60	B	6.8	5.86 ± 0.39 ^c	MR = 0.9881876 exp(-0.009731136 t) - 0.00004313848 t

Einfluss der Trocknung auf die Farbe

Abbildung 3 zeigt die Werte für Chroma und Farbtonwinkel aufgeteilt nach Genotyp A und B bei unterschiedlichen Trocknungstemperaturen. Genotyp A hat im Mittel einen Chromawert von 16,68 bei frischem Blütenmaterial und im getrockneten Zustand von 19,45. Bei Genotyp B liegt der Chromawert im frischen Zustand bei 19,79 und im getrockneten bei 19,15.

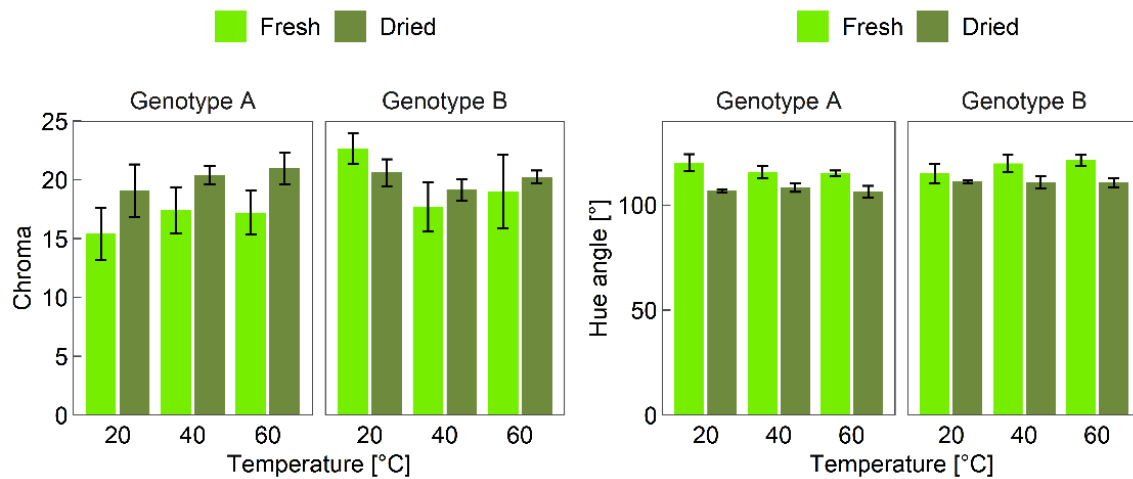


Abb. 3. Chroma und Farbtonwinkel der Blüten der Genotypen A und B vor (fresh) und nach dem Trocknen (dried) bei 20, 40 und 60 °C

Fig. 3. Chroma and hue angle of the flowers of the genotypes A and B before (fresh) and after drying (dried) at 20, 40 and 60 °C

Der Farbabstand zwischen dem frischen und getrockneten Blütenmaterial liegt bei Genotyp A bei durchschnittlich 6,59 und bei Genotyp B bei 4,94 (Abbildung 4).

