

Schlussbericht des Forschungsvorhabens:

Erste züchterische Bearbeitung und Qualitätsbeurteilung ausgewählter chinesischer Heilpflanzen, die für den Anbau in Deutschland geeignet sind.

(Laufzeit 11/2004-1/2008)

Verfasser: Dr. Heidi Heuberger, Professor Dr. Ulrich Bomme, Arbeitsgruppe „Pflanzenbausysteme bei Heil- und Gewürzpflanzen“ (IPZ 3d). 28. April 2008

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für *Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz* unter dem Förderkennzeichen 22007703 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Veröffentlichung der Ergebnisse – auch in Auszügen – nur mit Genehmigung der Autoren gestattet!

Inhaltsverzeichnis	Seite
Verzeichnis der Abkürzungen	11
1 Problemstellung, Zielsetzung und Vorgehensweise	13
1.1 Inkulturnahme von chinesischen Heilpflanzen in Deutschland	13
1.2 Erste züchterische Bearbeitung und Qualitätsvergleich von Heilpflanzen TCM	14
2 Beginnende Auslesezüchtung bei <i>Artemisia scoparia</i> und <i>Leonurus japonicus</i>	15
2.1 Die chinesischen Heilpflanzen <i>Artemisia scoparia</i> und <i>Leonurus japonicus</i>	15
2.1.1 <i>Artemisia scoparia</i>	15
2.1.2 <i>Leonurus japonicus</i>	18
2.2 Allgemeine Versuchsbedingungen	20
2.3 Zuchtziele	26
2.4 Blühbiologie: Grundlage für die Züchtung	27
2.4.1 Material und Methoden	27
2.4.1.1 Verlauf der Pflanzen-, Blüten- und Samenentwicklung bei <i>Artemisia</i> und <i>Leonurus</i> (45)	27
2.4.1.2 Blühinduktion bei <i>Artemisia</i> (58)	29
2.4.1.3 Bestimmung des Fremdbefruchtungsanteils bei <i>Artemisia</i>	29
2.4.2 Ergebnisse	30
2.4.2.1 Verlauf der generativen Entwicklung (45)	30
2.4.2.2 Blühinduktion von <i>Artemisia</i> (58)	31
2.4.2.3 Bestäubungsverhältnisse und Fremdbefruchtungsanteile	33
2.5 Verklonung durch vegetative Vermehrung	35
2.5.1 Material und Methoden	36
2.5.1.1 <i>In vitro</i> -Vermehrung (IPZ 1a)	36
2.5.1.2 Vermehrung über Stecklinge im Gewächshaus	36
2.5.2 Ergebnisse und Diskussion	37
2.5.2.1 <i>In vitro</i> -Vermehrung (IPZ 1a)	37
2.5.2.2 Vermehrung über Stecklinge im Gewächshaus	39
2.5.2.3 Methode für die Klonvermehrung	40
2.6 Sichtung des Ausgangsmaterials und Selektion	40
2.6.1 Bezug neuer Akzessionen	40
2.6.2 Botanische Charakterisierung des Zuchtmaterials	41
2.6.2.1 Material und Methoden	41
2.6.2.2 Ergebnisse	43

2.6.3	Leistungsprüfung der Herkünfte im Feld.....	45
2.6.3.1	Material und Methoden	45
2.6.3.2	Leistung der <i>Artemisia</i> -Herkünfte und Selektionen.....	46
2.6.3.3	Leistung der <i>Leonurus</i> -Herkünfte und Selektionen	50
2.6.3.4	Selektion von Elitepflanzen	55
2.7	Prüfung und Kreuzung der Klone	57
2.7.1	Material und Methoden.....	57
2.7.2	Klonleistung <i>Artemisia</i>	59
2.7.3	Klonkreuzung und Samenernte <i>Artemisia</i>	63
2.7.4	Klonleistung <i>Leonurus</i>	64
2.7.5	Klonkreuzung und Samenernte <i>Leonurus</i>	66
2.8	Prüfung der Klone auf allgemeine Kombinationseignung.....	66
2.8.1	Material und Methoden.....	66
2.8.2	Leistung der F ₁ -Nachkommenschaften der <i>Artemisia</i> -Klone	67
2.8.3	Leistung der F ₁ -Nachkommenschaften der <i>Leonurus</i> -Klone.....	68
3	Drogenqualität chinesischer Heilpflanzen aus bayerischem Versuchsanbau im Vergleich zu Importware: Identität, sensorische Eigenschaften, Inhaltsstoffe und Reinheit	70
3.1	Material und Methoden.....	70
3.1.1	Untersuchtes Material	70
3.1.2	Untersuchungen	81
3.2	Identität von Versuchs- und Handelsproben.....	82
3.2.1	Identität nach Ch. P. 2000 (2)	82
3.2.2	Identität – Sensorische Eigenschaften.....	83
3.3	Reinheit der Versuchs- und Handelsproben.....	85
3.3.1	Reinheit – Schwermetalle	85
3.3.2	Reinheit – Pestizide.....	87
3.3.3	Reinheit – Mikrobiologie und Mykotoxine	88
3.3.4	Reinheit – Acrylamid und PAK's	90
3.4	Gehaltsbestimmungen an Versuchs- und Handelsproben.....	92
3.5	Schlussfolgerungen	94
3.5.1	Qualität der Handelsproben	94
3.5.2	Qualitätserwartung für TCM-Drogen aus heimischem Anbau	97
4	Ausblick.....	98
5	Zusammenfassung.....	98

6	Abstract.....	99
7	Danksagung	100
8	Literaturverzeichnis.....	100
9	Anhang	105

Abbildungsverzeichnis	Seite
Abb. 1: <i>Artemisia scoparia</i> – Bestand mit jungen Pflanzen	16
Abb. 2: <i>Artemisia</i> Krautdroge aus China	17
Abb. 3: <i>Artemisia</i> Krautdroge aus Versuchsanbau	17
Abb. 4: <i>Leonurus japonicus</i> - erntereifer Bestand bei beginnender Blüte	18
Abb. 5: <i>Leonurus</i> Krautdroge aus China	19
Abb. 6: <i>Leonurus</i> Krautdroge aus Versuchsanbau	20
Abb. 7: <i>Artemisia</i> Jungpflanzen (Einzelpflanzen) in Anzuchtplatte vor der Pflanzung	21
Abb. 8: <i>Leonurus</i> Jungpflanzen in Anzuchtplatte vor der Pflanzung	22
Abb. 9: Krauternte mit dem Hege Grünguternter	23
Abb. 10: <i>Artemisia</i> – Beeinflussung der Bestäubungsverhältnisse (a-c vgl. Text) (45)	28
Abb. 11: Zeitpunkt des Sichtbarwerdens der ersten Knospen und des Blühbeginns der <i>Artemisia</i> -Herkünfte Elixir Farm und Blaszczyk bei unterschiedlicher Tageslänge	32
Abb. 12: Auftreten einer für Klon 104028 spezifischen Bande (roter Kreis) in den Selbstungsnachkommen von Klon 104021 (21-S1) bzw. 104028 (28-S1). AFLP-Fingerprint, Primerkombination L7648	33
Abb. 13: <i>Artemisia scoparia in vitro</i> -Pflanzen fünf Wochen nach Vermehrung	37
Abb. 14: <i>Leonurus japonicus in vitro</i> -Pflanzen zur Vermehrung	39
Abb. 15: RFLP-Fingerprint der <i>Artemisia</i> Herkünfte nach Restriktion mit Alu I, dem für <i>A. scoparia</i> spezifischen Restriktionsenzym, das 3 Fragmente von ca. 100, 140 und 500 Basenpaaren (bp) erzeugt.	45
Abb. 16: Kraut-Drogenenertrag (dt/ha) von <i>Artemisia</i> -Herkünften als Summe der Ernten (Schnitte) beider Standjahre in Puch (PU), Anbaujahre 2005 und 2006, bzw. des ersten Standjahrs am Baumannshof (BA) – Screeningversuche	46
Abb. 17: Kraut-Drogenenertrag (dt/ha) von <i>Leonurus</i> -Herkünften als Summe der Ernten (Schnitte) beider Standjahre, Anbaujahre 2005 und 2006, bzw. des ersten Standjahrs, Anbaujahr 2007 am Baumannshof – Screeningversuche	50
Abb. 18: Polycrossanlage von <i>Artemisia</i> zur Prüfung und Kreuzung der Klone	58
Abb. 19: Cd-Gehalt in den Seitentrieben (mg/kg Droge) und Wüchsigkeit des ersten Aufwuchses der <i>Artemisia</i> -Klone in Polycross ASC 1 und ASC 2 in Puch 2005	59
Abb. 20: Cd-Gehalt (mg/kg) der Krautdroge des zweiten Schnitts im ersten Standjahr und Anteil wieder austreibender Pflanzen (%) im Frühjahr des zweiten Standjahrs der <i>Artemisia</i> -Klone in Polycross ASC 3 in Puch 2006/07	60
Abb. 21: Cd-Gehalt (mg/kg) und Ätherischölgehalt (% V/m) der Krautdroge aus Seitentrieben (Anbaujahr 2005) bzw. des ganzen Krautes des 2. Schnitts	

(Anbaujahr 2006) der <i>Artemisia</i> -Klone in den Polycrossversuchen ASC 1 und ASC 2 bzw. ASC 3 in Puch.....	60
Abb. 22: Cd-Gehalt (mg/kg) und Blattanteil (Bonitur, 1=geringer, 5=hoher Blattanteil) der Krautdroge aus Seitentrieben (Anbaujahr 2005) bzw. des ganzen Krautes des 2. Schnitts (Anbaujahr 2006) der <i>Artemisia</i> -Klone in den Polycrossversuchen ASC 1 und ASC 2 bzw. ASC 3 in Puch.	61
Abb. 23: Blühstadium am 21.08.2006 und Extraktgehalt (%) in der Krautdroge der <i>Leonurus</i> -Klone im Polycross LJA 1 in Puch 2006. (Blühstadien 1=Rosette, 5=erste Blüten offen (Blühbeginn), 9=Samen reif)	64
Abb. 24: Extraktgehalt (%) und Flavonoidgehalt (%) in der Krautdroge der <i>Leonurus</i> -Klone im Polycross LJA 1 in Puch 2006.....	65
Abb. 25: Blühstadium am 21.08.2006 und Anteil wieder austreibender Pflanzen (%) im Frühjahr des zweiten Standjahrs 2007 der <i>Leonurus</i> -Klone im Polycross LJA 1 in Puch 2006. (Blühstadien 1=Rosette, 5=erste Blüten offen (Blühbeginn), 9=Samen reif)	65
Abb. 26: <i>Artemisia scoparia</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-4)	71
Abb. 27: <i>Leonurus japonicus</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-6)	72
Abb. 28: <i>Prunella vulgaris</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-4)	73
Abb. 29: <i>Sigesbeckia pubescens</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-4).....	74
Abb. 30: <i>Angelica dahurica</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-4)	75
Abb. 31: <i>Astragalus mongholicus</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-5).....	76
Abb. 32: <i>Bupleurum chinense</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-5).....	77
Abb. 33: <i>Salvia miltiorrhiza</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-8)	78
Abb. 34: <i>Saposhnikovia divaricata</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-5).....	79
Abb. 35: <i>Scutellaria baicalensis</i> – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-6).....	80
Abb. 36: Beurteilung der Bitterkeit einzelner Aufgüsse aus Versuchs- und Handelsproben von Herba Leonuri japonici	83
Abb. 37: Bitterkeit der Aufgüsse einzelner Versuchs- (VP) und Handelsproben (HP) von Herba Leonuri japonici vor und nach 1-jähriger fachgerechter Lagerung	84
Abb. 38: Cadmium Gehalt (mg/kg) einzelner Versuchs- (blau) und Handelsproben von Herba Artemisiae Scopariae.....	86

Abb. 39: Relative Gehalte an spezifischen Inhaltsstoffen und Extrakten von Versuchs- (VP) und Handelsproben (HP).....	94
Abb. 40: Anteil (%) der Handelsproben je Art, die nach den eigenen Untersuchungen verkehrsfähig sind. (N=10)	95
Abb. 41: Häufigkeit, mit der aufgetretene Qualitätsmängel auf den mit den Handelsproben mitgelieferten Analysenzertifikaten wiedergefunden wurde (Insgesamt N=25), bzw. Häufigkeit, mit der auf Zertifikaten ausgewiesene Mängel in der eigenen Untersuchung nicht wiedergefunden wurde.	95
Abb. 42: Anteil (%) der verkehrsfähigen Handelsproben, die von einzelnen Handelsfirmen stammten (N=6-12)	96

Autorenverzeichnis (Abbildung Nr.)

Dr. Heidi Heuberger (LfL): 18

Prof. Dr. Günther Heubl (LMU): 15

Veronika Mayer (LfL): 12

Andrea Reus: 10

Wolfgang Seemann (LfL): 1-9, 13, 14, 26-35

Jessika Wahl: 11

Tabellenverzeichnis

Seite

Tab. 1: Einfluss der Bestäubungsverhältnisse auf die Samenbildung von <i>Artemisia scoparia</i> Herkunft Blaszczyk.	34
Tab. 2: Auftreten der klonspezifischen Banden in den Kreuzungsnachkommenschaften der 104021-Mütter (21-F ₁) bzw. 104028-Mütter (28-F ₁) und daraus errechnete Fremdbefruchtung.	35
Tab. 3: Übersicht über die erhaltenen <i>Artemisia</i> - und <i>Leonurus</i> -Akzessionen der deutschen Kulturpflanzen-Genbank in Gatersleben (IPK), der Fa. Jelitto, von Wildstandorten und aus anonymen Quelle.	41
Tab. 4: Diagnostische Blatt-Merkmale, in denen sich <i>A. capillaris</i> und <i>A. scoparia</i> unterscheiden.	43
Tab. 5: Winterhärte der <i>Artemisia</i> -Herkünfte: Anteil der Pflanzen, die im Frühjahr des 2. Standjahrs austrieben (% Austrieb) und deren Triebstärke (Bonitur, 1=sehr geringe, 9=sehr hohe Triebstärke) am Standort Puch – Screeningversuche.	47
Tab. 6: Cadmium-Gehalt (mg/kg) der Krautdroge von <i>Artemisia</i> -Herkünften aus verschiedenen Ernten (Schnitte) des ersten Standjahrs 2005 – 2007 an den Standorten Puch (PU) und Baumannshof (BA) – Screeningversuche.	48
Tab. 7: Ätherischölgehalt (% V/m) der Krautdroge von <i>Artemisia</i> -Herkünften aus verschiedenen Ernten (Schnitte) des ersten Standjahrs in Puch (PU) 2006 und Baumannshof (BA) 2007 – Screeningversuche.	49
Tab. 8: Blüheigenschaften und Winterhärte der <i>Leonurus</i> -Herkünfte in den Anbaujahren 2005-2007 am Baumannshof: Blühbeginn (Datum), Anteil von Pflanzen, die im ersten Standjahr im Rosettenstadium verharren (%), Anteil austreibender Pflanzen im zweiten Standjahr (%) und deren Triebstärke (Bonitur, 1=sehr gering, 9=sehr stark) – Screeningversuche.	52
Tab. 9: Pflanzenhöhe zum Erntezeitpunkt (cm) und Blatt-Stängel-Verhältnis (m/m, BSV) des frischen Materials aus der jeweils ersten Ernte eines Standjahrs der <i>Leonurus</i> -Herkünfte in den Anbaujahren 2005-2007 am Baumannshof – Screeningversuche.	53
Tab. 10: Extraktgehalt (% m/m) der Kraut- und Blattdroge aller Ernten (Schnitte) der <i>Leonurus</i> -Herkünfte in den Anbaujahren 2005 und 2006 am Baumannshof – Screeningversuche.	54
Tab. 11: Flavonoidgehalt (mg/kg) der Kraut- und Blattdroge aller Ernten (Schnitte) der <i>Leonurus</i> -Herkünfte in den Anbaujahren 2005 und 2006 am Baumannshof – Screeningversuche.	55
Tab. 12: Versuchsdetails zu den Kreuzungen und Prüfungen der Klone von <i>Artemisia</i> (ASC) und <i>Leonurus</i> (LJA) in Polycrossanlagen im Feld (Puch) und im Gewächshaus (Freising).	57
Tab. 13: Cadmiumgehalt (mg/kg) in der Blatt-, Stängel- und Krautdroge des dritten und fünften Schnitts verschiedener <i>Artemisia</i> -Herkünfte, sowie deren Blatt-Stängel-Verhältnis (BSV) in der Krautdroge. Daten aus	

Prüfung auf Kombinationseignung, BA Anbaujahr 2006, vgl. Kap. 2.8 – Exaktversuch (N=3).	63
Tab. 14: Krautdrogenertrag (dt/ha), Homogenität des Bestands (Boniturnote), Anthocyanfärbung der Stängel (Boniturnote), sowie Blatt-Stängel- Verhältnis (BSV, Mittelwert des 3. und 5. Schnitts) und Cd-Gehalt in der Krautdroge der F ₁ -Nachkommenschaften der <i>Artemisia</i> -Klone und der Kontrollherkünfte Blaszczyk und Elixir Farm 2006 am Standort Baumannshof. (Boniturnoten: 1=sehr gering, 9=sehr stark ausgeprägtes Merkmal) – Exaktversuch (Mittelwerte, N=3; Werte mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden, Tukey, $\alpha=5\%$)	68
Tab. 15: Blühbeginn, Anteil der in Rosetten verharrender Pflanzen (%), Krautdrogenertrag (dt/ha) und Anteil der im Herbst des ersten Standjahrs abgestorbenen Pflanzen (%) der F ₁ -kommen der <i>Leonurus</i> -Klone und der Kontrollherkünfte Horizon Herbs, Richters und B. T. World Seeds 2007 am Standort Baumannshof – Exaktversuch (Mittelwerte, N=3; Werte mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden, Tukey, $\alpha=5\%$)	69
Tab. 16: Im Qualitätsvergleich untersuchte Parameter und Probenzahl (N) je Art	82
Tab. 17: Durchschnittliche Schwermetallgehalte (mg/kg) in Versuchs- (VP) und Handelsproben (HP) von TCM-Drogen (N=10)	85
Tab. 18: Pestizidrückstände (8, 26, 44) in Handelsproben von TCM-Drogen (N=10)	87
Tab. 19: Mikrobiologische Reinheit der Versuchs- (VP) und Handelsproben (HP) von TCM-Drogen: <i>Durchschnittliche</i> Anzahl Kolonien bildender Einheiten (KBE/g) und Anteil verkehrsfähiger Proben nach Ph. Eur. 4.0/5.0 (44); Kat.4a: VP N=5-10, HP N=10; Kat.4b: VP u. HP N=2-5	90
Tab. 20: Häufigkeiten (N) der Gehalte ($\mu\text{g/kg}$) von Acrylamid und Benzo(a)pyren in ausgewählten Handelsproben von TCM-Drogen	91
Tab. 21: Gehalte (%) an spezifischen Inhaltsstoffen und Extrakten in Versuchs- und Handelsproben (VP bzw. HP) von TCM-Drogen	92
Tab. 22: Zusammensetzung (mg/l) der geprüften Nährmedien für die <i>in vitro</i> - Etablierung, -Vermehrung und -Bewurzelung von <i>Artemisia scoparia</i> auf der Grundlage des MS-Basalmediums	105
Tab. 23: Zusammensetzung (mg/l) der geprüften Nährmedien für die <i>in vitro</i> - Etablierung, und -Vermehrung von <i>Leonurus japonicus</i> auf der Grundlage des MS-Basalmediums	106
Tab. 24: Zusammensetzung (mg/l) der geprüften Nährmedien für die <i>in vitro</i> - Bewurzelung von <i>Leonurus japonicus</i> auf der Grundlage des MS- Basalmediums	107
Tab. 25: Zusammensetzung (mg/l) der geprüften Nährmedien für die <i>in vitro</i> - Bewurzelung von <i>Leonurus japonicus</i> auf der Grundlage des MS- Basalmediums	108

Verzeichnis der Abkürzungen

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ASC	<i>Artemisia scoparia</i>
BA	Versuchsstation Baumannshof
BAP	Benzylaminopurin
BSV	Blatt-Stängel-Verhältnis
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
Cd	Cadmium
Ch. P.	Chinesische Pharmakopoe
D	Sammelort bzw. Donor
DAB	Deutsches Arzneibuch
DC	Dünnschichtchromatographie
DECA	Gesellschaft für die Dokumentation von Erfahrungsmaterial der Chinesischen Arzneitherapie, Reitmehring
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dt	Dezitonne
EV	Eintrocknungsverhältnis Frischware : Droge
F ₁	Kreuzungsnachkommen, erste Generation
FH	Fachhochschule
FKZ	Förderkennziffer
FNR	Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe
GC(/MS)	Gaschromatographie (gekoppelt mit Massenspektrometrie)
GMP	Good Manufacturing Practice
h	Stunde
ha	Hektar
Hg	Quecksilber
HP	Handelsprobe(n)
HPLC(-MS)	High Performance Liquid Chromatography (gekoppelt mit Massenspektrometrie)
IAA	Indoleessigsäure
IPGRI	International Plant Genetics Research Institute
IPK	Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung
IPZ	Institut für Pflanzenbau
ISTA	International Seed Testing Association

ITS	Internal Transcribed Spacer
K	Klonpflanzen
k. A.	keine Angabe
KBE	Kolonienbildende Einheiten
LfL	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
LJA	<i>Leonurus japonicus</i>
LLA	Landwirtschaftliche Lehranstalten Triesdorf
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität, München
MS	1. Murashige und Skoog; 2. Massenspektrometrie
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PAK	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
Pb	Blei
PCR	Polymerase Chain Reaction
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
PK	Primerkombination
PU	Versuchsstation Puch
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RHmVO	Rückstandshöchstmengen-Verordnung
SAS	Statistical Analysis System
S ₁	Selbstungsnachkommen, erste Generation
SMS	Societas Medicinae Sinensis / Internationale Gesellschaft für Chinesische Medizin, München
StMLF	Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten
TCM	Traditionelle Chinesische Medizin
TKG	Tausendkorngewicht
UDSSR	Sowjetunion
üNN	über Meereshöhe (Normalnull)
UPGMA	unweighted pair group method with arithmetic mean
VP	Versuchsproben
V	Volumen

1 Problemstellung, Zielsetzung und Vorgehensweise

1.1 Inkulturnahme von chinesischen Heilpflanzen in Deutschland

Heilpflanzen spielen in der traditionellen chinesischen Medizin (TCM) eine zentrale Rolle. Eine kritische Öffentlichkeit nimmt aber meist nur wegen möglicher Verunreinigungen, Nebenwirkungen und Identitätsproblemen davon Notiz. Mittlerweile wenden etwa 3000 speziell ausgebildete deutsche Ärzte und andere Heilberufe die chinesische Arzneimitteltherapie an, Tendenz steigend (15). Großhändler versorgen die Apotheker mit importierter Ware, in spezialisierten Apotheken werden die ärztlichen Verordnungen gemischt und als Rezepturarzneimittel hergestellt. Der **Import** der Rohdrogen (getrockneter Pflanzenteile) vieler bei uns meist unbekannter Pflanzen aus Asien bereitet aber häufig **Qualitäts- und Beschaffungsprobleme** – vor allem im Hinblick auf eine gut dokumentierte „Entstehungsgeschichte“ – wie sie heute bei westlichen Arzneipflanzen z. B. Pfefferminze oder Baldrian Standard ist. Der Untersuchungsaufwand für die Überprüfung der pharmazeutischen Qualität ist deshalb enorm (16, 20, 22, 36). Durch einen Anbau von Heilpflanzen mit definierter Herkunft unter kontrollierten und dokumentierten Bedingungen können die Arzneimittelsicherheit und die allgemeine Qualität des Drogenmaterials wesentlich verbessert werden. Gleichzeitig soll der Umfang des deutschen Heil- und Gewürzpflanzenanbaus durch die Schaffung neuer Anbaumöglichkeiten erweitert und der Raubbau an den Naturstandorten in China reduziert werden.

Um chinesische Arzneipflanzen unter kontrollierten Bedingungen in Deutschland anzubauen zu können, beschäftigt sich die LfL seit 1999 mit der systematischen Anbauforschung von 16 ausgewählten Arten (20).

Sehr bald zeigte sich, dass bei der **Einführung einer für Deutschland völlig neuen Pflanzengruppe in die landwirtschaftliche Produktion** mit weitestgehend fehlenden Informationsmöglichkeiten andere Wege als sonst in der pflanzenbaulichen Forschung üblich beschritten werden mussten. Hierbei genügte es nicht mehr, sich mit ausgewählten Teilaspekten, z. B. mit der Prüfung verschiedener genetischer Herkünfte, Aufbauverfahren oder Ernteterminen in Feldversuchen zu befassen. Aussicht auf Erfolg konnte nur die komplexe und parallele Beschäftigung mit den Bereichen Inhaltstoffanalytik, botanische Identifizierung, Gewebekultur, **Züchtung, vergleichende analytische und sensorische Qualitätsuntersuchungen an Importware und Anbauversuchsmustern** sowie Bereitstellung von definiertem Material für Anwendungsbeobachtungen an Patienten seitens der TCM-Ärztegesellschaften durch den Aufbau eines vielseitigen Kooperations- und Forschungsnetzes bieten.

Seit 2005 werden die Wurzeldrogen *Angelica dahurica*, *Salvia miltiorrhiza*, *Saposhnikovia divaricata* und *Scutellaria baicalensis* sowie die Krautdrogen *Artemisia scoparia*, *Leonurus japonicus* und *Sigesbeckia pubescens* von Landwirten produziert, die große Erfahrung in der Produktion europäischer Arzneipflanzen besitzen und mit der entsprechenden professionellen Infrastruktur ausgerüstet sind. Seit Frühjahr 2007 wird außerdem noch *Astragalus mongholicus (membranaceus)* für die Wurzeldrogenproduktion kultiviert. Insgesamt belief sich der kommerzielle Anbau von acht chinesischen Heilpflanzen in Bayern 2007 auf vier Hektar. Mehrere Landwirte aus Mittelfranken, die an verschiedene Abnehmerfirmen liefern, sind gegenwärtig daran beteiligt (21, 22, 23).

1.2 Erste züchterische Bearbeitung und Qualitätsvergleich von Heilpflanzen TCM

Das von der **Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR) geförderte Projekt** „Erste züchterische Bearbeitung und Qualitätsbeurteilung ausgewählter chinesischer Heilpflanzen, die für einen Anbau in Deutschland geeignet sind“ (FKZ 22007703) ist **Teil dieses interdisziplinären Forschungsprojektes**.

Projektschwerpunkt Züchtung

Im Gegensatz zu etablierten landwirtschaftlichen oder gärtnerischen Kulturarten gibt es **bei den chinesischen Heilpflanzen keine oder nicht zugängliche Sorten**. Die wenigen Saatgutherkünfte, die für die Anbauforschung in Bayern aus dem Samenhandel bezogen werden konnten, können als mehr oder weniger heterogene Populationen bezeichnet werden. Für den Anbau ist die fehlende Homogenität von Nachteil, für die Züchtung birgt sie jedoch die Chance, geeignete Typen für den Standort und das Anbauverfahren zu selektieren. Die Saatgutvermehrung der Herkünfte von *Leonurus japonicus* an der Landesanstalt im Rahmen des Anbauprojekts bewirkte bereits eine deutliche Verbesserung der Saatgutqualität, d. h. eine bessere Keimung und gleichmäßigere Jungpflanzen (20).

Die Verbesserung der Saatgutqualität und die Entwicklung von Anbauverfahren führten bei *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus* jedoch noch nicht zum ausreichenden Erfolg. Daher wurde der Weg der Pflanzenzüchtung beschritten, an dessen Ende verbesserte Sorten, vor allem im Hinblick auf **Homogenität und mehrjährigem Anbau** bei gleichzeitig hoher Qualität den **heimischen Anbau** dieser beiden Arten **wirtschaftlicher** machen sollen. Über andere Züchtungsprogramme zur Verbesserung der Anbaueigenschaften und Drogenqualität bei *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus* war nichts bekannt.

Da die Entwicklung einer Sorte von Natur aus viele Jahre in Anspruch nimmt und über die Biologie der chinesischen Heilpflanzen nur wenig Information vorlag, konnten im Rahmen des Projektes zunächst nur die ersten, grundlegenden Schritte in der züchterischen Bearbeitung von *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus* gemacht werden. Diese umfassten folgende Aufgaben:

1. Definition der Zuchtziele
2. Aufklärung der Blühbiologie und Ableitung des Zuchtverfahrens
3. Methodenentwicklung für vegetative Vermehrung (Klonierung)
4. Erweiterung und Sichtung des Zuchtmaterials mit Selektion
5. Klonprüfung und Kreuzung
6. Prüfung auf allgemeine Kombinationseignung

Die Aufgaben 1-3 wurden 2004-2005 bearbeitet, Aufgabe 4 ebenfalls 2004-2005 mit nachgelagerten weiteren Selektionsschritten. In 2006 und 2007 erfolgte die Klonprüfung beider Arten, die 2006 bei *Leonurus japonicus* mit einer Kreuzung der Klone einherging (Polycrossanlage). Die Kreuzung der *Artemisia scoparia* Klone war nicht im Feldversuch, sondern erst 2007 im Gewächshaus erfolgreich. Daher wurde in 2007 nur bei *Leonurus japonicus* mit Aufgabe 6 begonnen.

Zu Beginn der Züchtungsarbeiten waren nur wenige Informationen vorhanden. Für *Leonurus japonicus* lagen Erfahrungen in der vegetativen Vermehrung über Stecklinge von Teo und Pin (54) vor. Bei *Artemisia scoparia* wurden von Kothari und Chandra (40) verschiedene Nährmedien für die *In-vitro* Kultur getestet. Diese beschrieben eine gute Spross- und Knospenbildung aus Stängelinternodienabschnitten in MS-Basalmedium mit 5,0 mg/l IAA (Indolelessigsäure) und 3,0 mg/l BAP (Benzylaminopurin). Kalluskulturen aus Stängelin-

ternodien zeigten Knospendifferenzierung nur in Medien mit IAA (5,0 mg l⁻¹) und BAP (0,5 mg l⁻¹). Ob dies auf verschiedene Genotypen übertragbar ist, musste untersucht werden.

Im Projektverlauf wurden weitere Grundlagen für die Züchtung aus neuen Veröffentlichungen und der Ableitung von verwandten Arten bezogen, sowie in den eigenen Untersuchungen erarbeitet. Diese sind in Kapitel 2 ausführlich dargestellt.

In einem parallel laufenden, vom Bayerischen Landwirtschaftsministerium (StMLF) geförderten Projekt wurde mit der Züchtung der beiden Arten *Astragalus mongholicus* und *Bupleurum chinense* begonnen. Das Personal aus dem StMLF-geförderten und aus dem FNR-geförderten Projekt bearbeitete beide Projekte gemeinsam, wodurch große Synergien entstanden und ein effizientes Arbeiten bei allen vier Arten möglich war.

Außerdem eingebunden in das Züchtungsprojekt von *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus* waren neben den Arbeitsgruppen AQU 1, 2, 4; AVB 1, 2; IPS 3e; IPZ 1a, 5c, 6c der LfL und den Landwirtschaftlichen Lehranstalten Triesdorf (LLA), der Bereich Systematische Botanik des Department Biologie I der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU, Prof. Heubl) in München, der Bereich Pharmakognosie des Instituts für Pharmazeutische Wissenschaften der Karl-Franzens-Universität Graz (Prof. Bauer), die Gesellschaft für die Dokumentation von Erfahrungsmaterial der Chinesischen Arzneitherapie (DECA, Dr. Friedl), sowie die Internationale Gesellschaft für Chinesische Medizin (Societas Medicinae Sinensis, SMS, Dr. Hummelsberger).

Projektschwerpunkt Qualitätsvergleich

Da die Qualitätsfrage mit den Impuls zum Anbauprojekt gab, wurde geprüft, ob die Drogen aus deutschem Versuchsanbau (und daraus abgeleitet aus dem großflächigen Feldanbau) eine äquivalente Alternative zu den Importdrogen darstellen. Bislang wurden Qualitätsuntersuchungen entsprechend der relevanten Arzneibücher an importierten Drogen der relevanten Arten von den importierenden Handelshäusern in Auftrag gegeben und waren damit nicht öffentlich verfügbar. Daher wurden im Rahmen des Projekts Versuchs- und Handelsproben der zehn Arten *Angelica dahurica*, *Artemisia scoparia*, *Astragalus mongholicus*, *Bupleurum chinense*, *Leonurus japonicus*, *Prunella vulgaris*, *Salvia miltiorrhiza*, *Saposhnikovia divaricata*, *Scutellaria baicalensis* und *Sigesbeckia pubescens* einem umfangreichen Qualitätsvergleich unterzogen.

Identität, Reinheit, Inhaltsstoffe wurden von Fa. PhytoLab (Vestenbergsgreuth, Dr. Kabelitz, Frau Dr. Groß, Dr. Schmücker, Herr Bögelein) und die sensorischen Eigenschaften von Fa. Kräuter Mix (Abtswind, Frau Dr. Torres-Londoño, Frau Friedmann) auf deren eigene Kosten in 2004-2006 durchgeführt. Seit 2007 werden die Ergebnisse durch die LfL aufbereitet und der Öffentlichkeit vorgestellt.

2 Beginnende Auslesezüchtung bei *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus*

2.1 Die chinesischen Heilpflanzen *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus*

2.1.1 *Artemisia scoparia*

In der chinesischen Pharmakopoe (Ch. P., Ausgabe 2000 und 2005) (5, 9) werden *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. und *Artemisia capillaris* Thunb. als Stammpflanzen für Herba

Artemisia scoparia (Yinchen) angegeben. Auf die schwierige Unterscheidung beider Arten wird in Kapitel 2.6.2 eingegangen. Im Folgenden wird der Einfachheit halber nur von *Artemisia scoparia* die Rede sein, die auf deutsch als Besenbeifußkraut bezeichnet wird.

Von *Artemisia scoparia* wird sowohl das junge (Abb. 1) als auch das ältere Kraut in der TCM verwendet (5, 9, 51). Die zweijährige Pflanze zählt zur Familie der Korbblütler (*Asteraceae*, *Compositae*). Sie kann bis zu 180 cm hoch werden. Ihre Blätter sind zweifach gefiedert. Die Blütenköpfe sind sehr klein, grün-weiß und sehr zahlreich. Je nach genetischer Herkunft kann sie im Herbst des ersten oder zweiten Vegetationsjahres zur Blüte gelangen (48). Die Droge wird bei durch Lebererkrankungen hervorgerufener Gelbsucht und bei verminderter Harnausscheidung verwendet. Auch bei nässenden Geschwüren und Juckreiz wird sie innerhalb der TCM eingesetzt (5, 9, 51).



Abb. 1: *Artemisia scoparia* – Bestand mit jungen Pflanzen

Die Droge von *Artemisia scoparia* wird in der Ch. P. (5, 9) wie folgt beschrieben: größtenteils zu Knäueln verwickelt, grauweiß, graugrün oder gänzlich weiß gefärbt, weich und samtig behaart. Die Droge hat eine spröde Konsistenz und bricht leicht. Die Stängel sind fein und zart und bis zu 2,5 cm lang. Die Blätter sind gestielt, einfach bis dreizählig gefiedert und bis zu 3 cm lang und 1 cm breit. Die Droge hat einen erfrischenden aromatischen Geruch und schmeckt bitterscharf. Die Droge aus dem Import (Abb. 2) entspricht der äußeren Beschreibung, die Droge aus dem Versuchsanbau weicht durch eine deutlich schwächere Behaarung und frischer grüner Farbe davon ab (Abb. 3). Die Konsequenzen daraus werden in den Kapiteln 2.3 und 2.6 diskutiert.



Abb. 2: *Artemisia* Krautdroge aus China



Abb. 3: *Artemisia* Krautdroge aus Versuchsanbau

2.1.2 *Leonurus japonicus*

In der Ch. P. (5, 9) wird *Leonurus japonicus* Houtt. als Stammpflanze für Herba Leonuri (Yimucao) aufgeführt, während Stöger (51) in der deutschen Übersetzung einer früheren Version des Arzneibuches der Volksrepublik China noch den älteren Namen *Leonurus heterophyllus* verwendet. *Leonurus japonicus* (Chinesisches Mutterkraut) gehört zur Familie der Lippenblütler (*Lamiaceae*; *Labiatae*) und wird als ein- oder zweijährige Pflanze mit holzigem Rhizom beschrieben. Unter hiesigen Standortverhältnissen kann sie aber stark auswintern. In der TCM wird für die Droge das gesamte Kraut verwendet, das kurz vor oder bei beginnender Blüte (Abb. 4) geerntet wird. Es wird bei verminderter Harnausscheidung, Ödemen und bei Regelanomalien eingesetzt (5, 9).



Abb. 4: *Leonurus japonicus* - erntereifer Bestand bei beginnender Blüte

Charakteristisch für die Droge ist der vierkantige Stängel mit einem Durchmesser von 0,2-0,5 cm, außen graugrün oder gelbgrün. Die Stängelflächen sind zu Längsrinnen vertieft. An der Bruchfläche ist Mark erkennbar. Die Blattspreiten sind graugrün, zerknittert und zerbrochen. Die Blütchen sind hell violett in axillaren Blütenständen. Die Schnittdroge ist in ca. 2 cm lange Abschnitte geschnitten. Herba Leonuri ist von schwach aromatischem Geruch und schmeckt schwach bitter (5, 9). Die Drogen aus dem Import und aus Versuchsanbau entsprechen der Beschreibung, jedoch ist die Droge aus Versuchsanbau insgesamt frischer grün gefärbt (Abb. 5 und 6). Dieser Aspekt wird in Kapitel 3 näher beleuchtet.



Abb. 5: *Leonurus* Krautdroge aus China



Abb. 6: *Leonurus* Krautdroge aus Versuchsanbau

2.2 Allgemeine Versuchsbedingungen

Die verschiedenen Versuchsanstellungen erfolgten aufgrund der langjährigen Erfahrungen und Kenntnisse der LfL im Anbau europäischer Heilpflanzen, der bisherigen Erkenntnisse aus aktuellen Versuchen mit den beiden Arten und aufgrund der mittlerweile beschafften und übersetzten chinesischen Literatur (z. B. 1, 7, 20, 48).

Die Jungpflanzenanzucht für die Feldversuche, die gärtnerische vegetative Vermehrung, die Erhaltung der Mutterpflanzen sowie die Kurztagsbehandlung der *Artemisia* Klonpflanzen erfolgte in der modernen, für Versuche ausgelegten Gewächshausanlage der LfL in Freising.

Die Jungpflanzen für die Herkunftsprüfungen und Leistungsprüfungen wurden ab Anfang März bis Anfang Mai aus Saatgut angezogen. Dieses wurde nach Herkünften (Akzessionen) getrennt bzw. aus den Polycrossanlagen auf den Versuchstationen Baumannshof und Puch gewonnen. Zur Vermeidung von Fehlstellen bei knappen Anzuchtflächen und für die Gewinnung möglichst einheitlicher Jungpflanzen erfolgte die Aussaat für die Einzelpflanzen zunächst breitwürfig in PK 12 Anzuchtkisten (Floraton 3 mit Perligran), aus denen bald nach dem Auflaufen in die Multitopfplatten (Vefi, 160 Zellen/Platte, Füllung Floraton 3) pikiert wurde. *Artemisia*-Tuffs wurden von Hand mit 3-5 Korn direkt in die Multitopfplatten gesät. Das extrem feine Saatgut von *Artemisia scoparia* (Tausendkorngewicht, TKG 0,03 g) wurde mit Talkum Puder vermischt, um die Dosierung zu erleichtern. Bis zum Auflaufen wurde eine Temperatur von 20-25 °C gehalten, die anschließend langsam

bis auf 14-15 °C (Heizungssoll) und 1 Woche vor der Pflanzung auf 8 °C (Heizungssoll) abgesenkt wurde.

Bei beiden Arten wurden ab 3 Wochen nach der Aussaat das Gießwasser durch eine schwache Düngerlösung (Mischung aus 0,05 % Flory 1 und 0,05 % Flory Basisdünger 1) ersetzt und die Jungpflanzen direkt vor der Pflanzung mit 0,3 % Flory 1-Lösung gegossen.

Die Drillsaat bei einem Feldversuch von *Leonurus japonicus* wurde Anfang Mai mit einer mehrreihigen Gaspardo-Bandverteilersämaschine durchgeführt.

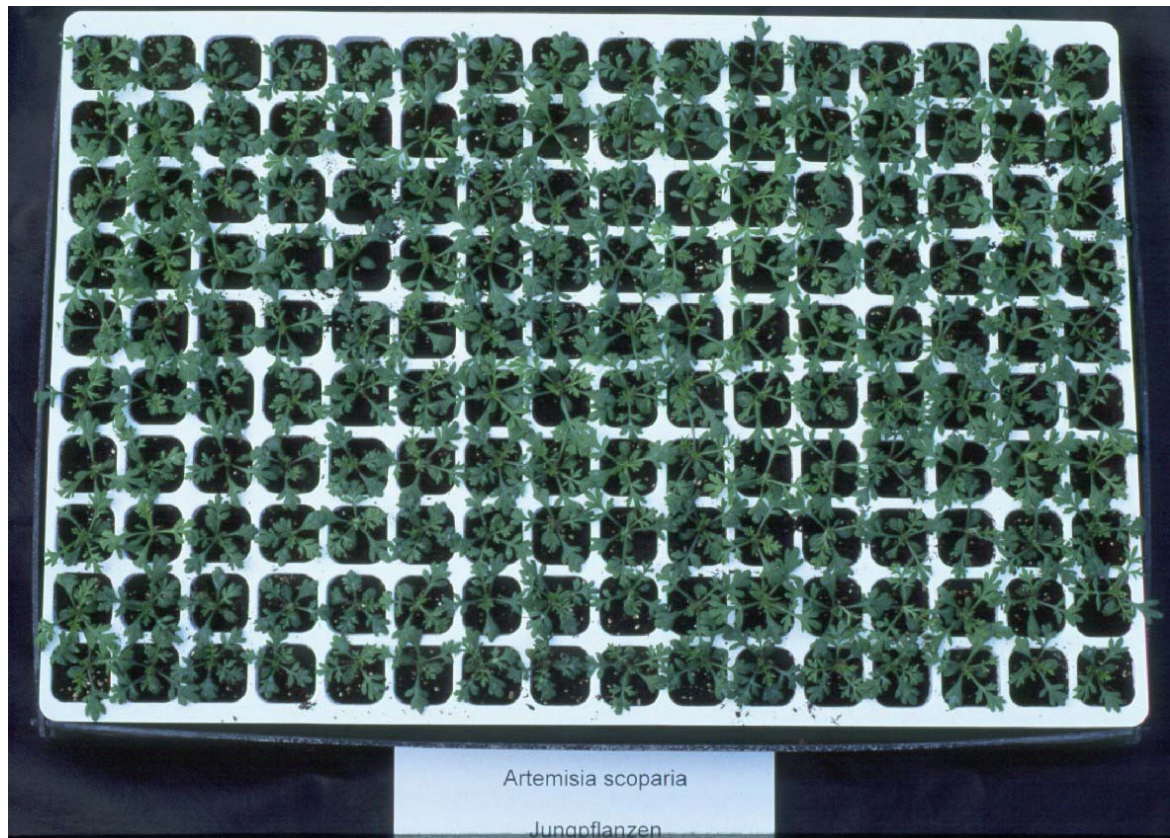


Abb. 7: *Artemisia* Jungpflanzen (Einzelpflanzen) in Anzuchtplatte vor der Pflanzung

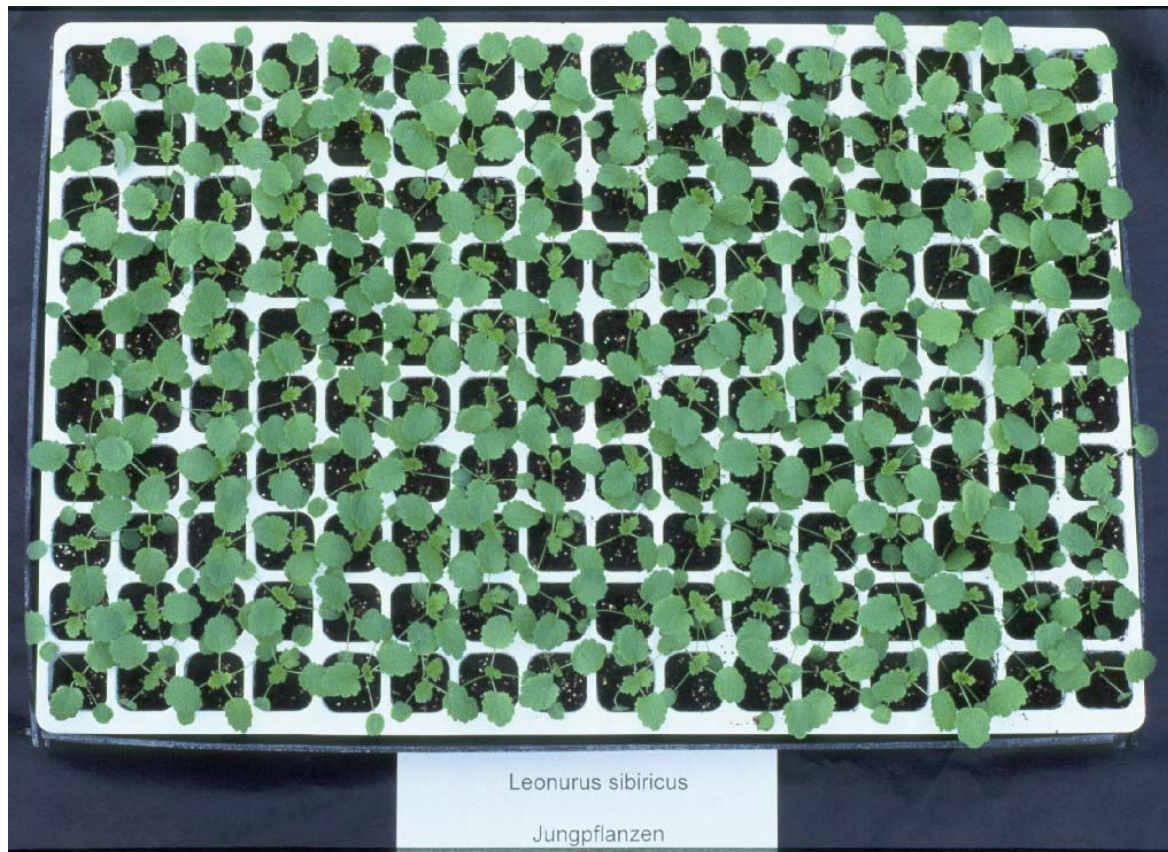


Abb. 8: *Leonurus* Jungpflanzen in Anzuchtplatte vor der Pflanzung

Die Feldversuche und Saatgutvermehrungen standen auf den Staatlichen Versuchsstationen Baumannshof, Landkreis Pfaffenhofen, und Puch, Landkreis Fürstentfeldbruck. Die Kreuzungen zur genaueren Bestimmung des Selbstbefruchtungsanteils wurden auf Flächen der Abteilung Saatzeit an den LLA Triesdorf, Landkreis Ansbach, vorgenommen.