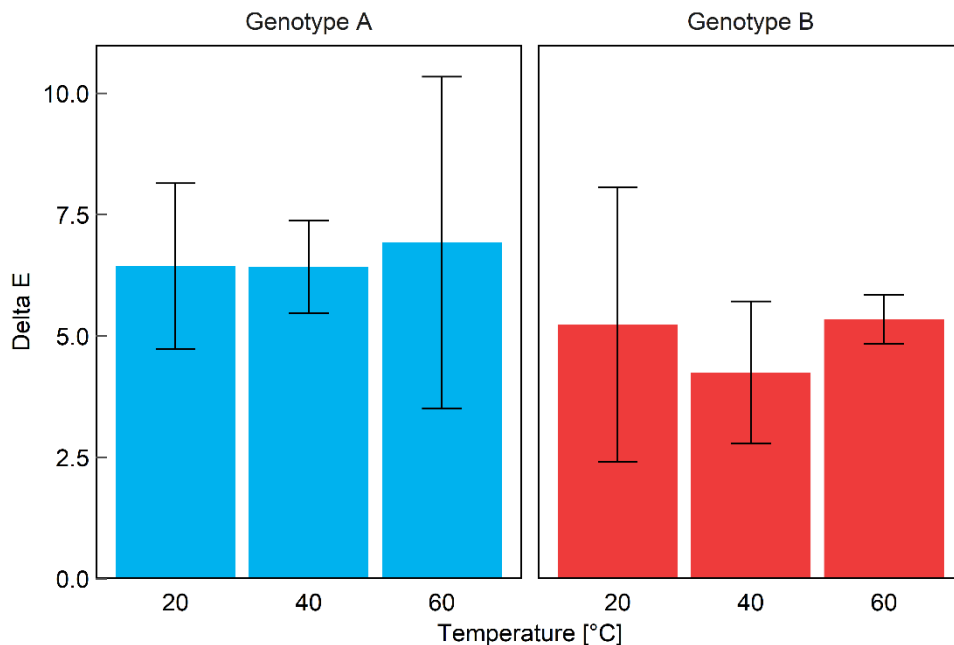


Abb. 4. Farbabstand ΔE zwischen den frischen und den getrockneten Blüten von Genotyp A und B bei Trocknungstemperaturen von 20, 40 und 60 °C

Fig. 4. Total color change between the fresh and the dried flowers of genotype A and B at drying temperatures of 20, 40 and 60 °C

Abschließend kann festgestellt werden, dass sich die Trocknungskurven der beiden Genotypen unterscheiden. Die Blütenmorphologie und besonders die Kompaktheit beeinflusst die Trocknungskurven. Genotyp B hat kompaktere Blüten als Genotyp A und die Trocknungskurven von Genotyp B weisen eine geringere negative Steigung auf. Die Farbveränderungen durch die Trocknung sind geringfügig und selbst die höchste Trocknungstemperatur von 60 °C hat keinen Einfluss auf die Farbe.

Literatur

- Ahlmann-Eltze, C. & Patil, I. , 2021: ggsignif: R Package for Displaying Significance Brackets for 'ggplot2'. R package. PsyArxiv.
- Campiglia, E., Radicetti, E. & Mancinelli, R., 2017: Plant density and nitrogen fertilization affect agronomic performance of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) in Mediterranean environment. *Industrial Crops and Products*, 100: 246–254.
- Challa, S., Misra, N. N. & Martynenko, A., 2021: Drying of cannabis—state of the practices and future needs. *Drying Technology*, 39 (14): 2055–2064.
- Chandra, P. K. & Singh, R. P. , 1995: *Applied Numerical Methods for Food and Agricultural Engineers*, CRC Press.
- Council of Europe, 2022: Ph. Eur. publishes Cannabis flos draft monograph in Pharmeuropa for comment. <https://www.edqm.eu/en/-/ph.-eur.-publishes-cannabis-flos-draft-monograph-in-pharmeuropa-for-comment>. Accessed 21 June 2023.
- Das, P. C., Vista, A. R., Tabil, L. G. & Baik, O.-D. , 2022: Postharvest Operations of Cannabis and Their Effect on Cannabinoid Content: A Review. *Bioengineering*, 9 (8).
- Fox, J. & Sanford, W., 2019: *An {R} Companion to Applied Regression*. R package. Thousand Oaks, CA.
- Hamner, B. & Frasco, M., 2018: *_Metrics: Evaluation Metrics for Machine Learning_*. R package.
- Henderson, S. M. & Pabis, S., 1961: Grain Drying Theory (I) Temperature Effect on Drying Coefficient. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 6: 169–174.
- Kassambara, A., 2023: *_rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests_*. R package.
- Lewis, W. K., 1921: The Rate of Drying of Solid Materials. *Journal of Industrial & Engineering Chemistry*, 13 (5): 427–432.
- 2021: Mehr Fortschritt wagen. Bündnis für Freiheit, Gerechtigkeit und Nachhaltigkeit.
- Midilli, A., Kucuk, H. & Yapar, Z., 2002: A new model for single-layer drying. *Drying Technology*, 20 (7): 1503–1513.
- Page, G. E., 1949: Factors influencing the maximum rates of air drying shelled corn in thin layers. M.S. United States -- Indiana. 1 p.
- R Core Team, 2022: *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- Reyer, S., Awiszus, S. & Müller, J., 2022: High-Precision Laboratory Dryer for Characterization of the Drying Behavior of Agricultural and Food Products. *Machines*, 10 (5).
- Wickham, H., 2016: *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. New York, Springer-Verlag.
- Yan, Y., 2016: *_MLmetrics: Machine Learning Evaluation Metrics_*. R package.

Posterbeitrag zum Themenkreis: Inhaltsstoffe und Pflanzenanalytik

Zugabe von Gewürzpflanzen zur Erhöhung der oxidativen Stabilität von pflanzlichen Ölen

Addition of herbs to increase the oxidative stability of vegetable oils

Jan v. Lohr, Teresa-Maria Schinabeck

Hochschule Geisenheim, Institut für Lebensmittelsicherheit, Geisenheim

teresamaria.schinabeck@hs-gm.de

DOI 10.5073/20230821-154514-0

Zusammenfassung

Die Zugabe von Extrakten aus Gewürzen oder Gewürzpflanzen zu pflanzlichen Ölen, um deren oxidative Stabilität und somit deren Haltbarkeit zu erhöhen, wurde bereits z.B. von Kozłowska und Grucynska (2018) beschrieben. In dieser Arbeit werden im Gegensatz dazu keine wertgebenden Inhaltsstoffe extrahiert, sondern das gesamte getrocknete Gewürz mit der Ölsaart zu Öl gepresst. Dies hat zur Folge, dass neben dem Wegfall der Prozessschritte der Extraktion keine Lösungsmittel nötig sind (Clean-Label). Unter anderem werden Thymian (*Thymus vulgaris* L.) bzw. Oregano (*Origanum vulgare* L.) in unterschiedlichen Gewichtsanteilen mit Leinsaat zu Öl gepresst. Die Auswirkung der Gewürzzugabe wird durch die Oxidationsinduktionszeit der Öle mittels dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) bestimmt. Im Vergleich zu dem synthetischen Antioxidans Butylhydroxyanisol (BHA, E 320), welches in größeren Mengen gesundheitsgefährdend sein kann, zeigen die mitgepressten Gewürze eine signifikante Verbesserung der oxidativen Stabilität von pflanzlichen Ölen.

Stichwörter: Antioxidantien, oxidative Stabilität, Differenzkalorimetrie, Gewürz-Öl

Abstract

The addition of herbal plant extracts to vegetable oils to increase their oxidative stability and thus their shelf life, was already described e.g. by Kozłowska and Grucynska (2018). In this work, however, no valuable ingredients are extracted, but the entire dried spice is pressed together with the oilseed to oil. As a result, the extraction process steps are eliminated and so no solvent is needed ("Clean-Label"). Among others, thyme (*Thymus vulgaris* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) are pressed with linseed to oil in different weight proportions. The influence of the addition of the herbs is determined by the Oxidation Induction Time (OIT) of the oils using Differential Scanning Calorimetry (DSC). In comparison with the synthetic antioxidant butylated hydroxyanisole (BHA, E 320), which can be hazardous to health in large quantities, the herbs pressed together with the oilseed show a significant improvement in the oxidative stability of vegetable oils.

Keywords: antioxidants, oxidative stability, differential scanning calorimetry, spice oil

Einleitung

Durch Zugabe von für Lebensmittel zugelassenen Antioxidantien kann die Oxidationsstabilität und somit die Haltbarkeit von Ölen verbessert werden (Rudnik et al. 2001). Allerdings dürfen nativen Ölen nach Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 keine Antioxidantien zugesetzt werden und auch 53,8 % der Verbraucher bevorzugen „Clean Label Produkte“ ohne synthetische Zusatzstoffe (Horizont 2020). Daher wird nach Alternativen für die potentiell schädlichen Zusatzstoffe gesucht.

Kräuter und Gewürze wie Thymian (*Thymus vulgaris* L.) und Oregano (*Origanum vulgare* L.) besitzen antimikrobielle und antioxidative Eigenschaften, was bereits vielfach beschrieben wurde (z.B. Pokorný und Pánek 2012; Mutlu-Ingok et al. 2021). Extrakte von getrockneten Kräutern und Gewürzpflanzen wurden in der Literatur zur Erhöhung der oxidativen Stabilität von pflanzlichen Ölen erfolgreich genutzt (z.B. Kozłowska und Gruczyńska 2018). Die Herstellung von Extrakten benötigt jedoch die Verwendung von Lösungsmitteln. Eine „Clean-Label“ Alternative dazu stellt das *Short-Press-Extraction* Verfahren dar, bei dem getrocknete Gewürzpflanzen direkt in die Ölsaat gemischt werden und zusammen in einer Schneckenpresse zu Öl gepresst werden, um so die wertgebenden Inhaltsstoffe zu extrahieren (Muschiolik et al. 2014).

Oxidative Prozesse wie die Autoxidation bei Ölen besitzen unter Lagerungsbedingungen sehr lange Induktionszeiten über einen Zeitraum von Wochen und Monaten. Deutlich schnellere Ergebnisse bezüglich der Oxidationsstabilität können Oxidationsinduktionszeit (OIT) Messungen mittels dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) liefern. Bei einer OIT Messung wird die Messkammer zunächst unter inerter Atmosphäre auf eine spezifische Temperatur erhitzt und für eine gewisse Zeit isotherm gehalten. Danach wird Luft oder Sauerstoff unter konstantem Durchfluss in die Messkammer geleitet. Nach einer spezifischen Induktionszeit mit kaum messbarem Wärmefluss steigt die Reaktionsgeschwindigkeit der Autoxidation stark an. Dieser Zeitpunkt ist im gemessenen Wärmefluss sichtbar, welcher die exotherme oxidative Reaktion abbildet. Je länger die OIT ist, desto höher ist die Oxidationsstabilität der Probe. Es gibt standardisierte Testmethoden, z.B. ASTM E1858 zur Messung der OIT von Kohlenwasserstoffen mittels DSC oder ISO 11357 zur Messung der OIT von Kunststoffen mittels DSC (Wagner, 2018; Mettler-Toledo, 2012).