Der Standort Baumannshof (365 m üNN) ist durch einen humosen Sandboden mit pH-Werten zwischen 5,0 und 6,3 und einem Humusgehalt zwischen 2,6 und 4,1 % geprägt. Die durchschnittliche Jahresniederschlagsmenge liegt bei 857 mm, die durchschnittliche Jahrestemperatur beträgt 9,2 °C.

Der Standort Puch auf 550 m üNN ist durch tiefgründige Böden aus sandigem Lehm mit pH-Werten zwischen 6,1 und 6,7, sowie Humusgehalten zwischen 1,5 bis 2,2 % gekennzeichnet. Die Lage ist windreich, die durchschnittliche Jahrestemperatur beträgt 8,8 °C und die Jahresniederschlagsmenge liegt bei 914 mm, wovon 65 % von April bis September fallen.

Beim Boden des Versuchsstandorts Triesdorf handelt es sich um einen anlehmigen Sand auf Keuper mit pH 7,0. Der Standort auf 434 m üNN zeichnet sich außerdem durch ein niedriges Temperaturmittel von 7,5 °C und 625 mm Jahresniederschlag mit ausgeprägter Sommertrockenheit aus, so dass er insgesamt als extensiver Standort zu charakterisieren ist.

Die Düngung erfolgte mit mineralischen Düngemitteln entsprechend dem Ergebnis der Bodenuntersuchung und dem vorgegebenen Richtwert nach dem bisher ermittelten Entzug (Sachgebiet AQU 4 „Rohstoffqualität pflanzlicher Produkte“) durch die Pflanzen. Diese

Richtwerte betragen (in kg/ha) für *Artemisia* im 1. Standjahr 160 N, 40 P₂O₅, 220 K₂O; im Folgejahr sofern sich ein Bestand entwickelt hat 110 N, 30 P₂O₅, 150 K₂O. Für *Leonurus* liegen sie bei 230 N, 70 P₂O₅, 320 K₂O im 1. Standjahr. Im 2. Standjahr wurden die Richtwerte entsprechend der Bestandsdichten nach Auswinterung reduziert.

Nach der Pflanzung von Hand Mitte/Ende April und bei Bedarf wurde beregnet. Die Abstände betrugen in den Parzellen der Herkunfts- und Nachkommenschaftsprüfungen zwischen den drei zentralen Reihen 42 cm bzw. zu den nicht beernteten Randreihen 62,5 cm (Beetbauweise) und in der Reihe 25 cm. Auf den 10 m²- Parzellen standen somit jeweils 80 Pflanzen bzw. Tuffs. Die Unkrautunterdrückung erfolgte mechanisch. Pflanzenschutzmittel wurden nicht eingesetzt.



Abb. 9: Krauternte mit dem Hege Grünguternter

Die mehrmalige Ernte während einer Vegetationsperiode wurde mithilfe des für Heil- und Gewürzpflanzen optimierten Hege-Grünguternters (18) ausgeführt. Das vegetative *Artemisia* Kraut wurde bei 30-40 cm Aufwuchshöhe 10 cm über dem Boden bis zu 7 mal pro Jahr geerntet. Das *Leonurus* Kraut wurde bei beginnender Blüte 20 cm über dem Boden geschnitten. Von beiden Arten wurden pro Parzelle 48 Pflanzen bzw. Tuffs wie folgt ausgewertet (3 ganze Zentralreihen):

Das frische Kraut inklusive der Stängel wurde gewogen, mit dem Wintersteiger Laborhäcksler grob zerkleinert, gründlich durchmischt und 1000 g (Exaktversuch) bzw. 2000 g (Screeningversuch) frisches Kraut entnommen. Für die Ermittlung des Stängelan-teils und die Gewinnung von Blattware bei *Leonurus* wurde vor dem Häckseln eine repräsentative Probe gezogen. Das gesamte Kraut, bei *Leonurus* teilweise auch zusätzliche Blattproben, wurden bei 40 bis 45 °C auf einem Hordentrockner bis zu einer Restfeuchte zwischen 6 und 8 % zur Droge getrocknet. Die Restfeuchte wurde gravimetrisch be-

stimmt. Mit den daraus gewonnenen Daten wurden für jede Parzelle der frische Kraut-ertrag, ggf. der Ertrag der frischen Blätter, und der Blattdrogenertrag, jeweils pro Hektar, das Eintrocknungsverhältnis (EV), sowie jeweils der Gesamtertrag pro Hektar aus allen Schnitten berechnet. Bei einzelnen Ernten von *Artemisia* wurden aus der Droge nach einem kurzen Dreschgang (wenige Sekunden, 1,5 mm x 4,5 mm Dreschkorb) die Stängel ausgesiebt (3 mm) und das Blatt-Stängelverhältnis ermittelt.

Die Ch. P. schreibt für Herba Artemisiae keine Gehaltsbestimmungen vor (5, 9). Da das Kraut von *Artemisia* ätherisches Öl enthält, wurde dessen Gehalt entsprechend den Vorgaben des Europäischen Arzneibuchs (Ph. Eur.) (44) mittels Wasserdampfdestillation ermittelt. Da sich im Verlauf der Untersuchungen herausstellte, dass *Artemisia scoparia* zu den Cadmium akkumulierenden Pflanzen gehört, wurde dieses Schwermetall ab den Versuchen 2006 untersucht.

Für *Leonurus* schreiben beide Ausgaben der Ch.P. (5, 9) die Gehaltsbestimmung von Stachydrin mittels quantitativer HPLC vor. Da sich diese Methode als nicht reproduzierbar herausstellte, wurde dieser Inhaltsstoff nicht mehr weiter verfolgt. In der Herkunftesichtung 2005 wurde dafür eine Bestimmung der Flavonoide entsprechend der photometrischen Arzneibuchbestimmung bei Herba Passiflorae (44) durchgeführt. In allen Versuchen wurde der neu in die *Leonurus*-Monographie des Ch.P. 2005 (9) aufgenommene Extraktgehalt bestimmt.

Alle Untersuchungen an den Drogenproben wurden an der LfL bei AQU 2 (Dr. Lepschy) durchgeführt.

Bestimmung des Ätherischölgehalts mittels Wasserdampfdestillation (44)

Vor der Destillation wurde das Probenmaterial, das jeweils die gesamte Parzelle repräsentierte, gut vermischt, und für die Destillation benötigte Menge unter nur grober Zerkleinerung von Hand in den Destillationskolben eingefüllt.

Die Destillation erfolgte in einem 1l-Kolben mit 25,0 g Probenmenge unter Zugabe von 400 ml Wasser. In die aufgesetzte DAB-konforme Apparatur wurde so viel Wasser eingefüllt, dass das Steigrohr fast gefüllt war. Ins Sammelrohr des Destillats wurden 0,5 ml Xylol vorgelegt, um die geringen Mengen des ätherischen Öls aufzunehmen. Es wurde 2 Stunden mit einer Destillationsgeschwindigkeit von 2-3 ml/Minute destilliert. Nach Beendigung der Destillation wurde Wasser abgelassen, bis sich die organische Phase vollständig in dem graduierten Rohr befand und das Volumen abgelesen. Da ein Teil des vorgelegten Xylols während der Destillation verdampft war, wurde der Schwund in mehreren Blindversuchen (Destillation ohne Droge) ermittelt. Das so ermittelte Volumen wurde vom Gesamtvolumen abgezogen. Das Restvolumen ergab das Volumen des destillierten ätherischen Öls.

Bestimmung des Cadmiumgehalts von *Artemisia*

Für die Bestimmung des Cadmiumgehalts der Artemisiadroge wurde diese kontaminationsfrei vermahlen (Fritsch Pulverisette 14, keine Abgabe von Schwermetallen). 3,00 g der gemahlenen und homogenisierten Probe wurden in einen 250 ml Aufschlusskolben eingewogen und mit 7,5 ml einer 65 % Salpetersäure und 22,5 ml einer 36-38 % Salzsäure versetzt (Königswasser). Das Gemisch blieb über Nacht im Abzug stehen. Am nächsten Tag wurde es in einem Aufschlussblock 40 Minuten auf 80 °C erhitzt und dann die Temperatur für 1,4 Stunden auf 166 °C gesteigert. Nach 30 Minuten Abkühlzeit wurde die Aufschlusslösung quantitativ in einen 100 ml-Kolben überführt, mit dest. Wasser auf 100 ml aufgefüllt und dann filtriert. 5 µl des Filtrats wurden in das Graphitrohr des AAS (ZL

4100 der Firma Perkin Elmer) eingespritzt. Es wurde 20 Sekunden bei 130 °C und dann 30 sec. bei 140 °C getrocknet. Die Veraschung erfolgte 30 Sekunden bei 600 °C, die Atomisierung 5 Sekunden bei 1400 °C. Anschließend wurde noch 2 Sekunden bei 2400 °C ausgeheizt. Die Messwellenlänge betrug 228,8 nm. Zur Ermittlung der Konzentration wurde eine Dreipunkt-Kalibrierkurve mit Konzentrationen von 20,50 und 100 mg Cadmium/l erstellt.

Bestimmung des Flavonoid-Gehalts von *Leonurus*

0,2 g der feingemahlenen Probe wurden mit einer Analysenwaage abgewogen und quantitativ in eine Extraktionshülse überführt. Der Extraktionsapparat (Soxtherm 2000, Gerhardt) wurde mit 140 ml 60 % Ethanol befüllt und die Probe 20 Minuten unter Rückfluss extrahiert. Danach wurde der Großteil des Extraktionsmittels abdestilliert. Nach dem Abkühlen wurde der Extrakt unter Filtration über ein Papierfilter quantitativ in einen 100 ml Messkolben überführt und auf 100 ml aufgefüllt. Von diesem Extrakt wurden je 5 ml über einen Membranfilter (0,45 µm) in zwei Reagenzgläser überführt und mit einem Luftstrom eingedampft. Die Rückstände wurden mit 10 ml Methanol/Eisessig (1:10 V/V) gelöst und in einen 25 ml-Messkolben überführt. Ein Kolben wurde nach Zusatz von 10 ml Borsäure/Oxalsäure (2,5 % Borsäure + 2,0 % Oxalsäure in Ameisensäure) mit Eisessig aufgefüllt. In den zweiten Kolben wurden 10 ml Ameisensäure gegeben und mit Eisessig auf 25 ml aufgefüllt. Diese Lösung diente als Vergleichslösung.

Als Standardlösung wurden 0,5 ml einer 100 mg/l Vitexinlösung in 60 % Ethanol (= 50 µg Vitexin) wie eine Probe behandelt d. h. mit 10 ml Methanol-Eisessig und 10 ml Borsäure/Oxalsäurelösung versetzt und mit Eisessig auf 25 ml aufgefüllt.

Die photometrische Bestimmung erfolgte nach 30 Minuten Standzeit bei einer Wellenlänge von 401 nm, wobei in einem Zweistrahlphotometer die Mess- gegen die Blindwertlösung gemessen wurde. Der Prozentgehalt an Flavonoiden in der Probe berechnet als Vitexin wurde nach der Formel $A \times 0,8 / m$ (A = Absorption Messlösung; m = Masse der eingewogenen Probe in g) ermittelt, wobei eine spezifische Absorption von 628 A_{cm}[%] bei 1 % (1 cm-Küvette) zugrunde gelegt wurde.

Bestimmung des Heißwasser-Extraktgehalts von *Leonurus* (9)

Das Untersuchungsmaterial wurde mit der Retsch SR 300 Mühle zerkleinert und homogen durchmischt. 4,00 g des Untersuchungsmaterials wurden auf 0,01 g genau in einen 250 ml-Rundkolben eingewogen und 100 ml destilliertes Wasser dazugegeben. Das Gesamtgewicht wurde notiert.

Der Kolben wurde verschlossen 1 h stehengelassen und anschließend vorsichtig 1 h nach Aufsetzen eines Rückflusskühlers unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde mit destilliertem Wasser wieder auf das Ursprungsgewicht aufgefüllt (auf 0,01 g genau). Der Kolben wurde wieder gut verschlossen, umgeschüttelt und anschließend wird durch einen trockenen Filter (Filtrak Faltenfilter, Grade 3 hw, 65 g/m²) abfiltriert. Exakt 25 ml des Filtrats wurden abgenommen, in ein Becherglas gefüllt und bis zur Trockene auf einem Sandbad eintrocknen gelassen.

Danach wurde für 3,0 h bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet. Das Becherglas wurde anschließend für mind. 30 min zum Abkühlen in den Exsikkator gestellt und direkt nach der Entnahme gewogen.

Berechnung

a = Gewicht des Becherglases mit Rückstand

b = Gewicht des leeren Becherglases

EW = Einwaage

$$\text{Extrakt \%} = \frac{(a - b) * 100}{EW} * 4$$

Ein Großteil der Versuche wurde als Screeningversuche ohne Wiederholung angelegt, da in diesen vor allem die neu bezogenen Herkünfte gesichtet werden sollten, von denen zu Beginn selten Saatgut für mehrere Parzellen vorhanden war. Nach erfolgter Saatgutvermehrung und bei den Nachkommenschaftsprüfungen wurden Exaktversuche mit drei Wiederholungen angelegt.

Die Daten der Exaktversuche wurden varianzanalytisch mit SAS Programmen (SAS 9.1 für Windows) verrechnet. Der Signifikanztest wurde mit dem Tukey-Test bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5 \%$ durchgeführt. Signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsvarianten in den einzelnen Jahren sind bei den Ergebnissen durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.

2.3 Zuchtziele

Als Grundlage für die Verbesserung der bislang vorhandenen Saatgutherkünfte von *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus* wurden die für einen wirtschaftlich erfolgreichen Anbau bedeutendsten Eigenschaften als Zuchtziele definiert. Da in der Regel in einem Zuchtzyklus (Selektion und anschließende Kombination) nur 1-2 Parameter intensiv züchterisch bearbeitet werden können, wurden Prioritäten innerhalb der Zuchtziele festgelegt.

Zuchtziele für *Artemisia scoparia*

Oberste Priorität sind ein hoher Ertrag mit hohem Blattanteil und eine geringe Cadmium Akkumulation in der Droge. Weitere wichtige Eigenschaften sind eine hohe Überwinterungsrate (Winterhärte), ein gleichmäßiger Bestand im ersten und zweiten Standjahr, ein hoher Ätherischölgehalt sowie eine deutliche Behaarung.

Die Relevanz einer niedrigen Cadmium Akkumulation wurde im Zuge des umfassenden Qualitätsvergleichs von Versuchs- und Handelsproben (vgl. Kap. 3) deutlich. Da in früheren Anbauversuchen keine Cadmiumuntersuchung an der Droge durchgeführt wurde, konnte nun erst festgestellt werden, dass *Artemisia scoparia* zu den sogenannten Cadmium-Akkumulator-Pflanzen gehört. Bei diesen Arten, die physiologisch bedingt mehr Cadmium anreichern, ist der vorgegebene empfohlene Richtwert von max. 0,2 mg Cd/kg Droge nicht zuverlässig erreichbar. Daher wird für Akkumulator-Arten ein artspezifischer, höherer Grenzwert, in Höhe des 90 %-Percentils einer repräsentativen Datenbasis akzeptiert. Dieser liegt bei *Artemisia scoparia* bei 0,72 mg Cd/kg Droge (31). Aber auch um diesen zuverlässig zu unterschreiten, müssen alle pflanzenbaulichen Maßnahmen darauf abgestimmt werden – dazu gehört vor allem die Wahl einer möglichst gering akkumulierenden Sorte. Somit ist ein geringer Cd-Gehalt neben dem Ertrag das oberste Zuchtziel. Die früher bei *Artemisia* priorisierte Winterhärte ist zwar weiterhin eine wichtige Eigenschaft, kann aber im Zuge fälliger Selektionsentscheidungen nur zweitrangig berücksichtigt werden, d. h. mangelnde Winterhärte ist bei der Selektion kein k. o.-Kriterium. Dies

ist möglich, da die Praxis auch mit einjähriger Kultivierung grundsätzlich zurecht kommt. Eine ausreichende Winterhärte wird dann erreicht, wenn im 2. Standjahr ein geschlossener Bestand aufwachsen kann. In lückenhaften Beständen würde der erhöhte Aufwand für die mechanische Unkrautbekämpfung der Einsparung bei den Pflanzkosten (Jungpflanzen und Arbeit) entgegenwirken. Ein hoher Ätherischölgehalt ist wünschenswert, da eine aromatische Droge die Akzeptanz beim Anwender erhöht, und diese auch für andere Zwecke eingesetzt werden könnte. Für die Produktion von Arzneibuch konformer Droge von *Artemisia scoparia* ist der Ölgehalt aber nicht relevant. Ebenso ist eine stärkere Behaarung wünschenswert, um dem Aussehen der Handelsproben näher zu kommen (vgl. Abb. 2 und 3). Als Beweis für die richtige Identität (5, 9) wird die Behaarung aber nicht benötigt, da das im Zuchtprogramm verwendete Pflanzenmaterial eindeutig als *Artemisia scoparia* identifiziert ist (vgl. Kap. 2.6). Diese Information wird von den Abnehmern akzeptiert, so dass die geringe Behaarung der in Deutschland produzierten Droge in der Regel kein Ablehnungsgrund mehr ist (37).

Zuchtziele für *Leonurus japonicus*

Oberste Priorität haben ein hoher Ertrag mit hohem Blattanteil und ein gleichmäßig blühender Bestand im ersten Standjahr. Weitere wichtige Eigenschaften sind hohe Winterhärte für einen lückenarmen Bestand im 2. Standjahr sowie im Hinblick auf die Saatguterzeugung eine gute *in vitro*-Vermehrbarkeit mit geringer Blühneigung.

Im Laufe der Herkunftsprüfungen wurde deutlich, dass *Leonurus*-Pflanzen, die im ersten Jahr nicht oder erst später blühen als der restliche Bestand, eher dazu neigen, im zweiten Standjahr wieder auszutreiben und kräftige Pflanzen zu entwickeln. Verzögerte oder fehlende Blüte im ersten Standjahr ist aber nicht akzeptabel, da die Bestände zu Blühbeginn geerntet werden müssen (5, 9). Bei großer Heterogenität ist der Erntezeitpunkt schwierig zu bestimmen und ein steigender Anteil von Pflanzen im Rosettenstadium geht auf Kosten des Ertrags. Dennoch wurde versucht, Pflanzen zu selektieren, die sowohl im ersten Standjahr blühten als auch im zweiten Standjahr einen kräftigen Aufwuchs erreichten.

2.4 Blühbiologie: Grundlage für die Züchtung

Die Kenntnisse der Biologie, insbesondere der Blüh- und Befruchtungsbiologie einer Pflanzenart sind, neben der Verfügbarkeit geeigneten Pflanzenmaterials, die Grundvoraussetzungen für eine zielführende Pflanzenzüchtung. Die Tatsache ob eine Pflanze sich überwiegend durch Fremd- oder Selbstbefruchtung vermehrt, ist ausschlaggebend für die Wahl der Züchtungsstrategie und der Kreuzungsmethodik. Ist der Zeitpunkt der Blütenbildung bekannt, eventuell auch die Möglichkeit, diesen zu kontrollieren, so kann der Ablauf der notwendigen Arbeitsschritte besser geplant bzw. auch besser gesteuert werden. Da in dieser Hinsicht für die Arten *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus* keine und für deren Gattungen nur wenige Informationen vorlagen, mussten zumindest die grundlegenden Aspekte des zeitlichen Ablaufs der generativen Entwicklung und der Befruchtungsverhältnisse untersucht werden.

2.4.1 Material und Methoden

2.4.1.1 Verlauf der Pflanzen-, Blüten- und Samenentwicklung bei *Artemisia* und *Leonurus* (45)

Der Verlauf der generativen Phase von *Artemisia* und *Leonurus* wurden im Rahmen der Diplomarbeit von Frau Reus in Zusammenarbeit mit Prof. Röber (FH Weihenstephan, Fachbereich Gartenbau und Lebensmitteltechnologie) untersucht (45). Zu diesem Zweck

wurden in 2004 von *Artemisia* die Herkünfte Blaszczyk und Elixir Farm, von *Leonurus* die Herkünfte Horizon Herbs und BLBP 01 in einem Exaktversuch auf dem Baumannshof kultiviert. Die Pflanzabstände betrugen abweichend von anderen Pflanzenbauversuchen 1 m x 1 m, um die Pflanzen intensiv beobachten zu können.