In dieser Arbeit werden Thymian bzw. Oregano in unterschiedlichen Gewichtsanteilen mit Leinsaat zu Öl gepresst. Die Auswirkung der Gewürzzugabe wird durch die Oxidationsinduktionszeit der Öle mittels DSC bestimmt und mit der Zugabe des synthetischen Antioxidants Butylhydroxyanisol (BHA, E 320) verglichen.

Material und Methoden

Material

Zur Pressung von leicht oxidierbarem pflanzlichen Öl wurden ganze Leinsamen (Alnatura, Herkunftsland Kasachstan) verwendet. Als Gewürzpflanzen wurde gerebelter Thymian (*Thymus vulgaris* L.) (Mindeshaltbarkeit: 2025; verarbeitet 2023) und Oregano (*Origanum vulgare* L.) (Mindeshaltbarkeit: 2027; verarbeitet 2023) unter Schutzatmosphäre der Marke Ostmann im Einzelhandel erworben.

Pressung der Leinöle und Gewürzöle

Die Leinsaat (max. 100 g pro Ansatz) wurde in einer Lochseihner Schneckenpresse (HFG 50S WN von IBG Monforts Oekotec GmbH & Co. KG) mit einer 10 mm Düse gepresst. Die gepressten Ölproben wurden zweimal für 1 min bei 3000 rpm zentrifugiert und unmittelbar nach der Herstellung dunkel bei 4 °C gelagert. Für die Gewürzöle wurde die Leinsaat einmal mit 2 Gew.-% Thymian oder Oregano und einmal mit 5 Gew.-% der Gewürzpflanzen vermischt und dann gepresst. Das Leinöl mit BHA Zusatz (Merck, Reinheit $\geq 99,0$ %) wurde zunächst wie das reine Leinöl hergestellt. Nach der Zentrifugation wurde 0,02 Gew.-% BHA zugegeben (entspricht der zulässigen Menge für Fette und Öle für die gewerbliche Herstellung wärmebehandelter Lebensmittel) und 1 min im Ultraschallbad gelöst. Die Öle wurden unmittelbar nach der Herstellung bei 4 °C gelagert und ab dem darauffolgenden Tag für höchstens eine Woche vermessen.

Bestimmung der Oxidationsinduktionszeit mittels dynamischer Differenzkalorimetrie

Die oxidative Stabilität wurde jeweils in fünffach Bestimmung mittels dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) bestimmt (DSC 3 Mettler Toledo). Dafür wurden jeweils 3-3,5 mg Öl in den Tiegel gegeben.

Um eine geeignete Temperatur zur Bestimmung der Oxidationsinduktionszeit-(OIT) zu finden, wurde die Oxidation Onset Temperature (OOT) bestimmt. Dabei wird eine Ölprobe von 25 °C auf 200 °C mit einer Heizrate von 10 K/min und mit 50 mL/min Luft als Methodengas aufgeheizt. Von der so erhaltenen OOT (die Onset-Temperatur des exponentiellen Anstiegs, siehe Abbildung 1) können 30 bis 40 °C subtrahiert werden um die passende Temperatur für eine OIT Messung zu erhalten (Schubnell und Regonini, 2022). Es wurde eine OOT von ca. 170 °C erzielt, hiervon wurden lediglich 20 °C subtrahiert, da 150 °C die besten Ergebnisse für die OIT Messung zeigten.

Zur Bestimmung der OIT wurde die Probe zunächst unter Stickstoff-Atmosphäre (20 mL/min) auf die Messtemperatur von 150 °C mit einer Heizrate von 10 K/min hochgeheizt und die Temperatur isotherm für 5 min unter 20 mL/min Stickstoff gehalten. Danach wurde auf 50 mL/min Luft als Methodengas gewechselt (siehe Abbildung 2). Es wird die Onset-Temperatur des exponentiellen Anstiegs bestimmt.

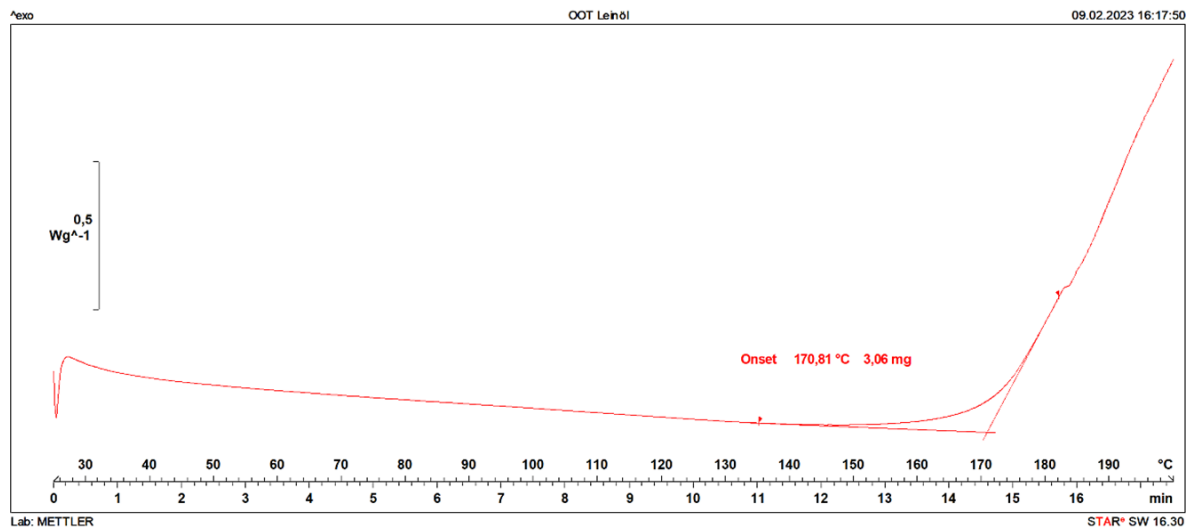


Abb. 1. OOT Messung von Leinöl mit 200 °C Zieltemperatur und sichtbaren exponentiellen Anstieg bei ca. 170 °C

Fig. 1. Scheme: OOT measurement of linseed oil with a target temperature of 200 °C and visible exponential increase at approx. 170 °C

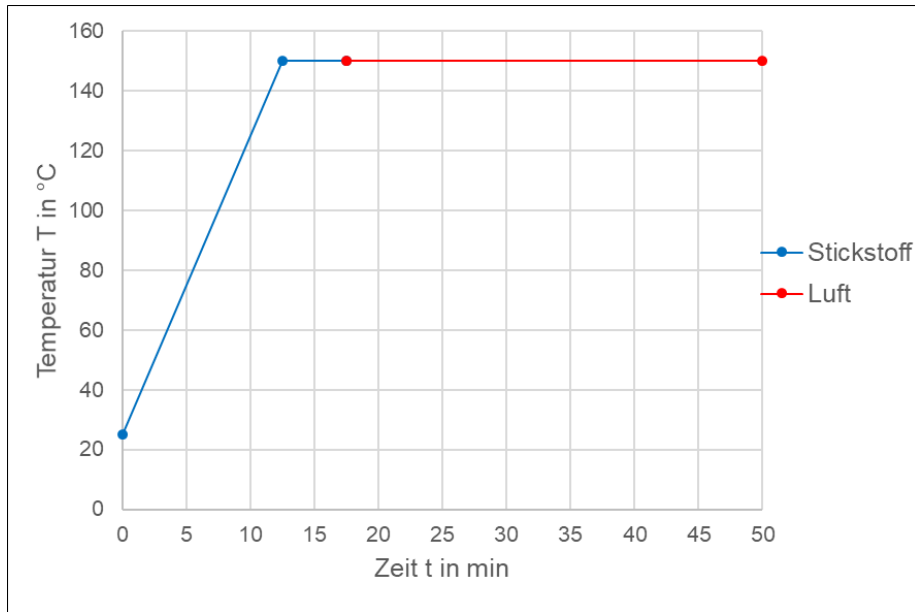


Abb. 2. Schema des Temperaturprogramms der OIT Methode bei 150 °C mit den jeweiligen Methodengasen pro Abschnitt. (1. Segment: Dynamisch von 25 °C auf 150 °C mit 10 K/min; Stickstoff (20 mL/min); 2. Segment: Isotherm 150 °C 5 min; Stickstoff (20 mL/min); 3. Segment: Isotherm 150 °C 60 min; Luft (50 mL/min))