Um einen Anhaltspunkt für die Befruchtungsverhältnisse zu erhalten, wurden die Bestäubungsmöglichkeiten variiert (vgl. Abb. 10):

- a) einzelne Blütentriebe isoliert in Crispac-Tüten mit Super-Micro-Lochung (0,5 mm; Saatzuchtbedarf Baumann, Waldenburg) → nur Eigenpollen, erzwungene Selbstung
- b) Parzelle isoliert in insektendichten Käfigen → Eigenpollen sowie Fremdpollen über Wind
- c) ohne Isolation → Eigenpollen sowie Fremdpollen über Wind und Insekten



Abb. 10: *Artemisia* – Beeinflussung der Bestäubungsverhältnisse (a-c vgl. Text) (45)

2.4.1.2 Blühinduktion bei *Artemisia* (58)

Die *Artemisia* Herkunft Elixir Farm konnte bislang auf Grund ihrer späten Blüte nicht vermehrt und nicht in das Zuchtprogramm an der LfL integriert werden. Da der photoperiodische Reaktionstyp von *Artemisia scoparia* bisher nicht bekannt war, wurde im Rahmen der Diplomarbeit von Frau Wahl in Zusammenarbeit mit Prof. Röber und Prof. Ebertseder (FH Weihenstephan, Fachbereich Land- und Ernährungswirtschaft), untersucht, in welchem Bereich ihre kritische Tageslänge anzusiedeln ist (58).

Dazu wurden von April bis September 2005 Versuche mit den zwei Herkünften Elixir Farm und Blaszczyk im Gewächshaus des Instituts für Gartenbau der FH Weihenstephan durchgeführt. Der 1. Versuch erstreckte sich über den Zeitraum vom 04.05.05 bis zum 21.07.05. Je dreißig 57 Tage alte Pflanzen pro Herkunft wurden einer Kurztagbehandlung mit 16 h Verdunkelung unterzogen bzw. im natürlichen Langtag gehalten. Zu Versuchsbeginn betrug die Tageslänge (gemessen von Sonnenauf- bis Sonnenuntergang) 14,5 h. Bis zum 21.06.05 stieg die Tageslänge auf 16,2 h an, um bis zum 21.07.05 auf 15,4 h abzusinken. Die Pflanzen, die im natürlichen Langtag gehalten wurden, zeigten bis zum 21.06.05 keinerlei Anzeichen für den Übergang von der vegetativen in die generative Phase. Um einen eventuellen Einfluss des Pflanzenalters auf die Blühinduktion festzustellen, wurden auch diese Pflanzen einer 8 h-Kurztagbehandlung unterzogen.

Im 2. Versuch vom 15.08.05 bis 30.09.05 wurden 100 Tage alte Pflanzen beider Herkünfte fünf verschiedenen Tageslängen (8-10-12-14-16 h, 30 Pflanzen je Variante) ausgesetzt. Diese Variationen wurden zum einen durch Verdunkelung, zum anderen durch Zusatzbelichtung erreicht. Besonderes Interesse galt der Blühinitiation. Dabei wurde der Einfluss der verschiedenen Herkünfte und Belichtungszeiten auf die Dauer bis zum Sichtbarwerden der ersten Knospenansätze untersucht. Aber auch der Blühbeginn und die Entwicklung der Pflanzenhöhe wurden in die Betrachtung einbezogen.

2.4.1.3 Bestimmung des Fremdbefruchtungsanteils bei *Artemisia*

Zur genaueren Ermittlung des Selbstbefruchtungsanteils bei offener Bestäubung wurde eine PCR (Polymerase Chain Reaction) -gestützte AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) -Untersuchung, mit 10 Primerkombinationen durchgeführt (vgl. Kap. 2.6.2.). Gegenstand der Untersuchung waren die beiden zeitgleich blühenden Klone 104021 und 104028 aus Herkunft Blaszczyk, die jeweils durch Isolation mit Crispac-Tüten im Gewächshaus geselbstet und in einem Polycross im Feld an der LLA in Triesdorf gekreuzt wurden. Diese Klone wiesen bei einer Voruntersuchung viele klonspezifische Banden auf, die in den Selbstungsnachkommen (S_1 , 12 bzw. 18 Individuen je Klon) auf Homozygotie untersucht wurden. In 30 bzw. 35 Kreuzungsnachkommen (F_1) je Klon wurde die Einkreuzung der dem jeweils anderen Klon zugehörigen Bande identifiziert und dadurch der Fremdbefruchtungsanteil bestimmt.

2.4.2 Ergebnisse

2.4.2.1 Verlauf der generativen Entwicklung (45)

Artemisia

Die Pflanzen wurden während ihrer vegetativen Entwicklung auf dem Baumannshof nicht beerntet, so dass sie ungestört Pflanzenhöhen bis zu 1,4 m erzielten.

Die Herkünfte zeigten ein deutlich unterschiedliches Blühverhalten. Während bei Elixir Farm ab Mitte Oktober die ersten Knospen und Mitte November der Blühbeginn festgestellt wurden, war dies bei Blaszczyk bereits am 22. August bzw. einen Monat später der Fall. Dies stimmt mit den Ergebnissen zur kritischen Tageslänge überein (vgl. Kap. 2.4.2.2) und konnte auch an beernteten Pflanzen in anderen Versuchen bestätigt werden. In letzteren kann Blaszczyk gewöhnlich nur bis Mitte August, Elixir Farm dagegen bis Oktober geerntet werden, da für die Drogenverwendung nur vegetatives Material in Frage kommt.

Die Samenreife begann bei Blaszczyk Ende Oktober und war zur Ernte Mitte Dezember weitgehend abgeschlossen. Bei Elixir Farm fand wegen des Winterbeginns keine Samenbildung statt.

Am Standort Puch wurde an einzelnen Pflanzen der Saatgutvermehrungsparzelle von 2004 Saatgut reif. Dies wurde erst im Frühjahr 2005 bemerkt, als die ausgefallenen Samen keimten. Mit diesen Nachkommen wurde zunächst weiter gearbeitet, um die Herkunft hin zur früheren Blüten- und Samenbildung zu entwickeln. Da eine späte Blüte aber auch eine lange Ernte ermöglicht sowie einen natürlichen Sortenschutz darstellt, wurde – zumal zwischenzeitlich eine Methode zur Blüteninduktion und Vermehrung gefunden worden war – diese Selektionsrichtung Ende 2005 wieder aufgegeben.

Leonurus

Auch bei *Leonurus* unterschieden sich die Herkünfte im Blühverlauf, wobei die Individuen der Herkünfte ebenfalls variierten. Der erste Knospenansatz wurde bei Horizon Herbs zwischen Mitte Juli und Anfang August (Schwerpunkt 17. Juli), bei BLBP 01 zwischen Anfang August und Anfang Oktober (Schwerpunkt Anfang September) bzw. gar nicht (kein Schossen) beobachtet. Dass die Bestände nicht gleichmäßig schossen, wurde schon in früheren Versuchen und Saatgutvermehrungsparzellen beobachtet. Bei Herkunft BLBP 01 war dies besonders ausgeprägt.

Vom Knospenansatz bis zur Blüte eines Triebes dauerte es bei Horizon Herbs durchschnittlich 11 Tage, bis zum Abfallen der vertrockneten Kronblätter weitere 13 Tage. Die Entwicklung bei BLBP 01 dauerte mit 14 bzw. 22 Tagen etwas länger. Die Blühdauer von in Tüten isolierten Trieben war um 7 Tage verlängert im Vergleich zu nicht isolierten Trieben. Diese verlängerte Vitalität der Blüten könnte ein Hinweis auf mangelnde Befruchtung sein (vgl. 2.4.2.3).

Die Samenreife begann bei Horizon Herbs Anfang September, so dass bis Ende Oktober die meisten Triebe geerntet werden konnten. Zu diesem Zeitpunkt konnte von BLBP 01 nur der erste Trieb geerntet werden. Der erste Frost und folgender Schimmelbefall beendeten die Ernte dieser Herkunft Ende November, so dass nur die ersten blühenden Triebe reife Samen entwickelten, und diese Herkunft nicht vollständig ausgewertet werden konnte. Im Vorjahr wurden beide *Leonurus*-Herkünfte in den Saatgutvermehrungsbeständen am selben Standort Baumannshof bereits weitgehend im Verlauf des Septembers geerntet.

Ob Horizon Herbs früher reif war, kann im Nachhinein nicht nachvollzogen werden. Im Versuch hatten die Einzelpflanzen mehr Standraum (1 statt 9,7 Pflanzen je m²) und entwickelten so deutlich größere Pflanzen als im üblichen Bestand. Dies könnte eine verzögerte generative Entwicklung mit verursacht haben.

Von BLBP 01 konnte in den vorangegangenen Jahren immer Saatgut vermehrt werden. Dabei wurde in 2002 Saatgut von den im ersten Jahr schneller schossenden und daher früher blühenden Pflanzen gewonnen. Dennoch konnte das Auftreten nicht oder verzögert schossender Pflanzen nicht reduziert werden. Soll diese Herkunft für die Züchtungsarbeit genutzt werden, müssen verlässlich früh blühende Linien entwickelt werden (vgl. Kap. 2.6.3.4).

2.4.2.2 Blühinduktion von *Artemisia* (58)

Im ersten Versuch konnte gezeigt werden, dass es sich bei den geprüften Herkünften von *Artemisia scoparia* wohl um obligate Kurztagpflanzen handelt, da nur die Pflanzen im Kurztag in die generative Phase wechselten. Die Herkunft und das Alter wirkten sich sehr stark auf die Blühinduktion aus, jedoch nicht auf den Blühverlauf, d. h. auf die Dauer zwischen Knospenansatz und Blühbeginn. Die Pflanzen von Elixir Farm benötigten bei einem Alter von 57 Tagen zu Kurztagbeginn 43 Tage bis zur Knospenbildung, bei einem Alter von 100 Tagen im Durchschnitt nur 12 Tage. Bei Blaszczyk dauerte dieser Zeitraum dagegen 32 bzw. 7 Tage. Ob das Alter der Pflanze oder/und die höheren Temperaturen, die ab Kurztagbeginn bei den 100 Tage alten Pflanzen vorherrschten (23-26 °C statt 15-20 °C) ausschlaggebend waren, ließ sich innerhalb dieses Versuchs nicht klären. Der spätere Versuch, im Rahmen der Klonkreuzung Stecklinge von ca. 30 cm Trieb länge ab Mitte November im Gewächshaus mit 12 h Kurztag zu induzieren, schlug dagegen vollständig fehl (vgl. Kap. 2.7.). Auch nach 3 Monaten waren noch keine Knospen zu sehen. Zusätzlich zu moderaten Temperaturen könnten hier auch die winterlich niedrigen Lichtintensitäten und -mengen den Ausschlag zur Verhinderung der Induktion gegeben haben. Eine Zusatzbeleuchtung unter- oder oberhalb des Verdunklungsschirms war aus Sicherheitsgründen nicht möglich.

Im 2. Versuch der Diplomarbeit sollte die kritische Tageslänge herausgefunden werden. Die kritische Tageslänge für Elixir Farm liegt zwischen 12 h und 14 h, während sie bei Blaszczyk zwischen 14 h und 16 h anzusiedeln ist (Abb. 11). Unterhalb der induktiven Tageslänge war kein Einfluss der Tageslänge auf die Dauer bis zum Knospenansatz ersichtlich. Jedoch war dieser Zeitraum bei Blaszczyk mit 7 Tagen signifikant kürzer als bei Elixir Farm mit 14 Tagen. Die Phase von Beginn der Knospenbildung bis Blühbeginn war bei beiden Herkünften mit durchschnittlich 18 Tagen gleich lang.

Für die Kreuzungszüchtung ist daher zu beachten, dass die Klonpflanzen aus Herkunft Elixir Farm eine Woche früher den Kurztagbedingungen von 12 h ausgesetzt werden müssen, um einen gleichzeitigen Blühbeginn zu erreichen.

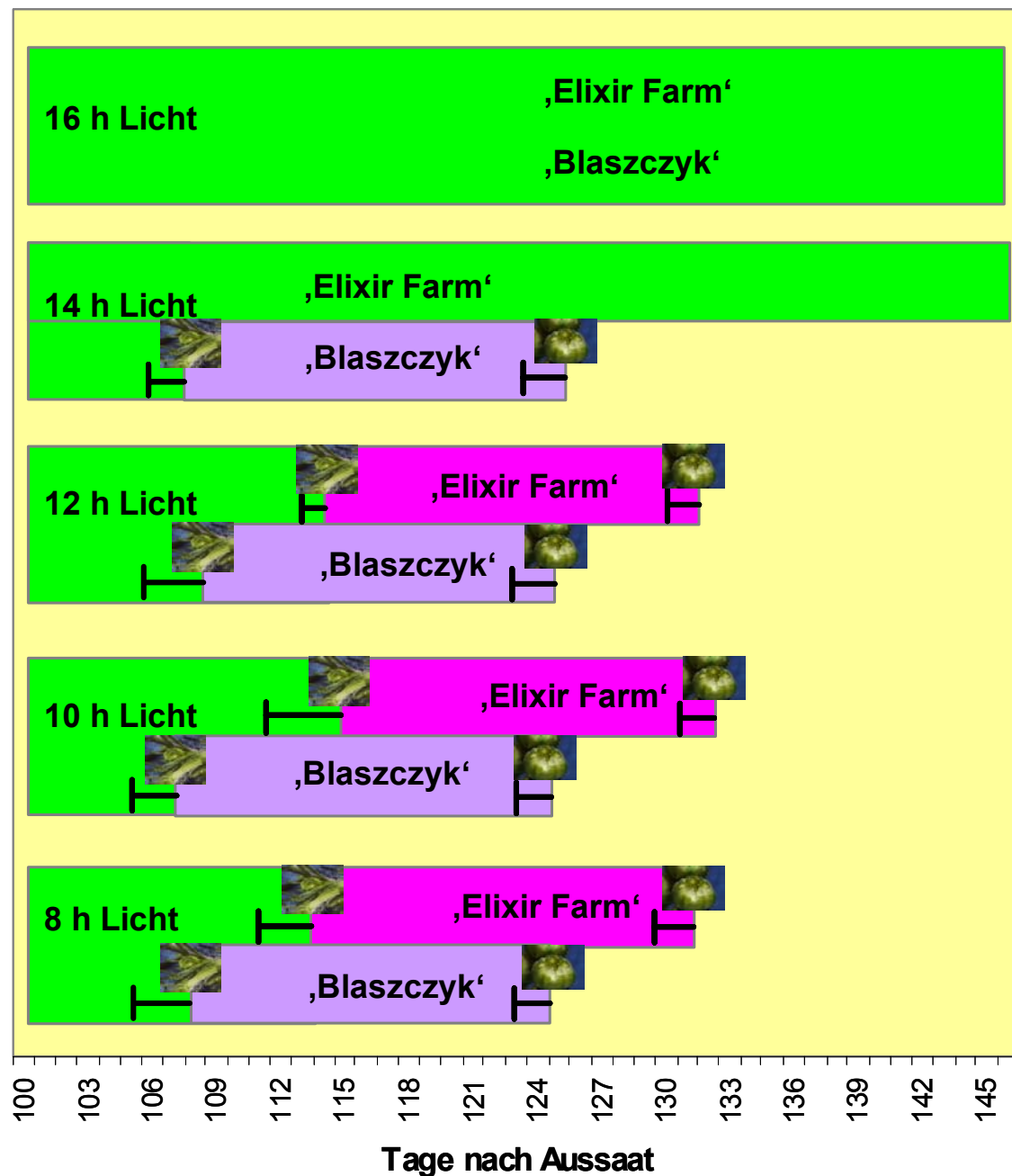


Abb. 11: Zeitpunkt des Sichtbarwerdens der ersten Knospen und des Blühbeginns der *Artemisia*-Herkünfte Elixir Farm und Blaszczyk bei unterschiedlicher Tageslänge

2.4.2.3 Bestäubungsverhältnisse und Fremdbefruchtungsanteile

Artemisia

Die Auswirkung unterschiedlicher Bestäubungsverhältnisse auf die Samenbildung konnte nur bei Herkunft Blaszczyk ausgewertet werden, da Elixir Farm zu spät geblüht und keine Samen mehr angesetzt hatte. Blaszczyk bildete bei allen Isolationsvarianten Samen aus. Da ein Teil der Samen bereits ausgefallen war, konnte die Samenmenge nicht bestimmt werden. Beim rein optischen Vergleich enthielten die Triebproben der ungehinderten Bestäubung das meiste Saatgut und etwas weniger bei Abschirmung von Insekten (Käfig, vgl. Tab. 1). Dennoch scheint es wahrscheinlich, dass keine Insekten notwendig sind, da während des Versuchs keine Insekten auf den Blüten beobachtet wurden. Bei den Trieben der eingetüteten Variante war zwar noch weniger Saatgut zu sehen, jedoch stellte sich später heraus, dass der Pollen von *Artemisia scoparia* die Super-Micro-Lochung der Tüten passieren kann, so dass Fremdbefruchtung nicht ausgeschlossen werden konnte. Bei einem späteren kleinen Isolierungstest im Gewächshaus, bei dem 6 Triebe im fortgeschrittenen Knospenstadium mit Pergamintüten isoliert wurden, fand keine Samenbildung statt.

Nicht repräsentative Saatgutstichproben aller Varianten des Freilandversuchs wiesen ein Tausendkorngewicht von 0,043 bis 0,061 g und eine Keimfähigkeit von 82 bis 87 % auf, was innerhalb der Schwankungsbreite der Saatgutherkunft liegt. Je Blütenköpfchen wurden bis zu 8 Samen an den Zungenblüten beobachtet, die Röhrenblüten scheinen weiblich steril zu sein.

Das unscheinbare Aussehen der Blütenköpfchen und die Produktion großer Mengen leicht stäubenden Pollens weisen auf Windbestäubung hin, wie sie für die Gattung *Artemisia* beschrieben wird (52) und damit auch auf Fremdbefruchtung.

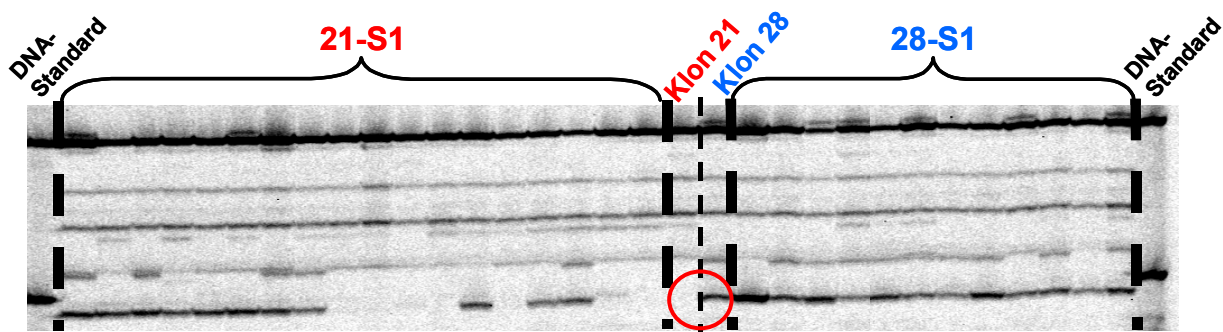


Abb. 12: Auftreten einer für Klon 104028 spezifischen Bande (roter Kreis) in den Selbstungsnachkommen von Klon 104021 (21-S1) bzw. 104028 (28-S1). AFLP-Fingerprint, Primerkombination L7648

Auf der Basis von zwei Primerkombinationen konnten bei den beiden *Artemisia*-Klonen insgesamt drei homozygot vorliegende polymorphe Banden, wie am folgenden Beispiel erläutert, identifiziert werden. Die für Klon 104028 spezifische Bande in Abbildung 12 tritt bei jedem der Selbstungsnachkommen (S₁) auf. Läge die Bande (dominantes Merkmal) heterozygot vor, wären theoretisch 25 % S₁-Individuen ohne Bande. Auf Grund des vollständigen Auftretens ist anzunehmen, dass diese Bande homozygot vorliegt. Allerdings zeichneten sich die homozygoten Banden nicht, wie erwartet, nur durch das vollständige Auftreten in der S₁ des bandentragenden Elters aus, sondern zusätzlich durch ein

fast vollständiges Auftreten der Bande in der S_1 des bandenfreien Elters. Dies zeigte die Pollendurchlässigkeit durch die 0,5 mm Lochung der verwendeten Crispac-Tüten und gab bereits einen Hinweis auf einen hohen Fremdbefruchtungsanteil.

Die Auswertung der F_1 ergab 97 % Einkreuzung der homozygoten Bande in den bandenfreien Elter (Tab. 1), d. h. 97 % Fremdbefruchtung. Das bedeutet, dass nur eines der 30 bzw. 35 Individuen der F_1 durch Selbstbefruchtung entstand. Außerdem bestätigt die nahezu vollständige Einkreuzung die Homozygotie der klonspezifischen Bande. Damit kann *Artemisia scoparia* als Fremdbefruchter bezeichnet, und der eingeschlagene Weg der Entwicklung einer synthetischen Sorte weiter verfolgt werden.

Der geringe Anteil der Selbstbefruchtung legt nahe, dass bei *Artemisia scoparia* Mechanismen zur Unterdrückung der Selbstbefruchtung vorliegen. Die Unterdrückung ist nicht vollständig, da in der Untersuchung der S_1 ca. zur Hälfte bandenfreie, d. h. aus Selbstung entstandene Individuen auftraten. Diese S_1 Individuen sind durch Isolation in Wind durchlässigen Crispac-Tüten entstanden. Dagegen wurden unter Wind undurchlässigen Pergamintüten keine Samen gebildet. Beide Selbstungen wurden im Gewächshaus durchgeführt, in dem im Sommer durch die offenen Lüftungen mehr oder weniger starke Luftbewegungen auftreten, so dass sich Pollen sowohl innerhalb der Tüte als auch (unbeabsichtigt) durch die Tütenlochung hindurch bewegen konnte. Dies war bei den Pergamintüten, die zusätzlich an Haltestäben fixiert waren, nicht möglich.

Der Mechanismus zur Unterdrückung der Selbstbefruchtung könnte der unterschiedliche Reifezeitpunkt von Narben und Antheren innerhalb eines Blütenköpfchens sein. Da bei Blühbeginn zuerst die Narben erscheinen, müsste es sich um Protogynie handeln. Da innerhalb eines Triebes bzw. einer Pflanze sich die Blütenköpfchen über einen längeren Zeitraum nacheinander entwickeln und zu blühen beginnen, kann, sofern der Windtransport funktioniert, fertiler Pollen auf fertile Narben treffen. Dennoch ist nicht geklärt, warum Fremdpollen bei unbeschränkter Bestäubung erfolgreicher in der Befruchtung sind.

Tab. 1: Einfluss der Bestäubungsverhältnisse auf die Samenbildung von *Artemisia scoparia* Herkunft Blaszczyk.

	Tüte	Käfig	Offen
Bestäubungsverhältnisse	Eigenpollen	Eigenpollen; Fremdpollen: Wind	Eigenpollen; Fremdpollen: Insekten, Wind
Samenansatz	gering	hoch	sehr hoch
Tausendkorngewicht	0,060 g	0,061 g	0,043 g
Keimfähigkeit	82 %	87 %	84 %

Tab. 2: Auftreten der klonspezifischen Banden in den Kreuzungsnachkommenschaften der 104021-Mütter (21-F₁) bzw. 104028-Mütter (28-F₁) und daraus errechnete Fremdbefruchtung.

Primer-kombination	homozygote Bande in Klon Nr.		Anzahl d. Individuen mit/ohne Bande in F ₁ der Klone				Fremd-befruchtung (%)
	21	28	21 mit	21 ohne	28 mit	28 ohne	
E 4456	x		35	0	29	1	96,7
E 4456		x	35	0	30	0	100
L 7648		x	34	1	30	0	97,1
Mittelwert							96,9

Leonurus

Der Einfluss der Bestäubungsverhältnisse auf den Samenansatz konnte nur bei Herkunft Horizon Herbs ausgewertet werden, da BLBP 01 nicht vollständig abreifte. In allen Bestäubungsvarianten wurden keimfähige Samen gebildet. Der Samenretrag lag bei freier Abblüte mit 0,23 g pro Scheinquirl signifikant (Bonferroni-Test, 5 % (45)) höher als bei Tütenisolation mit 0,19 g, die Käfig-Isolationsvariante lag dazwischen. Die Varianten unterschieden sich nicht im Tausendkorngewicht, das durchschnittlich 0,88 g betrug.

Aus dem etwas geringeren Samenertrag aus Tütenisolation lässt sich keine Aussage zu den Befruchtungsverhältnissen bei *Leonurus* ableiten. Für eine Selbstung spricht die verlängerte Blühphase, die unter Tütenisolation auftrat. Allerdings kann, wie bei *Artemisia* beobachtet, das Einwandern von Fremdpollen durch die Lochung der Tüte nicht ausgeschlossen werden. Ob dies bei *Leonurus* der Fall war, ist noch nicht geklärt.

Ab dem Beginn der Blüte war eine große Zahl Insekten, insbesondere Hummeln und Bienen, an den Blüten zu beobachten. Die Gattung *Leonurus* besitzt nach Hegi (33) die typischen Lippenblüten, die besonders gut an Insektenbestäubung angepasst sind. Durch die Anordnung der aufsteigenden Staubblätter wird der Pollen auf den Rücken der besuchenden Insekten entleert.

Daher wurde die Hypothese, dass es sich bei *Leonurus japonicus* um einen Fremdbefruchter handelt, nicht verworfen. Näheren Aufschluss über eine mögliche Selbstung und den Fremdbefruchtungsanteil bei ungehinderter Bestäubung werden die AFLP-Untersuchungen geben, die aktuell analog zu *Artemisia* durchgeführt werden.

Der eingeschlagene Weg, eine synthetische Sorte zu entwickeln und dabei Kreuzungen durch freie Abblüte vorzunehmen, wird daher weiter verfolgt.

2.5 Verklonung durch vegetative Vermehrung

Für das gewählte Züchtungsverfahren (s. Kap. 2.7) werden Klone aus selektierten Einzelpflanzen benötigt. Diese lassen sich prinzipiell klassisch-gärtnerisch über Stecklinge oder

über Gewebekultur *in vitro* erzeugen. Meist ist die *in vitro*-Verklonung effektiver und wird daher auch angestrebt. Da bislang aber keine Kulturprotokolle für *Artemisia scoparia* oder *Leonurus japonicus* vorlagen, wurde zur Sicherheit die Methodenentwicklung für beide Ansätze parallel verfolgt. Die Untersuchungen zur gärtnerischen Vermehrung fanden bei IPZ 3d im Gewächshaus und zur *in vitro*-Vermehrung und Klonerhaltung bei IPZ 1a im Gewebelabor und Gewächshaus statt. Die jeweils beste Methode sollte dann für die Verklonung der selektierten Elitepflanzen verwendet werden.

2.5.1 Material und Methoden

2.5.1.1 *In vitro*-Vermehrung (IPZ 1a)

Als Vermehrungsmethode wurde die Nodienkultur gewählt. Mit Kalluskultur könnten zwar höhere Vermehrungsraten erzielt werden, die dabei relativ häufig auftretenden spontanen Mutationen würden jedoch der Entwicklung genetisch einheitlicher Klone zuwiderlaufen.

Für die *in vitro*-Etablierung der Arten *Artemisia* (84 Elitepflanzen) und *Leonurus* (48 Elitepflanzen) standen Spenderpflanzen verschiedener Saatgutherkünfte aus Freiland- und Gewächshauskulturen zur Verfügung. Die Auswahl der Elitepflanzen wurde aufgrund von Pflanzenbonituren von IPZ 3d getroffen (vgl. Kap. 2.6.3).

Die zur Explantatgewinnung verwendeten Triebspitzen der Spenderpflanzen von *Leonurus* wurden für 10-15 Minuten mit 4%iger Natriumhypochloritlösung mit Zusatz von Tween 20 oberflächensterilisiert. Pflanzenteile von *Artemisia* wurden mit 2%iger Natriumhypochloritlösung oberflächensterilisiert. Für die *in vitro*-Etablierung beider Arten wurden Sprossspitzen, Achselknospen und Nodalsegmente als Explantate verwendet. Kultiviert wurde auf Murashige & Skoog -Medienvarianten (MS, Festmedien).

Auf der Basis des MS-Mediums (42) wurden für *Artemisia scoparia* fünf, und für *Leonurus japonicus* 19 Medienvarianten für die *in vitro*-Etablierung, die Vermehrung und die Bewurzelung der Regenerate getestet. Variiert wurden Konzentrationen von Makro- und Mikronährstoffen, Pflanzenhormonen (Auxine, Cytokinine), Vitaminen, Aminosäuren und Antibiotika (s. Tab. 22-25 im Anhang)

Nach erfolgreicher Etablierung und Regeneration neuer Sprosse wurden die Regenerate *in vitro* verklont und *in vitro* bewurzelt. Bewurzelte Regenerate wurden in Torfsubstrat (Fruhstorfer Erde T, Topferde) in Multitopfplatten (51 Zellen à 5 cm Durchmesser) pikiert. Die pikierten Pflanzen wurden in den ersten acht bis zehn Tagen mit Plastikhauben zur Erhöhung der relativen Luftfeuchte abgedeckt, um das Anwachsen der Pflanzen unter den geänderten Kulturbedingungen zu gewährleisten. Nach Durchwurzelung des Substrates wurden die Pflanzen in 8er Töpfe umgepflanzt, im Gewächshaus abgehärtet und anschließend zur Pflanzung im Freiland (*Leonurus*) bzw. Blütendinduktion im Gewächshaus (*Artemisia*) abgegeben.

2.5.1.2 Vermehrung über Stecklinge im Gewächshaus

Von *Artemisia* und *Leonurus* wurden Stecklinge von Triebspitzen von Haupt- und Seitentrieben, von *Leonurus* außerdem Stammrisslinge gewonnen. Die Stecklinge wurden sofort nach dem Schnitt in Wurzeltip® getaucht, einzeln in Fertiss®-Torftöpfe gesteckt, mit Leitungswasser besprüht und in gespannter Luft im warmen Kasten kultiviert.

Die bewurzelten Pflanzen wurden nach Abhärtung einzeln in 9er-Töpfe in Torfsubstrat (ED 73, mit Langzeitdünger aufgedüngt, Einheitserde- und Humuswerke Patzer, Sinnatal-Jossa) getopft und weiter kultiviert.

2.5.2 Ergebnisse und Diskussion

2.5.2.1 *In vitro*-Vermehrung (IPZ 1a)

Bedingt durch Pilz- und/oder Bakterienbefall konnten nicht von allen Elitepflanzen der vier Pflanzenarten *in vitro*-Kulturen erfolgreich etabliert werden.

Artemisia

Höhere Konzentrationen der Natriumhypochloritlösung und längere Einwirkzeiten zur Oberflächendesinfektion als in Material und Methoden angegeben, schädigten die Explantate stark und führten zu ihrem Absterben. Durch Zusatz von Cefotaxim und ProClin 200 zu den Etablierungsmedien konnten die Infektionsraten gemindert werden. Die besten Ergebnisse wurden mit zwei MS- Medienvarianten mit verminderter NH_4NO_3 - Konzentration (165 mg/l bzw. 660 mg/l, Medium 6 bzw. 7, vgl. Tab. 22 im Anhang) erzielt. Kultiviert wurde im 16 h-Langtag bei 22 °C. Die *in vitro*-Verklonung über Nodalsegmente und Seitensprosse erfolgte alle drei bis vier Wochen (Abb. 13). Die Vermehrungsrate lag bei 1:5. Die Bewurzelung der Regenerate *in vitro* erfolgte problemlos während der Vermehrung auf den beiden oben beschriebenen Kulturmedien. Die Überführung aus der *in vitro*-Kultur in Torfkultursubstrat in Multitopfplatten und die anschließende Gewächshauskultur bis zur Auspflanzung ins Freiland bereiteten keine Schwierigkeiten.



Abb. 13: *Artemisia scoparia* *in vitro*-Pflanzen fünf Wochen nach Vermehrung

Von 42 Elitepflanzen konnten Klone mit insgesamt 1770 Pflanzen aus *in vitro*-Kultur zur Klonprüfung und Klonkreuzung (Polycross) in 2005 zur weiteren züchterischen Bearbeitung abgegeben werden. Bis Sommer 2007 wurden alle im Polycross gekreuzten Klone (vgl. Kap. 2.7) *in vitro* in der Langzeitlagerung bei Langtagsbedingungen (16 h Licht und 12 °C) erhalten. Seither werden die Klone wegen des geringeren Aufwands bei guter Verlässlichkeit über Mutterpflanzen im Gewächshaus erhalten.

Leonurus

Von den 19 getesteten Nährmedien zur Etablierung und Vermehrung erwies sich ein modifiziertes MS-Medium mit reduzierter NH_4NO_3 -Konzentration (165 mg/l) und Zusatz von 0,2 ml/l ProClin 200 und 100 mg/l Ticarcillin, als geeignet (vgl. Tab. 23 im Anhang, Medium 7). Große Probleme bei der *in vitro*-Vermehrung bereitete das Vorhandensein von latenten Bakterieninfektionen. Neben dem Zusatz von ProClin 200 und Ticarcillin zu den Kulturmedien wurde versucht durch Infiltration der Explantate und Regenerate mit Cefotaxim und Ticarcillin die Bakterien zu eliminieren, was nur teilweise gelang. Der Einsatz von Gentamicin zeigte ebenfalls nur mäßigen Erfolg, zumal bei *Leonurus japonicus* das Pflanzengewebe geschädigt wurde. Lysozym wurde mit 18 mg/ml in einer Flüssigkultur (Schüttelkultur) angewendet. Die Explantate wurden 2 Wochen in diesem Medium kultiviert, anschließend wurden die Pflanzen auf Medium 7 umgesetzt. Die Wirkung von Lysozym war begrenzt, nach kurzer Zeit brachen die Bakterieninfektionen wieder durch, außerdem ist Lysozym ziemlich teuer. Zur Vermehrung gelangten Nodalsegmente und neugebildete Seitensprosse, die an der Basis abgenommen wurden (Abb. 14).

Zunächst wurde im Kurztag (9 h Licht) bei 22 °C kultiviert, was zu Blütenbildung in der *in vitro*-Kultur führte und sich nachteilig auf die Vermehrungsraten auswirkte. Erst nach Absenkung der Kulturtemperatur auf 12 °C, weiterhin im Kurztag, nahm die Neigung zur Blütenbildung ab, auch der Ausbruch latenter Bakterien wurde dadurch geringer. Allerdings wurde dadurch auch die Dauer eines Vermehrungszyklus auf 6-8 Wochen verlängert. Die Tageslänge war bei niedrigen Temperaturen ohne Einfluss auf die Blütenbildung. Die Vermehrungsraten lagen abhängig vom jeweiligen Klon und Vermehrungszyklus zwischen 1:3 und 1:10. Die *in vitro*-Bewurzelung der Regenerate erfolgte ohne Schwierigkeiten nach 6 Wochen auf modifizierten MS-Medien mit erhöhtem Auxingehalt (vgl. Tab. 24 und 25 im Anhang, vorwiegende Nutzung von Medien 16 und 17).



Abb. 14: *Leonurus japonicus* *in vitro*-Pflanzen zur Vermehrung

Von 26 Elitepflanzen konnten insgesamt 580 Pflanzen aus *in vitro*-Kultur zur Klonprüfung und Klonkreuzung (Polycross, Kap. 2.7.) zur weiteren züchterischen Bearbeitung abgegeben werden. Alle im Polycross geprüften Klone werden *in vitro* in der Langzeitlagerung bei Langtagbedingungen (9 h Licht und 12 °C) erhalten.

Sowohl für *Artemisia* als auch für *Leonurus* konnte ein Protokoll zur *in vitro*-Vermehrung und -Erhaltung entwickelt werden.

2.5.2.2 Vermehrung über Stecklinge im Gewächshaus

Die Stecklinge von *Artemisia* und *Leonurus* bewurzelten sehr gut. *Artemisia* konnte nach Abhärtung sehr gut weiter kultiviert und vermehrt werden. Die Blüte kann durch 16 h Langtag (natürlicher Langtag oder Störlicht) unterdrückt werden.

Auch die *Leonurus*-Stecklinge konnten gut kultiviert werden, kamen aber nach kurzer Zeit zur Blüte (Frühjahr, Sommer), bildeten Samen und starben ab. Die im Feld gewonnenen Triebspitzen waren von schossenden Pflanzen, d. h. deren generative Phase hatte bereits begonnen. Ein Rückschnitt oder die Entfernung der Blüten konnten die generative Entwicklung nicht beenden. *Leonurus*-Stecklinge, die im Herbst aus Wurzelrisslingen gewonnen wurden, bildeten im kommenden Frühjahr ebenfalls rasch Blüten aus, so dass auch diese Pflanzen nicht vermehrt werden konnten. *In vitro* vermehrte Pflanzen wurden nach der Überführung in Töpfe in einer Klimakammer bei 8 °C im 8 h Kurztag weiterkultiviert. Auf diese Weise ließ sich die Blütenentwicklung zwar verzögern, jedoch nicht unterdrücken. Weitere Untersuchungen zur Steuerung der Blütenbildung im Gewächshaus

wurden nicht durchgeführt, da dieses Problem inzwischen *in vitro* recht gut kontrolliert werden konnte.

2.5.2.3 Methode für die Klonvermehrung

Da *Artemisia* sehr gut über Stecklinge vermehrt und die Mutterpflanzen über einen langen Zeitraum erhalten werden können, wurde diese preiswertere und einfachere Methode zur Vermehrung und Erhaltung der Klone herangezogen.

Da die Blütenbildung von *Leonurus in vitro* unterdrückt und ein Verfahren zur Vermehrung entwickelt werden konnte, werden die Klone auf diese Weise vermehrt und erhalten.

2.6 Sichtung des Ausgangsmaterials und Selektion

2.6.1 Bezug neuer Akzessionen

Zur Erweiterung des Ausgangsmaterials wurden, zusätzlich zu den schon vorhandenen Saatgutherkünften, weltweit Akzessionen von Genbanken und botanischen Gärten, auch über das „International Plant Genetics Research Institute“ (IPGRI) angefragt. Kleine Mengen keimfähigen Saatguts einer *Artemisia*- und drei *Leonurus*-Akzessionen wurden von der deutschen Kulturpflanzen-Genbank (Kulturpflanzenbank Gatersleben der Stiftung „Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung“, Corrensstraße 3, D-06466 Gatersleben; Akzessionen mit IPK gekennzeichnet) bezogen (Tab. 3). Weitere zwei *Leonurus*-Akzessionen wurden von Jelitto Staudensamen, Schwarmstedt, erhalten, sowie eine *Leonurus*-Akzession aus anonymer Quelle. Von *Artemisia* konnten außerdem Samenstände von zwei in Deutschland beschriebenen Standorten gesammelt werden:

- Standort Braunschweig, gesammelt von Prof. Brandes, der das Vorkommen auf einer Bahnhofs-Brachfläche beschrieben hatte (25)
- Standort Erlau, eigene Sammlung mit Hilfe Dr. Zahlheimer am Felsabhang am Bahndamm einer stillgelegten Bahnlinie im Donautal, unterhalb Erlau/Passau (60)

Alle neuen Herkünfte wurden auf ihre botanische Identität und prinzipielle Eignung für die Züchtung untersucht.

Tab. 3: Übersicht über die erhaltenen *Artemisia*- und *Leonurus*-Akzessionen der deutschen Kulturpflanzen-Genbank in Gatersleben (IPK), der Fa. Jelitto, von Wildstandorten und aus anonymer Quelle.

Bezeichnung	Akzessions-Nr. der Genbank	Herkunftsland	Sammelort bzw. Donor (D)
<i>Artemisia scoparia/capillaris</i>			
IPK	ARTE 8 (ST 772)	China	Kenho
Brandes		Deutschland	Braunschweig, Trümmerschutt auf Bahnhofsgelände
Erlau		Deutschland	Bahndamm unterhalb Erlau, Passau
<i>Leonurus japonicus/sibiricus/heterophyllus</i>			
IPK 3	LEON 3	k.A. ¹⁾	Heilpfl. Garten Oberholz, Leipzig (D)
IPK 6	LEON 6 (D4993)	DVR Korea ²⁾	Pyongyang, Inst. f. pflanzliche genetische Ressourcen (D)
IPK 8	LEON 8 (D5288)	k.A.	Bot. Garten Kyoto, Japan (D)
Ü1		Russland/Mongolei	Altaigebirge, Jelitto (D)
Ü2		k.A.	Jelitto (D)
China 1		China	k.A.

¹⁾ keine Angabe

²⁾ Demokratische Volksrepublik Korea

2.6.2 Botanische Charakterisierung des Zuchtmaterials

Im Ch.P. (5, 9) sind sowohl *Artemisia scoparia* als auch *Artemisia capillaris* als Stammpflanzen angegeben. Die beiden Herkünfte Blaszczyk und Elixir Farm unterscheiden sich zwar in Blattfarbe, Fiederung und Blühzeitpunkt, jedoch nicht in ersten DNA-Fingerprint-Analysen (20). Eine eindeutige Zuordnung zu *A. scoparia* oder *A. capillaris* war bislang nicht möglich. Daher wurden alle Herkünfte des Züchtungsprogramms weiter untersucht.

Leonurus japonicus ist gut durch morphologische Merkmale zu bestimmen, so dass lediglich festgestellt werden musste, ob die neu bezogenen Herkünfte dieser Art entsprechen.

2.6.2.1 Material und Methoden

Morphologische Unterscheidungskriterien

Anhand der Florenwerke des asiatischen Raums wurden Merkmale identifiziert, in denen sich die beiden *Artemisia* Arten unterscheiden. Anschließend wurden die Herkünfte danach charakterisiert. Die Zuordnung der Herkünfte zu *Leonurus japonicus* erfolgte über morphologische Parameter der Blätter, Stängel, Blüten und des Habitus.

Zusammensetzung des ätherischen Öls (49)

Im Rahmen einer Diplomarbeit wurde das ätherische Öl der *Artemisia* Herkünfte Blaszczyk und Elixir Farm mittels Wasserdampfdestillation mit der von der LfL optimierten und patentierten Destillationsanlage aus frischem, zerkleinertem Pflanzenmaterial gewonnen (19). Anschließend wurden sie am Lehrstuhl für Gemüsebau der TU München mit GC/MS an einer Supelcowax 10-Kapillarsäule aufgetrennt und mit lehrstuhleigener Terpen-Datenbank und Wiley 138 K identifiziert.

DNA-Sequenzanalysen (LMU)

Bei allen verfügbaren Herkünften, Herbarbelegen und als authentische Ware bezeichneten Mustern von *Artemisia* wurden DNA-Sequenzanalysen der nukleären ITS-Region entsprechend (55, 59) von Heubl durchgeführt und mit den Sequenzen der NCBI-Datenbank (62) abgeglichen. Außerdem wurde für die Herkünfte ein Sequenzvergleich im Bereich des *trnT-L* Spacers der plastidären DNA durchgeführt. Bei *Leonurus* wurde keine Sequenzanalyse durchgeführt.

PCR-RFLP Fingerprint Analyse (LMU)

Die ermittelten Sequenzunterschiede zwischen *A. scoparia*, *A. capillaris* und *A. annua* in der ITS-Region können auch zu einer PCR-gestützten Restriktionsfragment-Analyse (PCR-RFLP) herangezogen werden. Das Prinzip dieser Technik beruht darauf, dass Restriktionsenzyme bestimmte Basenabfolgen erkennen und die DNA an dieser Stelle schneiden. Befindet sich in diesem Bereich eine Mutation bleibt eine Restriktion aus. Diese artspezifischen Restriktionsstellen kann man zur Generierung von DNA-Fragmenten nutzen und durch Auftrennung in einem Agarose-Gel zur Erstellung eines Fingerprints heranziehen. Mit Hilfe der Software „NEB-Cutter“ (Version 2.0) kann man die ITS-Sequenzen auf solche Schnittstellen hin screenen, und die zu erwartenden Fragmente berechnen. Für die *Artemisia* Herkünfte kamen die Restriktionsenzyme Dde I, Sal I, Hinf I und Alu I zum Einsatz. Mit Alu I wurden weitere Fingerprints bei den *Artemisia* Proben erstellt, deren ITS-Sequenz untersucht wurde.

AFLP-Fingerprints (LfL, IPZ 5c)

Zur molekularen Abschätzung der genetischen Diversität der verschiedenen Herkünfte von *Artemisia* wurden im Labor Seefelder 48 Pflanzen untersucht.