Fig. 2. Scheme of the temperature program of the OIT method at 150 °C with the respective method gases per section. (1. Section: dynamically from 25 °C to 150 °C with 10 K/min; nitrogen (20 mL/min); 2. Section: isothermal 150 °C 5 min; nitrogen (20 mL/min); 3. Section: isothermal 150 °C 60 min; air (50 mL/min))

Ergebnisse und Diskussion

Die jeweiligen Oxidationsinduktionszeiten (OIT) der Messungen mit ihren jeweiligen statistischen Parametern sind in Tabelle 1 abgebildet. Reines Leinöl (Leinöl 100 %) besitzt die niedrigste OIT mit $10,47 \pm 0,22$ min, wonach Leinöl mit 0,02 % BHA Zusatz mit $10,99 \pm 0,29$ min folgt. Verglichen mit BHA steigert 2 % Oregano mit $12,19 \pm 0,37$ min deutlich die OIT, was im Vergleich mit reinem Leinöl eine Steigerung um 16 % bedeutet. Geringfügig länger ist die OIT bei 5 % Oregano mit $12,42 \pm 0,20$ min. Eine deutliche Erhöhung zeigt Thymian bei beiden Konzentrationen. 2 % Thymian steigert im Vergleich zu reinem Leinöl die OIT um 27 % ($13,28 \pm 0,26$ min) und 5 % Thymian um 50 % ($15,74 \pm 0,21$ min). Die Leinöle mit Kräuterzusatz weisen alle eine signifikant höhere OIT im Vergleich zu reinem Leinöl auf, wobei mit steigendem Massenanteil an Gewürz die OIT ebenfalls steigt. Thymian weist die größte Verbesserung der OIT um 50 % bei 5 Gew.-% und um 27 % bei 2 Gew.-% auf. Oregano folgt mit einer Erhöhung der OIT um 19 % (5 % Massenanteil) und 16 % (2 % Massenanteil), wobei der höhere Massenanteil nicht in einer signifikant höheren OIT resultiert. Der Unterschied zwischen Thymian und Oregano lässt sich zum einen mit dem Gehalt an ätherischen Ölen und zum anderen mit dem antioxidativen Potential der jeweiligen Inhaltsstoffe erklären. Mutlu-Ingok et al. (2021) beschrieben, dass das untersuchte ätherische Öl von Thymian einen höheren Gesamtgehalt an Polyphenolen als das von Oregano besaß, welche eine wichtige antioxidative Rolle spielen. Das Radikalauffangpotential war bei Thymian und Oregano ähnlich. Viuda-Martos et al. (2010) verglichen ebenfalls die ätherischen Öle von Thymian und Oregano bezüglich ihrer antioxidativen Parameter und wiesen bei Thymian einen höheren Gesamtgehalt an Polyphenolen und ein höheres Radikalauffangpotential nach.

Tab 1. Fünffachmessung der OIT bei 150 °C der sechs jeweils in einer Batch hergestellten Leinöle mit den jeweiligen Zusätzen, Mittelwert MW, Standardabweichung SD und prozentualer Steigerung der OIT im Vergleich zu 100 % Leinöl; a: OIT ist signifikant höher ($p < 0,01$) als OIT von reinem Leinöl; b: OIT ist signifikant höher ($p > 0,1$) als OIT von Leinöl mit 0,02 % BHA

Tab. 1. fivefold measurement of the OIT at 150 °C of the six linseed oils produced with the respective additives. Arithmetic Mean MW, Standard Deviation SD and percentage increase in OIT compared to 100 % linseed oil; a: OIT is significantly higher ($p < 0.01$) than OIT of pure linseed oil; b: OIT is significantly higher ($p < 0.01$) than OIT of linseed oil with 0,02 % BHA

Leinöl Proben		1 in min	2 in min	3 in min	4 in min	5 in min	MW in min	SD in min	Steigerung zu Leinöl 100 % in %
Leinöl	100 %	10,17	10,50	10,36	10,75	10,58	10,47	± 0,22	
BHA	0,02 %	10,69	10,76	11,04	11,02	11,43	10,99 ^a	± 0,29	5
Oregano	2 %	11,70	12,54	12,11	12,57	12,01	12,19 ^{a,b}	± 0,37	16
	5 %	12,59	12,24	12,22	12,41	12,66	12,42 ^{a,b}	± 0,20	19
Thymian	2 %	13,45	13,35	13,13	12,92	13,56	13,28 ^{a,b}	± 0,26	27
	5 %	15,87	15,69	15,43	15,70	16,00	15,74 ^{a,b}	± 0,21	50

Die Messungen, welche die geringsten Differenzen zu den berechneten Mittelwerten der Öle besitzen, sind repräsentativ für die jeweilige Probe in Abbildung 3 abgebildet.

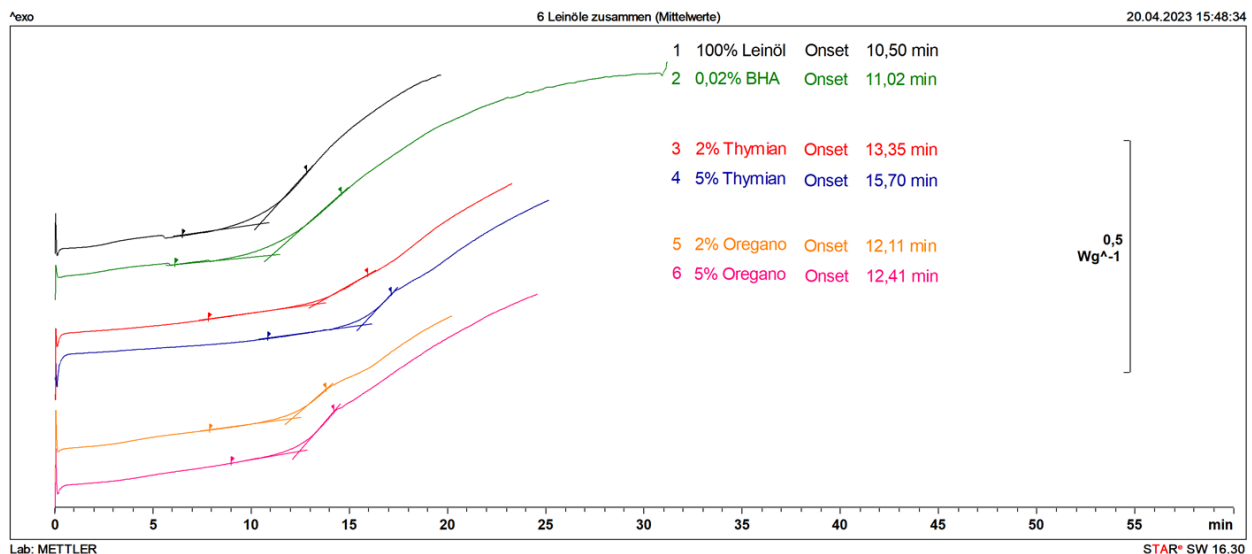


Abb. 3. OIT Kurven der jeweiligen Ölproben mit geringster Differenz zum jeweiligen Mittelwert

Fig 3. OIT graphs of the oil samples with the smallest difference to the respective mean value

Bei den Leinölen mit Antioxidantien bzw. Kräutern zeigt das Öl mit 0,02 Gew.-% BHA die geringste Verbesserung der OIT mit 5 % im Vergleich zum reinen Leinöl. Rudnik et al. (2001) beobachteten hingegen einen stärkeren Effekt von 0,02 % BHA auf die OIT im Vergleich zur Kontrolle (+30 %), allerdings nur 4 % Steigerung bei 0,01 % BHA. Die Autoren machen jedoch keine Angaben über das Lösungsverfahren von BHA in Leinöl. Kozłowska und Gruczyńska (2018) nutzten BHA in Ethanol gelöst um es in die Ölphase zu überführen. Möglicherweise sorgt eine nicht vollständige Auflösung von BHA in dem vorgestellten Experiment für einen geringeren Effekt auf die beobachtete OIT.

Literatur

Horizont, 2020: Stimmen Sie den folgenden Aussagen zum Thema Lebensmittelkauf und Essen zu?

Statista. Statista GmbH. Zugriff: 17. Mai 2023.

<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/1130183/umfrage/essen-lebensmittelkauf-umfrage-deutschland/> (2020): Stimmen Sie den folgenden Aussagen zum Thema Lebensmittelkauf und Essen zu?

Kozłowska, M., E. Gruczyńska, 2018: Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts. *Chemicke zvesti* 72 (10), 2607–2615. DOI: 10.1007/s11696-018-0516-5.

Mettler-Toledo, 2012: Webinar – OIT Measurements by Thermal Analysis 2012. Online verfügbar unter https://www.mt.com/de/en/home/library/on-demand-webinars/lab-analytical-instruments/Oxidation_Induction_Time.html (abgerufen am 28.02.2023).