Für die molekularen Analysen wurde zunächst nach einer bewährten Methode (29) die genomische DNA aus jungen Blättern isoliert und anschließend die DNA-Konzentration bestimmt. Der molekulare Datensatz wurde über eine nicht-radioaktive AFLP-Analyse nach einem modifizierten Protokoll, das auf dem “AFLP-Protocol for Public Release“ Version 2.0 der Firma KeyGene und Vos und Kollegen (57) basiert, erstellt.

Die Nomenklatur der verwendeten präselektiven und selektiven Primer ist die im original KeyGene Protokoll verwendete. Für die präselektive PCR wurden die Primer *EcoRI*+1 primer E01, *EcoRI*+3 primer E03 und *MseI* +1 primer M01 verwendet. Für die selektive PCR fanden die selektiven *EcoRI*-Primer E44; E53; E63; E66; E67; E68; E69; E70; E76; E77 und die selektiven *MseI*-Primer M38; M41; M45; M47; M48; M49; M50; M51; M52; M56; M58; M60 Verwendung.

Die molekularen Fingerprints wurden unter Verwendung von 20 *EcoRI-MseI*-AFLP-Primerkombinationen erzeugt. Anschließend wurden 242 gut reproduzierbare polymorphe DNA-Banden ausgewertet. Zur anschließenden Datenanalyse wurde, wie bei den meisten Diversitätsstudien von Nutzpflanzen, auch in der hier vorgestellten Untersuchung ein Ver-

fahren der Distanzmatrixmethoden angewendet. Es handelt sich um das “average-linkage“-Verfahren, auch als UPGMA (“unweighted pair group method with arithmetic mean“) -Verfahren bezeichnet. Das AFLP-Bandenmuster wurde zunächst in eine binäre Datenmatrix übertragen (0 = fehlendes Fragment, 1 = Fragment vorhanden). Mit der Software „NTSYS-pc“ (46) wurden die genetischen Ähnlichkeiten der untersuchten Genotypen bestimmt. Die genetische Ähnlichkeit wurde nach der Formel von Dice (28) geschätzt.

2.6.2.2 Ergebnisse

Artemisia scoparia

Die Behaarung ist als Unterscheidungsmerkmal für die Taxonomie der beiden *Artemisia* Arten wenig geeignet und oft vom Standort bzw. Alter der Blätter abhängig. Jedoch scheint eine Seidenbehaarung für *A. capillaris* typisch zu sein (Tab. 4). Auch die Größe der Blütenköpfchen ist nicht eindeutig nachvollziehbar.

Tab. 4: Diagnostische Blatt-Merkmale, in denen sich *A. capillaris* und *A. scoparia* unterscheiden.

	<i>A. capillaris</i>	<i>A. scoparia</i>
Flora von Pakistan (61)	seidenhaarig, dicht behaart	dicht abstehend behaart bis fast kahl
Flora von Taiwan (35)	dicht behaart auf beiden Blattseiten, kahler werdend bei späteren Blättern	
Flora von Japan (43)	normalerweise dicht, seidig behaart	kein Hinweis auf Haare, Unterscheidung nur über Blütenköpfchengröße, wobei diese in Schlüssel und Text widersprüchlich beschrieben werden.
Brandes (25)		spärlich bis dicht behaart, je nach Individuum
Flora der UDSSR (47)	basale Blätter seidig behaart	junge Blätter behaart, ältere Blätter unbehaart

Alle Herkünfte sind nur wenig behaart. Die Behaarung ist bei Erlau am stärksten, bei Elixir Farm, Brandes und Blaszczyk geringer und bei IPK 8 ist sie fast völlig fehlend. Alle Herkünfte sind im Jungpflanzenstadium etwas stärker behaart. Pflanzen von Blaszczyk entwickeln im Herbst nach der Blüte neue, stärker behaarte Triebe, die ertraglich aber nicht relevant sind. Der Neuaustrieb einiger Individuen der Herkünfte Brandes und Erlau war deutlich stärker behaart als der Rest der Population. Auch von Brandes (25) wurde die individuelle Ausprägung für die beschriebene Herkunft beobachtet.

Die Herkünfte Elixir Farm und Blaszczyk unterschieden sich in der Zusammensetzung ihres ätherischen Öls. Da für *A. scoparia* unterschiedlichste Ölzusammensetzungen beschrieben sind (2, 39, 50), könnten beide Herkünfte dieser Art zugeordnet werden. Allerdings wurden einige Ölkomponenten von Elixir Farm (Bornylacetat, β -Elemen und α -Curcumen) ausschließlich als Inhaltsstoffe von *A. capillaris* erwähnt (32, 41, 53). Die Ölkomponenten ließen also keine eindeutige Zuordnung zu. Die drei weiteren Herkünfte konnten noch nicht untersucht werden.

Die Herkünfte Blaszczyk, Elixir Farm und IPK 8 waren in den AFLP-Fingerprints schon visuell voneinander zu unterscheiden. Der daraus nach Dice (28) berechnete genetische Ähnlichkeitskoeffizient war mit 0,22 niedrig.

Die auf Grund des Sequenzvergleichs von *Artemisia scoparia* und *Artemisia capillaris* (Sequenzen der NCBI-Datenbank, (62)) eingesetzten Restriktionsenzyme Dde I, Sal I, Hinf I und Alu I ergaben bei allen fünf im Züchtungsprogramm eingesetzten Herkünften ein einheitliches Fragmentmuster und entsprechen somit *A. scoparia* (NCBI) (vgl. Abb. 15). Ebenso stimmten deren Sequenzen der nukleären ITS-Region sowie des *trnT-L* Spacers der Chloroplasten-DNA überein. Die RFLP Untersuchungen mit Alu I an weiterem Probenmaterial ergab die Übereinstimmung mit *A. scoparia* für alle Handelsproben aus dem Qualitätsvergleich (vgl. Kap. 3), für Herbarbelege von *A. capillaris* der Botanischen Staatssammlung München und der Hongkong Baptist University, sowie für vier von sechs Mustern von koreanischer *Artemisia capillaris* TCM-Handelsware, von denen DNA (Dr. Seung-Eun Oh, Konkuk University Seoul, Korea) bezogen werden konnte. Zwei der koreanischen *A. capillaris* Muster zeigten ein abweichendes Restriktionsmuster und wiesen beim Sequenzvergleich der nukleären ITS-Region große Ähnlichkeit mit *Artemisia annua* auf, die von Alu I ebenfalls nicht geschnitten wird. Der Sequenzvergleich der übrigen Handelsproben aus Korea zeigte eine extrem gute Übereinstimmung mit bereits früher analysierten Proben sowie mit einer Referenzsequenz aus NCBI-GenBank (62). Die NCBI-Sequenzen der ITS-Region von *A. capillaris* (eine Sequenz) und *A. annua* (drei Sequenzen) zeigen ebenfalls bemerkenswerte Übereinstimmungen, was nahe legt, dass *A. capillaris* fälschlich für *A. annua* gehalten wurde. Dies kann nicht weiter verfolgt werden, da die Arbeit für *A. capillaris* (NCBI) nicht veröffentlicht wurde. Daraus folgert, dass eigene Muster von *A. capillaris* und *A. scoparia* in den untersuchten DNA Sequenzbereichen nicht unterschieden werden konnten. Die Frage, ob die beiden sehr ähnlichen Arten nun als eine Art aufzufassen sind, ist ein Problem, das nur Taxonomen klären können.

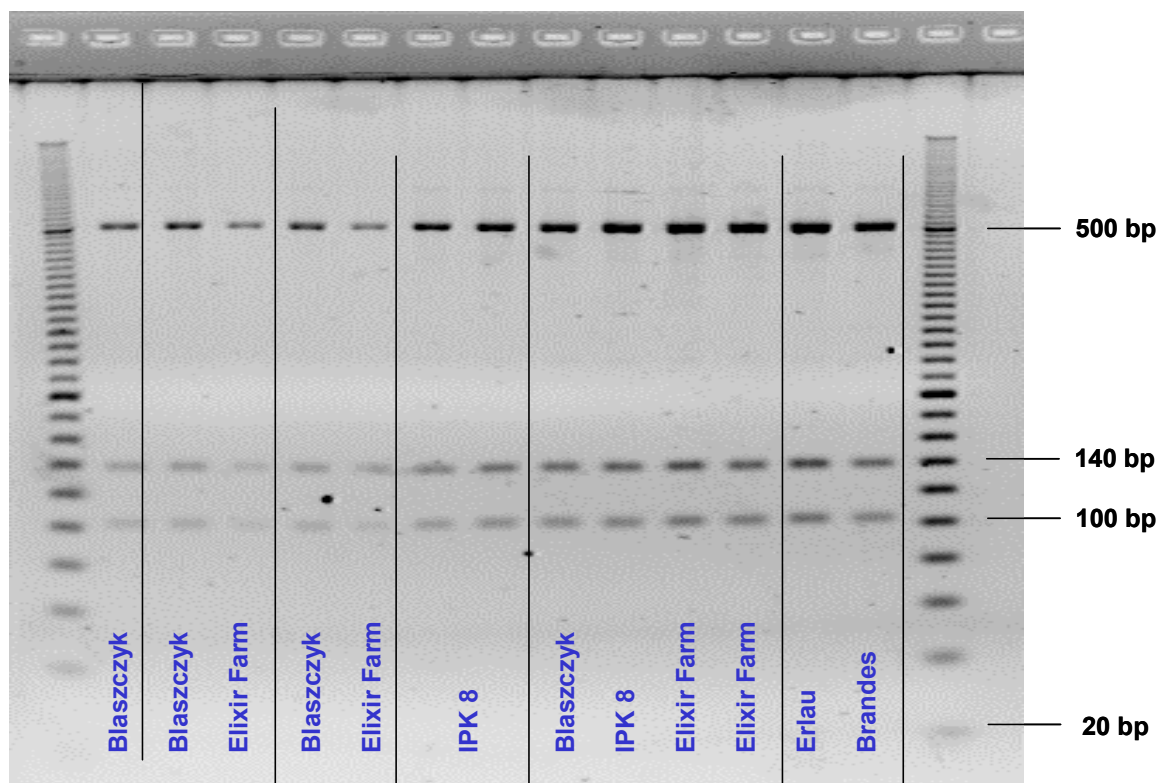


Abb. 15: RFLP-Fingerprint der *Artemisia* Herkünfte nach Restriktion mit Alu I, dem für *A. scoparia* spezifischen Restriktionsenzym, das 3 Fragmente von ca. 100, 140 und 500 Basenpaaren (bp) erzeugt.

Leonurus japonicus

Die schon länger im Anbauprojekt verwendeten Herkünfte wurden trotz unterschiedlicher Blütenfarbe von weiß bis lila, hellgrüner und graublauer Blätter, unterschiedlichem Zerteilungsgrad der Blätter, divergierender Pflanzenhöhe und unterschiedlichem Blühzeitpunkt als *Leonurus japonicus* bestimmt. Von den neuen Herkünften sind alle IPK-Herkünfte sowie Ü2 *L. japonicus* zuzuordnen. Dagegen wurde Herkunft China 1 als *Leonurus quinquelobatus* und Ü1 als *Leonurus panzerioides* identifiziert (47).

2.6.3 Leistungsprüfung der Herkünfte im Feld

2.6.3.1 Material und Methoden

2005 bis 2007 wurden alle neuen Herkünfte von *Artemisia* und *Leonurus* im Vergleich zu den bisher an der LfL vorhandenen Herkünften in Feldversuchen auf den Versuchsstationen Baumannshof (BA) und Puch (PU) auf ihre züchtungsrelevanten Eigenschaften überprüft. Weiterhin wurden Daten zur Morphologie und zum Blühverhalten dokumentiert. Die Saatgutmenge der neuen *Artemisia*-Herkünfte war ausreichend, um sofort mit den Feldversuchen zu beginnen. Bei einigen *Leonurus*-Herkünften musste zunächst eine Saatgutvermehrung vorgenommen werden.

Die grundsätzliche Anbau- und Erntemethode ist in Kapitel 2.2 beschrieben. Abweichend davon wurde *Artemisia* in den ersten beiden Jahren nicht in Tuffs, sondern als Einzel-

pflanzen angebaut, um diese bei der Selektion und Materialentnahme für die Klonvermehrung genau identifizieren zu können.

Da es sich bei (fast) allen Herkunfts-Leistungsprüfungen um Screeningversuche mit nur 1 Wiederholung handelte, können keine statistisch gesicherten Aussagen gemacht, aber doch Trends abgelesen werden, insbesondere bei Herkünften mit wiederholtem Anbau.

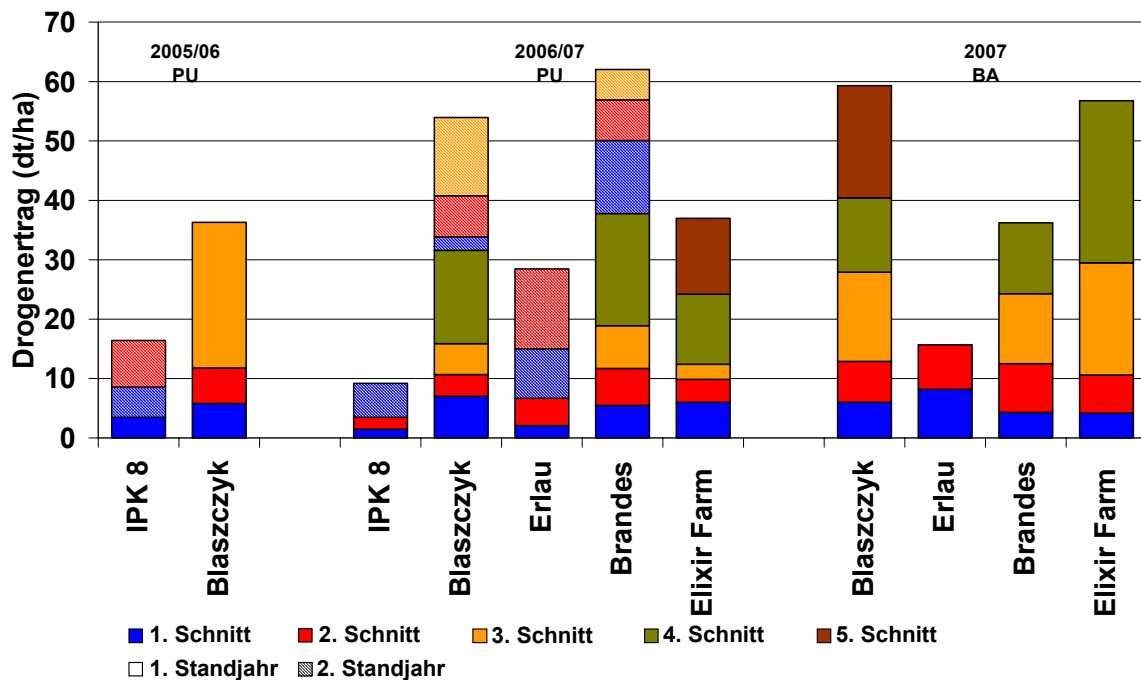


Abb. 16: Kraut-Drogenertrag (dt/ha) von *Artemisia*-Herkünften als Summe der Ernten (Schnitte) beider Standjahre in Puch (PU), Anbaujahre 2005 und 2006, bzw. des ersten Standjahrs am Baumannshof (BA) – Screeningversuche

2.6.3.2 Leistung der *Artemisia*-Herkünfte und Selektionen

Pflanzenentwicklung und Ertragsverhalten

Die Herkünfte zeigten große Unterschiede in ihrem Ertragspotenzial (Abb. 16). Der höhere Ertrag (1. Standjahr) am Standort BA rührt vom dort durchgeführten Anbau von Tuffs (statt Einzelpflanzen in PU) und eventuell von den etwas höheren Temperaturen her. Die höchsten Erträge im ersten Standjahr wurden mit Blaszczyk, Brandes und Elixir Farm in meist 3-4 Schnitten erzielt. Ernten im zweiten Standjahr waren bei IPK 8 möglich und bei Blaszczyk, Erlau und Brandes nach dem ausgesprochen milden Winter 2006/07. Bei IPK 8 und Erlau übertrafen die Erträge im zweiten Standjahr sogar die des ersten Standjahrs. Von Elixir Farm trieben im zweiten Standjahr zwar ein Viertel der Pflanzen aus, jedoch entwickelten sich diese nur sehr schwach (Tab. 5). Auf Grund des dadurch entstehenden enormen Unkrautdrucks wurde diese Herkunft im zweiten Standjahr nicht ausgewertet. Die Herkunft Blaszczyk, die auch bisher schon etwas mehr Wiederaustrieb im Frühjahr zeigte, entwickelte nur nach dem milden Winter 2006/07 einen nennenswerten Bestand, nicht aber im Versuchsjahr 2005/06. Die höchste Wiederaustriebsrate wurde bei

Brandes festgestellt, deren Pflanzen sich rasch entwickelten und so einen Drogenertrag von über 10 dt/ha im ersten Schnitt erzielten. Trotz Austriebsrate über 50 % und rascher Entwicklung konnten die Lücken der abgestorbenen Pflanzen nicht geschlossen werden. Für eine sinnvolle Weiterführung des Bestands (Unkrautunterdrückung) sind also höhere Bedeckungsgrade notwendig. Ob dies von der Herkunft Brandes bei Tuffpflanzung und unter härteren Winterbedingungen erreicht werden kann, werden die laufenden Versuche zeigen.

Tab. 5: Winterhärte der *Artemisia*-Herkünfte: Anteil der Pflanzen, die im Frühjahr des 2. Standjahrs austrieben (% Austrieb) und deren Triebstärke (Bonitur, 1=sehr geringe, 9=sehr hohe Triebstärke) am Standort Puch – Screeningversuche

Herkünfte	2005/06		2006/07	
	Austrieb (%)	Triebstärke	Austrieb (%)	Triebstärke
IPK 8	61	9	10	7
Blaszczyk	23	1	15	5
Erlau			30	8
Brandes			55	7
Elixir Farm			26	3

Die Herkünfte IPK 8 und Erlau konnten im ersten Standjahr nur ein oder zwei mal beerntet werden. Da viele Pflanzen lange im Rosettenstadium verblieben, konnte nur wenig Krautmasse gewonnen werden. Erst im zweiten Standjahr bildete der gesamte Bestand kräftige Triebe, die als Ertrag in ein oder zwei Ernten genutzt werden konnten. Die Austriebsrate war bei IPK 8 im Frühjahr 2007 deutlich niedriger als im Frühjahr 2006. Dies ist bislang nicht zu erklären. Die Erntephase wurde in beiden Standjahren durch den frühen Beginn der generativen Phase beendet: Knospenbildung ab Mitte/Ende Juli im ersten und Anfang/Mitte Juli im zweiten Standjahr. Dabei begann die generative Phase bei IPK 8 etwas früher als bei Erlau. Die anderen Herkünfte gingen erst später in die generative Phase über, so dass bei diesen mehr Ernten möglich waren, da nur das vegetative Kraut zur Drogengewinnung genutzt werden kann. Brandes setzte ab Anfang/Mitte August die ersten Knospen an, Blaszczyk etwas später gegen Ende August. Herkunft Elixir induziert in unseren Breiten so spät die Blütenbildung (vgl. Kap. 2.4.2.2), dass nur bei spätem Winterbeginn an einzelnen Pflanzen beginnende Knospenbildung beobachtet werden kann. Da Elixir Farm langsamer wächst als Blaszczyk, kann im selben Zeitraum weniger häufig geerntet werden. Bei einjähriger Nutzung kann Elixir Farm bis zum ersten Frost beerntet werden, bei zweijähriger Nutzung sollte – nach bisheriger Beobachtung – die letzte Ernte Anfang September stattfinden, so dass die Pflanzen mit dem anschließenden letzten Aufwuchs regeneriert in den Winter gehen können.

Bezüglich der agronomischen Daten sind lediglich die Herkünfte Blaszczyk, Elixir Farm und Brandes von züchterischem Interesse. IPK 8 unterscheidet sich außerdem im Aussehen deutlich von den anderen Herkünften durch sehr dunkel grüne, fast unbehaarte und nur grob gefiederte Blätter. Erlau ähnelt in Blattfarbe und Form der Herkunft Blaszczyk,

ist jedoch deutlich stärker behaart. Letztere Eigenschaft war zunächst für die Einkreuzung interessant, da die geringe Behaarung von befragten Ärzten und Apothekern zunächst beanstandet, jedoch später nicht als Ausschlusskriterium beurteilt wurde (vgl. Kap. 2.3).

In der Droge von *Artemisia* finden nur die Blätter Verwendung. Die Stängel werden nach der Trocknung abgetrennt und entfernt. Das Blatt-Stängel-Verhältnis in der Droge wurde bislang nur in einem Versuch für Blaszczyk und Elixir Farm ermittelt. Der deutlich höhere Blattanteil in der Krautdroge von Elixir Farm (Tab. 14, Kap. 2.8.2) konnte auch bereits im Feld abgeschätzt werden. Herkunft Brandes ähnelt in dieser Hinsicht und auch in der Blattfarbe der Herkunft Elixir Farm, wogegen der Blattanteil der Triebe von Erlau und IPK 8 eher dem von Blaszczyk entspricht.

Cd-Akkumulation

Der Cd-Gehalt in der Krautdroge der Ernten des ersten Standjahrs ist in Tabelle 6 dargestellt. Aus dem Anbaujahr 2007 liegen bislang nur die Ergebnisse des ersten Schnitts vor. Den größten Einfluss auf den Cd-Gehalt der Droge übt der Standort und dort speziell der Boden aus. Die Cd-Verfügbarkeit ist auf dem schwereren Pucher Boden mit pH-Wert im neutralen Bereich deutlich geringer als auf dem leicht sauren sandigen Boden am Standort Baumannshof. Die Droge von BA wäre auf Grund des hohen Cd-Gehalts nicht verkehrsfähig. Den mit mehr oder weniger Abstand niedrigsten Cd-Gehalt weist die Krautdroge von Elixir Farm auf. Blaszczyk, Erlau und IPK 8 liegen auf höherem Niveau, Brandes scheint noch mehr Cd zu akkumulieren. Letzteres muss in den späteren Ernten von 2007 und in folgenden Versuchen noch überprüft werden. Unter Berücksichtigung des 90 %-Percentils für Cd bei *Artemisia* Krautdroge in Höhe von 0,72 mg/kg (31) wären aus den Versuchen in PU nur die Ernten von Elixir Farm und IPK 8 durchgehend verkehrsfähig. Von Blaszczyk und Erlau wären nur einzelne Ernten, von Brandes keine der Ernten für den Verkauf geeignet. Tendenziell lagen die Cd-Gehalte der Ernten im Juni/Juli bei allen Herkunftsorten etwas höher.