Muschiolik, G., V. Böhm, J. Ertelt, E. Grzeschik, I. Schellenberg, K. Speer, 2014: Wertgebende Komponenten: Schöne und schonende Extraktion pflanzlicher Inhaltsstoffe für die Anreicherung von Pflanzenölen. *Labor&More* (9). <http://www.laborundmore.com/dwldmag/ziEjWH6V/L&M-9-2014.pdf>

Mutlu-Ingok, A., G. Catalkaya, E. Capanoglu, F. Karbancioglu-Guler, 2021: Antioxidant and antimicrobial activities of fennel, ginger, oregano and thyme essential oils. *Food Frontiers* 2 (4), 508–518, DOI: 10.1002/fft2.77.

Pokorný, J., J. Pánek, 2012: The effect of natural antioxidants in herbs and spices on food shelf-life. In: K. V. Peter (Hg.). *Handbook of herbs and spices*. Oxford/Cambridge/Philadelphia/New Delhi/Amsterdam, the Netherlands/Amsterdam, the Netherlands, WP Woodhead Publishing; Elsevier B.V, 51–71.

Rudnik, E., A. Szczucinska, H. Gwardiak, A. Szulc, A. Winiarska, 2001: Comparative studies of oxidative stability of linseed oil. *Thermochimica Acta* 370 (1-2), 135–140, DOI: 10.1016/S0040-6031(00)00781-4.

Schubnell, M., D. Regonini, 2022: Kalibrierung und Justierung Teil 3: OIT- und OOT-Anwendungen 2022.

Viuda-Martos, M., Y. Ruiz Navajas, E. Sánchez Zapata, J. Fernández-López, J.A. Pérez-Álvarez, 2010: Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal* 25 (1), 13–19, DOI: 10.1002/ffj.1951.

Wagner, M., 2018: *Thermal analysis in practice. Fundamental aspects*. Cincinnati, Ohio, Hanser Publications.

9. Tagung für Arznei- und Gewürzpflanzenforschung, Sicherheit vom Anbau bis zum Verbraucher – Spitzenklasse oder auf die Spitze getrieben? Freising, 11. - 14. September 2023

Unter dem Motto „Sicherheit vom Anbau bis zum Verbraucher – Spitzenklasse oder auf die Spitze getrieben?“ findet vom 11. bis 14. September 2023 die 9. Tagung für Arznei- und Gewürzpflanzenforschung in Freising statt.

Diese Tagung wird vom Deutschen Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen ca. alle drei Jahre unter Beteiligung von verschiedenen wissenschaftlichen Organisationen veranstaltet. Sie bietet ein vielbeachtetes Forum für den interdisziplinären wissenschaftlichen Austausch mit Ausstrahlung in viele europäische Nachbarstaaten. Gastgeber sind im Jahr 2023 die Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) und die Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (HSWT) in Freising. Die LfL forscht anwendungsnahe zu Arznei- und Gewürzpflanzen, Züchtung und Pflanzenschutz und ist intensiv mit der Branche vernetzt. An der HSWT im Bereich Gartenbau gibt es viele technologische, pflanzenbauliche und wirtschaftswissenschaftliche Bezüge zu den Themengebieten Arznei- und Gewürzpflanzen. Die Organisatoren der Tagung wollen in Freising ein lebendiges Forum anbieten und neben dem wissenschaftlichen Austausch die Vernetzung mit Wirtschaft und Praxis vertiefen.

Ein zentrales Thema der Tagung soll die Sicherheit der Produktion und der Produkte im Sinne von Safety und Security sein. Ertrags- und Qualitätssicherung sind zentrale Aspekte, aber auch Unsicherheit durch Klimawandel oder Schutz vor Kontaminanten.

IXth Conference on Medicinal and Aromatic Plant Research, Safety from cultivation to the consumer - top class or taken to extremes? Freising, 11 - 14 September 2023

Under the motto „Safety from cultivation to the consumer - top class or taken to extremes?“ the 9th Symposium for Medicinal and Aromatic Plant Research will be held in Freising from 11 - 14 September 2023.

This conference is organised by the German Expert Committee for Medicinal, Spice and Aromatic Plants approximately every three years with the participation of various scientific organisations. It offers a highly regarded forum for interdisciplinary scientific exchange with an impact in many neighbouring European countries. In 2023, this event is hosted by the Bavarian State Research Centre for Agriculture (LfL) and the Weihenstephan-Triesdorf University of Applied Sciences (HSWT) in Freising. The LfL conducts application-oriented research on medicinal and aromatic plants, breeding and plant protection and is networked intensively with the industry. At the HSWT in the field of horticulture, there are many technological, horticultural and economic references to the topics of medicinal and aromatic plants. The organisers of the conference want to offer a lively forum in Freising and, in addition to the scientific exchange, deepen the networking with industry and practice.

A central theme of the conference will be the safety of production and products in the sense of safety and security. Yield and quality assurance are central aspects, but also insecurity due to climate change or protection against contaminants.