Tab. 6: Cadmium-Gehalt (mg/kg) der Krautdroge von *Artemisia*-Herkünften aus verschiedenen Ernten (Schnitte) des ersten Standjahrs 2005 – 2007 an den Standorten Puch (PU) und Baumannshof (BA) – Screeningversuche

Herkunft	Anbaujahr	Ort	1. Schnitt	2. Schnitt	3. Schnitt	4. Schnitt	5. Schnitt
IPK 8	2005	PU	0,39				
	2006	PU	0,67	0,68			
Blaszczyk	2005	PU	0,34	0,47	0,38		
	2006	PU	0,58	0,84	0,86	0,55	
	2007	BA	2,78				
Erlau	2006	PU	0,60	0,71			
	2007	BA	2,18				
Brandes	2006	PU	0,99	1,05	1,06	0,87	
	2007	BA	2,48				
Elixir Farm	2006	PU	0,38	0,53	0,71	0,39	0,44
	2007	BA	1,51				

Da im Gefäßversuch zur Cd-Akkumulation (vgl. Kap 2.7) keine Wechselwirkung zwischen Boden und Genotyp (Klon) auftrat, kann der Cd-Gehalt der Herkünfte in BA zur Beurteilung der Herkünfte auch auf Böden mit geringerer Verfügbarkeit herangezogen werden.

Gehalt an ätherischem Öl

Die Ätherischölgehalte in der Krautdroge aller Herkünfte und untersuchten Schnitte lagen insgesamt zwischen 0,06 und 0,24 % (V/m, Tab. 7). Auf Grund der Schwankungen zwischen den Ernten sind keine großen Unterschiede zwischen den Herkünften zu beobachten. Lediglich in Herkunft Elixir Farm wurden durchgehend etwas höhere Gehalte an ätherischem Öl gefunden. Dieser Unterschied zwischen Elixir Farm und Blaszczyk wurde bereits beschrieben (20), wobei in der Krautdroge von Blaszczyk auch geringere Gehalte bis zu 0,01 % gemessen wurden.

Tab. 7: Ätherischölgehalt (% V/m) der Krautdroge von *Artemisia*-Herkünften aus verschiedenen Ernten (Schnitte) des ersten Standjahrs in Puch (PU) 2006 und Baumannshof (BA) 2007 – Screeningversuche

	Anbaujahr	Ort	1. Schnitt	2. Schnitt	3. Schnitt	4. Schnitt	5. Schnitt
IPK 8	2006	PU	0,08	0,06			
Blaszczyk	2006	PU	0,12	0,07	0,14	0,08	
	2007	BA	0,08				
Erlau	2006	PU	0,09	0,13			
	2007	BA	0,19				
Brandes	2006	PU	0,14	0,12	0,08	0,14	
	2007	BA	0,08				
Elixir Farm	2006	PU	0,24	0,14	0,17	0,13	0,17
	2007	BA	0,17				

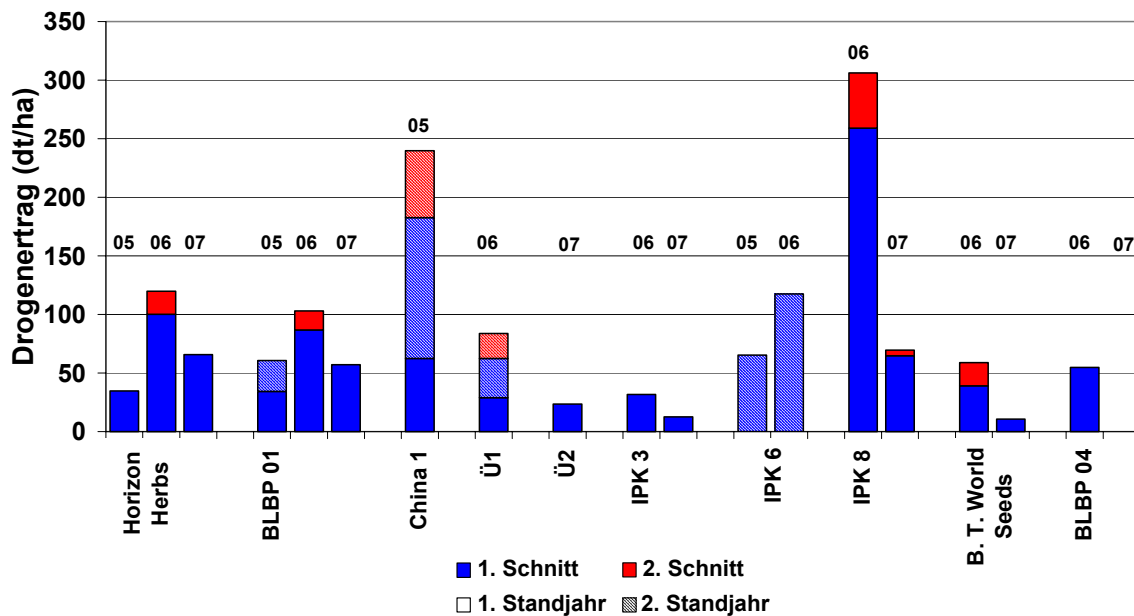


Abb. 17: Kraut-Drogenertrag (dt/ha) von *Leonurus*-Herkünften als Summe der Ernten (Schnitte) beider Standjahre, Anbaujahre 2005 und 2006, bzw. des ersten Standjahrs, Anbaujahr 2007 am Baumannshof – Screeningversuche

2.6.3.3 Leistung der *Leonurus*-Herkünfte und Selektionen

Pflanzenentwicklung und Ertragsverhalten

Die Kraut-Drogenerträge der *Leonurus*-Herkünfte aus den Anbaujahren 2005 bis 2007 sind in Abbildung 17 dargestellt. Zwischen den Herkünften traten große Unterschiede im Gesamt-Drogenertrag über alle Ernten auf, der von 12,6 bis 306 dt/ha variierte, sowie in den Ernteterminen bzw. -häufigkeiten. Alle Herkünfte außer BLBP 04 im Anbaujahr 2007 und IPK 6 konnten im ersten Standjahr beerntet werden, wobei die beiden genannten Ausnahmen dann im zweiten Standjahr schossten und blühten und somit zu beernten waren. Die Herkünfte China 1 und Ü1, sowie teilweise auch BLBP 01 bildeten im zweiten Standjahr erneut einen beerntbaren Bestand aus.

Den mit Abstand höchsten Gesamtertrag erzielten Herkunft China 1 und IPK 8. Da Herkunft China 1 als *Leonurus quinquelobatus* identifiziert wurde, steht diese nicht für das Züchtungsprogramm zur Verfügung. Der extrem hohe Drogenertrag von IPK 8 im Anbaujahr 2006 ist mit Sicherheit überhöht, da in diesem Anbaujahr nur wenige Pflanzen geprüft werden konnten (Saatgut war knapp), und die Randeffekte entsprechen stark waren. Im Anbaujahr 2007 war IPK 8 eine der ertragreichsten Herkünfte. In beiden Anbaujahren konnte von dieser Herkunft eine zweite, wenn auch kleine Krautmenge geerntet werden. Weitere, im ersten Standjahr ertragreiche Herkünfte waren Horizon Herbs, BLBP 01 und teilweise BLBP 04. Auch IPK 6 erzielte Erträge bis über 100 dt/ha, dies jedoch erst im zweiten Standjahr. Die Drogenerträge der Herkünfte Ü2, IPK 3 und B. T. World Seeds (Ernte nur im ersten Standjahr) lagen niedriger, meist deutlich unter 50 dt/ha.

Drei, zum Teil voneinander abhängige Pflanzeigenschaften konnten mit den Ertragspotenzialen und -schwankungen in Verbindung gebracht werden: Anteil Rosetten im ersten Standjahr, Blühbeginn und Pflanzenhöhe zur Ernte.

In den Beständen von Horizon Herbs und BLBP 01 verblieben je nach Anbaujahr ein größerer (2007) oder kleinerer (2006) Anteil der Pflanzen im Rosettenstadium (Tab. 8), die somit im ersten Standjahr keinen oder bei verzögertem Schossen nur wenig Ertrag brachten. Der höhere Anteil sich verzögernd entwickelter Pflanzen, die bei der Ernte noch vegetativ oder im frühen Knospenstadium waren, schlug sich auch in einem deutlich höheren Blatt-Stängel-Verhältnis nieder (Tab. 9). Die Herkunft BLBP 01 entstand im Zuge der eigenen Saatgutvermehrung durch separate Beerntung der Samen von kräftig schossenden Pflanzen. Das Merkmal „Rosetten im ersten Standjahr“ konnte auf diese Weise jedoch nicht eliminiert werden und liegt daher wahrscheinlich dominant heterozygot in dieser Population vor.

Die früh schon im Juni oder Anfang Juli blühenden Herkünfte Ü1, Ü2, IPK 3 und B. T. World Seeds (Tab. 8) erreichten bis zur Blüte und damit zur Ernte nicht einmal die Höhe von 1 m (Tab. 9). Die Bestände der anderen Herkünfte waren bis zu deren Blühbeginn zwischen Mitte Juli und Mitte September in der Regel deutlich über 1 m hoch. Die später blühenden Herkünfte haben also mehr Zeit zur Biomasseentwicklung und damit ein höheres Ertragspotenzial, wiesen aber tendenziell ein niedrigeres Blatt-Stängel-Verhältnis auf. Herkunft BLBP 04 blüht am spätesten und kann unter ungünstigen, noch ungeklärten Bedingungen auch komplett im Rosettenstadium verbleiben (Tab. 8, Anbaujahr 2007).

Tab. 8: Blüheigenschaften und Winterhärte der *Leonurus*-Herkünfte in den Anbaujahren 2005-2007 am Baumannshof: Blühbeginn (Datum), Anteil von Pflanzen, die im ersten Standjahr im Rosettenstadium verharren (%), Anteil austreibender Pflanzen im zweiten Standjahr (%) und deren Triebstärke (Bonitur, 1=sehr gering, 9=sehr stark) – Screeningversuche

Herkunft	Anbaujahr	Blühbeginn		Rosetten (%)	Austrieb (%)	Triebstärke
		1. Standj.	2. Standj.	1. Standj.	2. Standj.	2. Standj.
Horizon Herbs	2005	4.7.	--	k.A.*	0	--
	2006	19.7.	--	10	0	--
	2007	11.8.		67		
BLBP 01	2005	12.7.	2.7.	k.A.*	54	5
	2006	16.7.	--	0	0	--
	2007	17.8.		73		
China 1	2005	5.8.	14.6.	k.A.*	100	9
Ü1	2006	7.7.	30.4.	0	90	3
Ü2	2007	2.7.		0		
IPK 3	2006	22.6.	--	0	0	--
	2007	22.6.		0		
IPK 6	2005	--	18.7.	k.A.*	63	6
	2006	--	25.6.	100	85	9
IPK 8	2006	21.8.	--	0	0	--
	2007	5.8.		29		
B. T. World Seeds	2006	14.6.	--	0	0	--
	2007	18.6.		0		
BLBP 04	2006	12.9.	23.7.	0	63	9
	2007	--		100		

*k.A. = keine Angabe; -- entfällt, da Parameter nicht erfassbar

Tab. 9: Pflanzenhöhe zum Erntezeitpunkt (cm) und Blatt-Stängel-Verhältnis (m/m, BSV) des frischen Materials aus der jeweils ersten Ernte eines Standjahrs der *Leonurus*-Herkünfte in den Anbaujahren 2005-2007 am Baumannshof – Screeningversuche

Herkünfte	Anbaujahr	Pflanzenhöhe (cm)				BSV	
		1. Standj.		2. Standj.		1. Standj.	2. Standj.
		1. Schnitt	2. Schnitt	1. Schnitt	2. Schnitt		
Horizon	2005	84				0,64	
Herbs	2006	173	57			0,60	
	2007	150				2,93	
BLBP 01	2005	80		108		0,84	0,83
	2006	170	55			0,53	
	2007	140				2,33	
China 1	2005	105		160	84	0,62	0,34
Ü1	2006	58		60	45		1,08
Ü2	2007	80				0,84	
IPK 3	2006	88				1,23	
	2007	66				1,28	
IPK 6	2005			161			0,75
	2006			181			0,47
IPK 8	2006	199	77			0,53	
	2007	145				0,69	
B. T. World Seeds	2006	92	57			0,74	
	2007	69				1,06	
BLBP 04	2006	143		224		0,62	
	2007						

Die Pflanzen der früh blühende Herkünfte Ü2, IPK 3 und B. T. World Seeds waren bereits im Herbst abgestorben, so dass der fehlende Austrieb im Folgejahr (Tab. 8) nicht durch mangelnde Winterhärte, sondern durch die – vermutlich genetisch bedingte – Einjährigkeit der Pflanzen zu erklären ist.

Gehalt an extrahierbaren Stoffen

Die Extraktgehalte aller *Leonurus*-Herkünfte und Ernten schwankte zwischen 24,9 und 35,9 % (m/m) (Tab. 10) und liegen damit deutlich über dem geforderten Mindestgehalt von 15 % (9). In den meisten Fällen war der Extraktgehalt in der Blattdroge höher als in der Krautdroge. Ebenso lagen die Gehalte in der Krautdroge des zweiten Schnitts meist über denen des ersten Schnitts. Die Unterschiede zwischen den Herkünften sind gering und können auf Grund des Screeningcharakters des Versuchs nicht abgesichert werden.

Tab. 10: Extraktgehalt (% m/m) der Kraut- und Blattdroge aller Ernten (Schnitte) der *Leonurus*-Herkünfte in den Anbaujahren 2005 und 2006 am Baumannshof – Screeningversuche

Herkünfte	Anbaujahr	1. Standjahr		2. Standjahr		
		1. Schnitt Kraut	2. Schnitt Blatt	1. Schnitt Kraut	2. Schnitt Blatt	2. Schnitt Kraut
Horizon Herbs	2005	30,4	29,0			
	2006	25,7	29,1	31,0		
BLBP 01	2005	32,4	34,1		27,2	33,3
	2006	25,3	31,7	32,4		
China 1	2005	28,6	33,7		25,1	33,7
Ü1	2006	28,8	32,1			27,6
IPK 6	2005				25,8	31,1
IPK 3	2006	27,4	29,3			
IPK 8	2006	26,9	30,6	35,9		
B. T. World Seeds	2006	25,9	29,0	24,9		
BLBP 04	2006	27,9	34,6			

Flavonoidgehalt

Die Flavonoidgehalte in der *Leonurus*-Droge aller Herkünfte und Ernten schwankten zwischen 0,20 und 1,44 mg/kg (Tab. 11). Der Flavonoidgehalt war in der Blattdroge höher als in der Krautdroge und höher in der Krautdroge des zweiten Schnitts im Vergleich zur Krautdroge des ersten Schnitts. Die Unterschiede im Flavonoidgehalt in der Kraut- bzw. Blattdroge zwischen den Herkünften waren etwas größer als dies beim Extraktgehalt der Fall war.

Tab. 11: Flavonoidgehalt (mg/kg) der Kraut- und Blattdroge aller Ernten (Schnitte) der *Leonurus*-Herkünfte in den Anbaujahren 2005 und 2006 am Baumannshof – Screeningversuche

Herkünfte	Anbaujahr	1. Standjahr		2. Standjahr		
		1. Schnitt Kraut	1. Schnitt Blatt	2. Schnitt Kraut	1. Schnitt Kraut	1. Schnitt Blatt
Horizon Herbs	2005	0,53	0,98			
	2006	0,37	0,90	0,71		
BLBP 01	2005	0,50	0,77		0,70	1,09
	2006	0,34	0,96	0,76		
China 1	2005	0,21	0,45		0,20	0,50
Ü1	2006	0,37	0,52			0,22
IPK 6	2005				0,44	0,86
IPK 3	2006	0,46	0,72			
IPK 8	2006	0,32	0,80	0,54		
B. T. World Seeds	2006	0,49	0,86	0,51		
BLBP 04	2006	0,42	1,44			

2.6.3.4 Selektion von Elitepflanzen

Artemisia

Im Herbst 2004 wurden aus bestehenden Versuchsbeständen der Herkünfte Elixir Farm und Blaszczyk 81 Einzelpflanzen auf Grund von Wüchsigkeit, Blattanteil, Stängelbehaarung und Stängelfärbung selektiert und *in vitro* sowie über Stecklinge vermehrt. Lediglich drei dieser Einzelpflanzen trieben im Frühjahr 2005 im Feld wieder aus. Daher wurden im Frühjahr 2005 aus den selben Beständen 73 überwinterte und kräftig austreibende Einzelpflanzen selektiert und *in vitro* vermehrt. So standen im Frühjahr 2005 aus Blaszczyk 12 und aus Elixir Farm 28 Klone, und im Frühjahr 2006 aus Blaszczyk 13 und aus Elixir 29 Klone für die Klonprüfung und Kreuzung im Polycross zur Verfügung.

Im Frühjahr 2006 wurden in den Beständen aus dem Pilotpraxisanbau von 2005 in Mittelfranken weitere Einzelpflanzen selektiert und über Stecklinge vermehrt. Diese 6 Klone konnten nicht mehr in die Klonkreuzung einbezogen werden und werden für gegebenenfalls spätere Kreuzungen erhalten.

Von den neuen Herkünften ist IPK 8 auf Grund der schwachen agronomischen Leistung, der sehr groben, nur wenig behaarten Blätter und dem nicht nennenswert niedrigeren Cd-Gehalt weder für den Anbau noch für die Züchtung geeignet. Ebenso scheidet aktuell Herkunft Erlau aus dem Zuchtprogramm aus. Diese Herkunft könnte jedoch gegebenenfalls später wegen ihrer stärkeren Behaarung zur Einkreuzung interessant werden. Herkunft

Brandes ist dagegen agronomisch interessant, vor allem wegen ihrer guten Überwinterung und des hohen Blattanteils. Die Beurteilung der Winterhärte basiert jedoch nur auf einem Versuchsjahr mit einem ausgesprochen milden Winter, so dass diese Eigenschaft noch überprüft werden muss. Dennoch wurden im Frühjahr 2007 von den wüchsigsten und am stärksten behaarten 5 Einzelpflanzen Klone vermehrt, die ab 2008 im Feldversuch geprüft werden sollen.

Leonurus

Im Frühjahr 2005 wurden aus bestehenden Versuchsbeständen 131 wieder austreibende Einzelpflanzen der *Leonurus*-Herkünfte Horizon Herbs, BLBP 01, B. T. World Seeds und Richters Kräuterzauber selektiert. Anhand der Anwesenheit bzw. der Dicke der Stängelreste aus dem Vorjahr wurde beurteilt, ob es sich um eine nicht bzw. verzögert im ersten Standjahr blühende Pflanze handelte und diese von der Selektion ausgeschlossen. Aus diesen konnten 23 Klone von Horizon Herbs, 2 Klone von B. T. World Seeds und 1 Klon von Richters/Kräuterzauber durch *in vitro*-Vermehrung erzeugt werden, die 2006 für die Klonprüfung und Klonkreuzung im Polycross zur Verfügung standen.

Die Einzelpflanzen von BLBP 01 sollten zunächst auf ihre Vererbung der Schossneigung untersucht werden. Dazu wurden von diesen im Sommer 2005 einzelne Triebe vor der Blüte in Crispac-Tüten mit 0,5 mm Lochung isoliert mit dem Ziel, die Selbstung zu erzwingen. Ob dies gelungen sein konnte, muss auf Grund der Erfahrungen mit *Artemisia* (vgl. Kap. 2.4.2.3) in der AFLP-Selbstungsstudie für *Leonurus* geprüft werden. Das Selbstungssaatgut von 45 Elitepflanzen wurde 2006 in einem Screeningversuch in Puch direkt ins Feld gesät. Der Plan, über diese Maßnahme Selbstungsnachkommenschaften mit 100 % schossenden Beständen zu identifizieren (= homozygot schossend) schlug völlig fehl, da im gesamten Versuch nur einzelne Pflanzen blühten. Möglicherweise war dies durch eine auf Grund der Bodenverhältnisse verspätete Direktsaat, dadurch verzögerte Pflanzenentwicklung und warmen Frühsommer verursacht worden. Die zu verzögertem Schossen neigenden Herkünfte von *Leonurus* scheinen – so die eigenen Beobachtungen – im Jungpflanzenstadium einen gewissen Kältereiz zu benötigen, um bei Langtag in die generative Entwicklung überzugehen. Dieser Reiz hat den Selbstungsnachkommen vermutlich gefehlt. Da dieser große Versuch aus Platzgründen nicht über Jungpflanzenanzucht zu realisieren ist, und da viele Klone aus den anderen *Leonurus*-Herkünften erzeugt werden konnten, wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt.

Von den neuen Herkünften kann nach ein bis zwei Jahren Screening nur eine einzige für das Züchtungsprogramm als geeignet beurteilt werden. China 1 und Ü1 scheiden aus, da sie einer anderen Art als *Leonurus japonicus* angehören. IPK 3 und Ü2 sind auf Grund ihres niedrigen Drogenertrags sowie ausgeprägter Einjährigkeit nicht geeignet. IPK 6 kann erst im zweiten Standjahr geerntet und damit nicht ökonomisch produziert werden. Das größte Potenzial liegt in Herkunft IPK 8, die in den beiden Versuchsjahren gleichmäßig in Blüte gegangen ist und im ersten Standjahr einen hohen Drogenertrag erzielt. Diese Herkunft wird in die kommende Prüfung auf Kombinationseignung (vgl. Kap. 2.8) als Vergleichsherkunft aufgenommen. Gleichzeitig sollen besonders wüchsige Einzelpflanzen selektiert und verklont werden.

2.7 Prüfung und Kreuzung der Klone

2.7.1 Material und Methoden

Zur Beurteilung, ob die selektierten Einzelpflanzen nicht nur zufällig die gewünschten Eigenschaften zeigten (Prüfung der Eigenleistung) und ob sie die Eigenschaft(en) auch an ihre Nachkommen weiter geben (Vererbung, allgemeine Kombinationseignung), werden bei der Entwicklung einer synthetischen Sorte zunächst die Klone im Feld geprüft, ungeeignete Klone verworfen und die besten in einer Polycrossanlage miteinander gekreuzt. Um Zeit zu sparen, sollten Klonprüfung und Klonkreuzung in diesem Züchtungsprojekt in einem Schritt vollzogen werden, auch wenn dies wegen der hohen Klonzahl mit enormem Aufwand verbunden war.

In die Polycross-Anlagen wurde nur ein Teil der Klone aufgenommen. Verworfen wurden Klone, die nicht bzw. nur schlecht zu vermehren waren (v.a. bei *Leonurus*) und deren Einzelpflanzen im Feld nach der Selektion nur schwach wüchsig waren, extrem frühe oder späte Blühzeitpunkte oder andere Schwächen zeigten. Für die zweite und dritte Polycross-Anlage von *Artemisia* wurden weitere Klone auf der Basis der vorangegangenen Klonprüfungen verworfen.

Schließlich wurden in Puch und im Gewächshaus in Freising von *Artemisia* insgesamt vier (ASC 1 bis ASC 4) und von *Leonurus* ein Polycrossversuch (LJA 1) durchgeführt. Die Details zu diesen Versuchen sind in Tabelle 12 zusammengestellt. Das Prinzip der Randomisierung im Polycross, dass in jeder Reihe von jedem Klon nur eine Pflanze vorkommt, wurde eingehalten. Interessante Klone, von denen nicht ausreichend Pflanzen verfügbar waren, wurden in der Randomisierung paarweise zu einem „Klon“ zusammengefasst, um Leerstellen auf der Versuchsfläche zu vermeiden. Abbildung 18 vermittelt einen Eindruck der Komplexität einer solchen Anlageform.

Tab. 12: Versuchsdetails zu den Kreuzungen und Prüfungen der Klone von *Artemisia* (ASC) und *Leonurus* (LJA) in Polycrossanlagen im Feld (Puch) und im Gewächshaus (Freising).

Polycross Nr.	Pflanztermin	Standort	Pflanz- abstand (cm)	Anzahl Klone	Art der Vermehrung	Kurztag- Vor- behandlung	Samenernte
ASC 1	20.05.05	Puch	60 x 60	12	<i>in vitro</i>	nein	ja
ASC 2	20.05.05	Puch	60 x 60	28	<i>in vitro</i>	nein	nein
ASC 3	23.05.06	Puch	40 x 40	42	<i>in vitro</i>	ab 04.04.06	nein
ASC 4	14.02.07	Freising	12 x 12	25	Stecklinge	ab 04.06.07	ja
LJA 1	22.05.06	Puch	80 x 80	26	<i>in vitro</i>	--	ja

Im Zuge der Klonprüfung wurden entweder Einzelpflanzen bonitiert oder das von Einzelpflanzen geerntete Kraut klonweise zusammengefasst und auf Inhaltsstoffe bzw. Cd untersucht. In den Polycrossen ASC 1 und 2 wurden im oberen Sprossbereich Seitentriebe geerntet und in ASC 3 das gesamte ca. 30-40 cm hohe Kraut in 10 cm Höhe abgeschnitten. In ASC 4 wurde nur Saatgut gewonnen. Für die Krauternte von *Leonurus* wurde nur ein Seitentrieb pro Pflanze entnommen, da von den restlichen Trieben das Saatgut gewonnen werden sollte. Alle Klone wurden aus Gründen des Arbeitsaufwands trotz unterschiedlichen Blühbeginns (=Erntestadium) im gleichen Zeitraum 17.-22.08.06 beerntet.

Die Ergebnisse der Klonprüfungen werden nicht explizit für die einzelnen Klonnummern aufgelistet, sondern in xy-Diagrammen dargestellt, um herauszufinden, ob es Klone gibt, die relevante Merkmale bereits in sich vereinigen.

Die Samenernte erfolgte bei beiden Arten individuell, sobald die Triebe der Einzelpflanzen ausgereift und braun waren. Das Saatgut der Einzelpflanzen eines Klons wurde vereinigt und gemeinsam aufbereitet: Dreschen, Sieben, Windsichten und zuletzt manuelle Entfernung von Fremdbestandteilen. Bei der Windsichtung wurde darauf geachtet, dass ein ähnlich großer Anteil an zu kleinem, schwachem Saatgut herausgereinigt wurde. Einzelne Chargen wurden als Stichproben auf Tausendkorngewicht, Keimfähigkeit und Lebensfähigkeit (Tetrazolium-Test) untersucht (4).



Abb. 18: Polycrossanlage von *Artemisia* zur Prüfung und Kreuzung der Klone

2.7.2 Klonleistung *Artemisia*

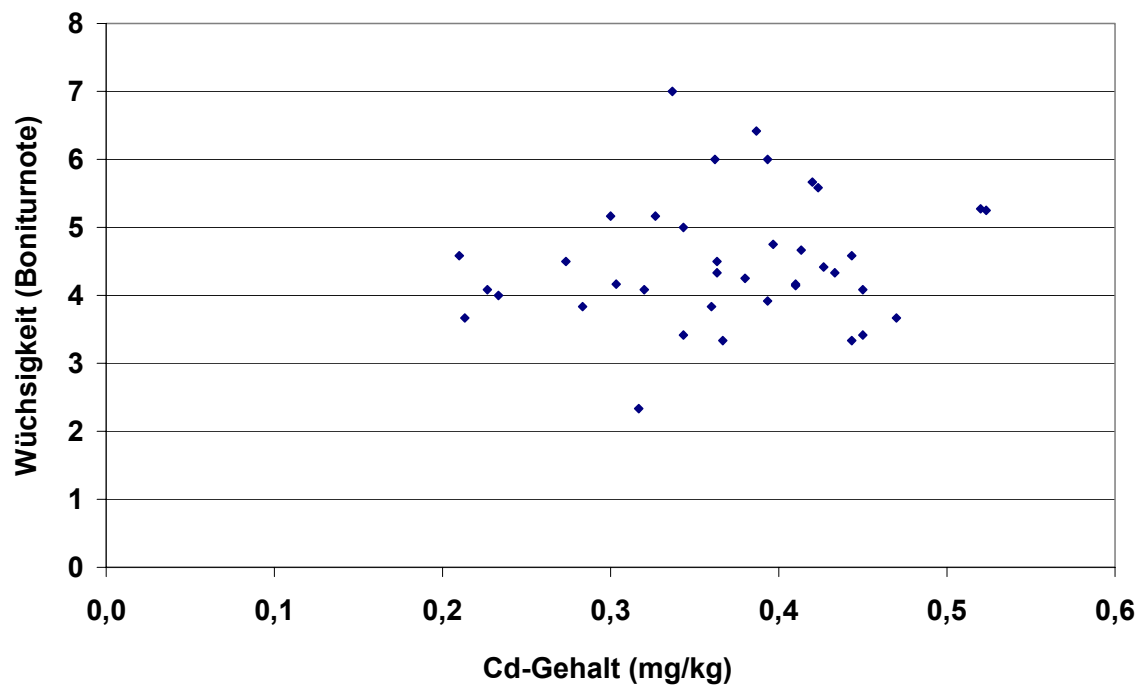


Abb. 19: Cd-Gehalt in den Seitentrieben (mg/kg Droge) und Wüchsigkeit des ersten Aufwuchses der *Artemisia*-Klone in Polycross ASC 1 und ASC 2 in Puch 2005.

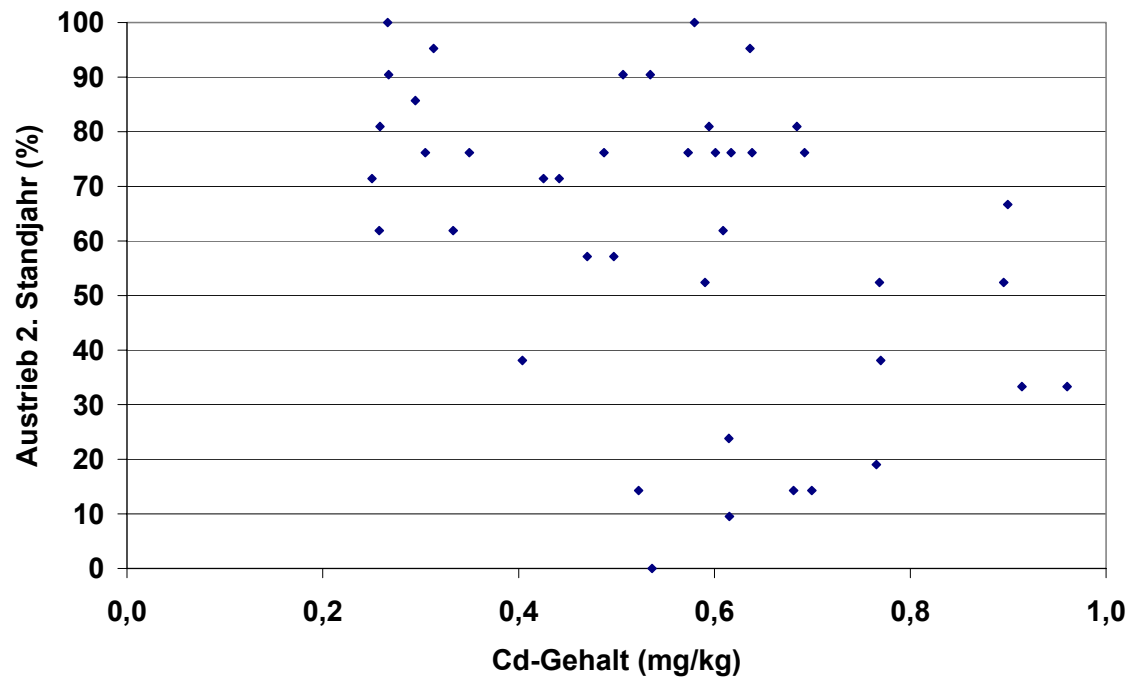


Abb. 20: Cd-Gehalt (mg/kg) der Krautdroge des zweiten Schnitts im ersten Standjahr und Anteil wieder austreibender Pflanzen (%) im Frühjahr des zweiten Standjahrs der *Artemisia*-Klone in Polycross ASC 3 in Puch 2006/07

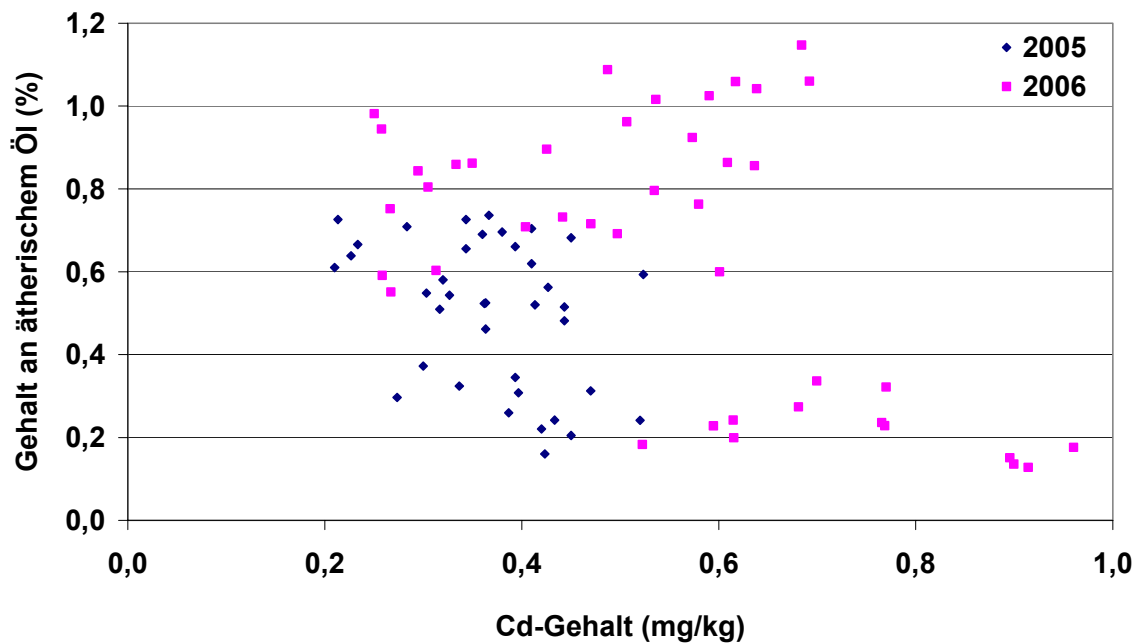


Abb. 21: Cd-Gehalt (mg/kg) und Ätherischölgehalt (% V/m) der Krautdroge aus Seitentrieben (Anbaujahr 2005) bzw. des ganzen Krautes des 2. Schnitts (Anbaujahr 2006) der *Artemisia*-Klone in den Polycrossversuchen ASC 1 und ASC 2 bzw. ASC 3 in Puch.

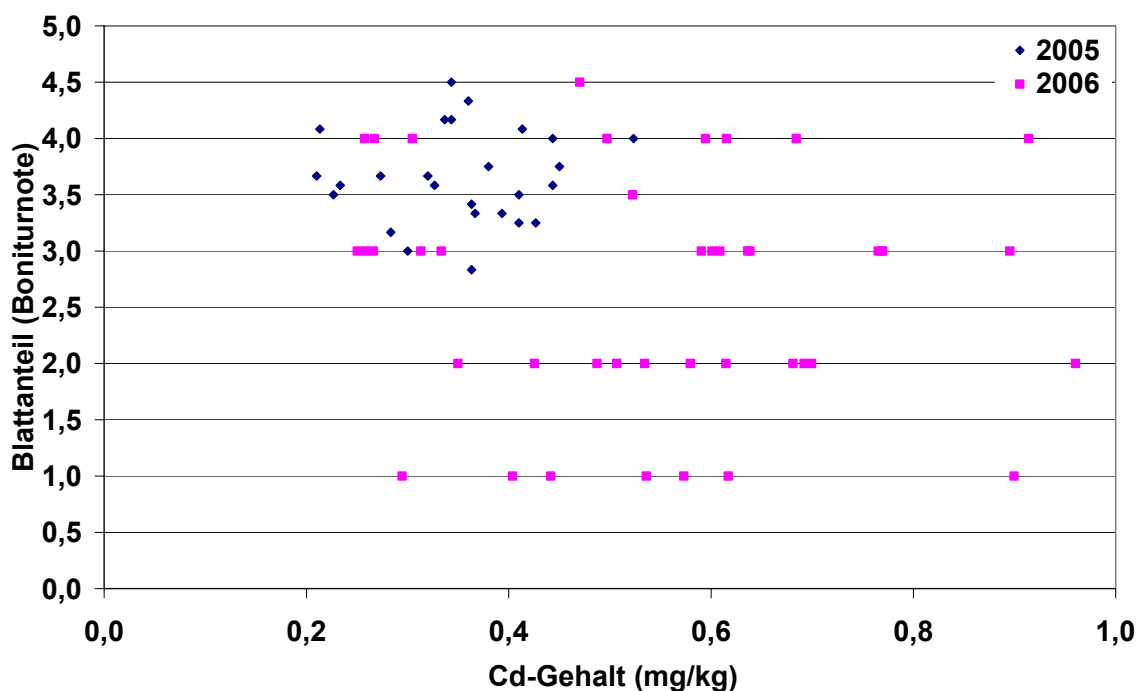


Abb. 22: Cd-Gehalt (mg/kg) und Blattanteil (Bonitur, 1=geringer, 5=hoher Blattanteil) der Krautdroge aus Seitentrieben (Anbaujahr 2005) bzw. des ganzen Krautes des 2. Schnitts (Anbaujahr 2006) der *Artemisia*-Klone in den Polycrossversuchen ASC 1 und ASC 2 bzw. ASC 3 in Puch.

Der Cd-Gehalt in der Krautdroge von *Artemisia* variierte zwischen den Klonen von 0,2 bis ca. 0,5 mg/kg in 2005 (ASC 1 und ASC 2) und von 0,2 bis knapp 1,0 mg/kg in 2006 (Abb. 19 und 20). Die Klone mit den niedrigsten Cd-Gehalten gehörten zu den mittel bis schwächer Wüchsigen (Abb. 19) und stammten aus der Herkunft Elixir Farm, die insgesamt durch diese Eigenschaften gekennzeichnet ist.

In ASC 1 und ASC 2 trieben im Frühjahr 2006 nur einzelne Pflanzen aus, ohne dass ein Klon besonders hervortrat. In ASC 3 trieben nach dem milden Winter 2006/07 je nach Klon zwischen 0 und 100 % der Pflanzen aus (Abb. 20). Unter den Klonen mit hoher Austriebsrate waren auch einige Klone mit niedrigem Cd-Gehalt, so dass diese beiden wichtigen Eigenschaften bereits in Kombination auftreten.

Beim Gehalt an ätherischem Öl in der Krautdroge formierten sich zwei Klongruppen mit hohem und niedrigerem Ölgehalt (Abb. 21), die die Eigenschaften der Ursprungsherkünfte Elixir Farm bzw. Blaszczyk widerspiegeln. Von den Klonen mit niedrigem Cd-Gehalt wiesen einige einen Ätherischölgehalt über 0,8 % (V/m) auf.

Auch im Blattanteil waren Unterschiede zwischen den Klonen zu sehen, sofern er im Feld an der ganzen Pflanze bonitiert wurde, wie dies 2006 der Fall war (Abb. 22). Dagegen war in der Droge der 2005 selektiv geernteten Seitentriebe nur wenig Variabilität bei insgesamt hohem Blattanteil zu beobachten. Unter den Klonen mit niedrigem Cd-Gehalt waren auch solche mit hohem Blattanteil. Entgegen der Erwartung war kein Zusammenhang zwischen Blattanteil (Bonitur) und Cd-Gehalt der Klone zu erkennen. Zwar war der Blattanteil der Droge in 2005 insgesamt hoch und der Cd-Gehalt insgesamt relativ niedrig, was

einen Zusammenhang nahe legt, jedoch ist die Ursache eher in der selektiven Probenahme zu suchen, als dass dies eine klonspezifische Eigenschaft wäre.

Der erwartete Zusammenhang leitet sich aus Ergebnissen einer Master-Arbeit ab, die in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Pflanzenernährung, Dr. von Tucher, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, TU München zur Cd-Akkumulation in *Artemisia scoparia* durchgeführt wurde (30). Darin wurden 2006 zwei Klone, die sich 2005 im Cd-Gehalt deutlich unterschieden, in einem Gefäß- und einem Nährlösungsversuch auf Cd-Aufnahme und -Verteilung in der Pflanze untersucht. Die beiden *Artemisia*-Klone unterschieden sich dabei in gleicher Weise in ihrer Neigung, Cd aufzunehmen. In beiden Versuchen wiesen die Stängel immer einen höheren Cd-Gehalt auf als die Blätter. Der Cd-Gehalt in der reinen Blattdroge wird in der Regel also etwas niedriger sein als in der ursprünglichen Krautdroge, aus der sie für den Verkauf aufbereitet worden ist. Eine weitere, für die Optimierung des Anbauverfahrens wichtige Erkenntnis aus dem Gefäßversuch ist, dass die Verwendung eines Nitrat betonten Düngers in niedrigeren Cd-Gehalten resultiert im Vergleich zu einem Ammonium betonten Dünger (30). Die Ursache dafür wird in der physiologischen Wirkung der Stickstoffformen in der Rhizosphäre gesehen. Bei überwiegender Nitrataufnahme steigt der pH-Wert in der Rhizosphäre, so dass in der für die Nährstoffaufnahme wichtigen Zone Cd weniger gut für die Pflanzen verfügbar ist. Der Gefäßversuch wurde 2007 mit den Böden der Versuchsstationen Baumannshof und Puch wiederholt und unterstützt im Wesentlichen die Ergebnisse von Gassner (30).

Andere, aus der Prüfung der Kombinationseignung stammende Drogen (vgl. Kap. 2.8) zeigten ebenfalls höhere Gehalte von Cd im Stängel als im Blatt (Tab. 13). Daraus ist abzuleiten, dass mit steigendem Blattanteil der Cd-Gehalt im Kraut sinken muss, quasi ein Verdünnungseffekt. Dennoch war wie im Polycross der Zusammenhang zwischen Cd-Gehalt im Kraut und dem Blatt-Stängel-Verhältnis der Herkünfte nicht durchgehend erkennbar. Herkunft Elixir Farm wies zwar sowohl das höchste Blatt-Stängel-Verhältnis als auch den niedrigsten Cd-Gehalt auf. Vergleicht man aber die anderen beiden Herkünfte miteinander, unterscheiden sich diese im Cd-Gehalt auch bei gleichem Blatt-Stängel-Verhältnis. Dies zeigt, dass weitere, physiologische Eigenschaften der Klone den Einfluss des Blatt-Stängel-Verhältnisses überdecken.

Ein hohes Blatt-Stängel-Verhältnis kann also nicht als alleiniges, indirektes Selektionskriterium für niedrigen Cd-Gehalt herangezogen werden, sondern der Cd-Gehalt muss jeweils direkt untersucht werden. Dennoch ist ein hoher Blattanteil günstig für einen hohen Blattdrogenertrag. Außerdem führt das Entfernen der Stängel auf jeden Fall zur Senkung des Cd-Gehalts in der Droge.

Tab. 13: Cadmiumgehalt (mg/kg) in der Blatt-, Stängel- und Krautdroge des dritten und fünften Schnitts verschiedener *Artemisia*-Herkünfte, sowie deren Blatt-Stängel-Verhältnis (BSV) in der Krautdroge. Daten aus Prüfung auf Kombinationseignung, BA Anbaujahr 2006, vgl. Kap. 2.8 – Exaktversuch (N=3).

Herkünfte	Cd-Blatt	Cd-Stängel	Cd-Kraut	BSV
3. Schnitt				
104073-F ₁	0,93	1,34	1,30	1,6
Blaszczyk	1,88	2,46	1,76	1,9
Elixir Farm	0,63	1,00	0,67	2,9
5. Schnitt				
104073-F ₁	0,80	1,22	0,87	1,8
Blaszczyk	1,27	1,72	1,25	1,8
Elixir Farm	0,53	0,96	0,61	2,2

2.7.3 Klonkreuzung und Samenernte *Artemisia*

Die Klone aus Herkunft Blaszczyk und Elixir Farm wurden in getrennten Polycrossanlagen (ASC 1 bzw. ASC 2, vgl. Tab. 12) kombiniert, da erwartet wurde, dass nur Klone aus Blaszczyk zur Blüte und Samenreife gelangen würden. Ein früher blühender Klon von Elixir Farm (104080) wurde in beide Polycrossanlagen aufgenommen. Schließlich konnte im Herbst 2005 F₁-Saatgut von 9 der 12 Blaszczyk-Klone und dem früh blühenden Elixir Farm-Klon geerntet werden, das im Folgejahr für die Prüfung auf allgemeine Kombinationseignung genutzt wurde.

Da die Klone aus Herkunft Elixir Farm sehr gute Zuchteigenschaften aufwiesen, mussten die vielen Klone dieser Herkunft erneut zusammen mit Blaszczyk-Klonen gekreuzt werden. Dies sollte 2006 auf der Grundlage der ermittelten kritischen Tageslängen für die Blüteninduktion der beiden Herkünfte geschehen (vgl. Kap. 2.4 und (58)). Allerdings entwickelte nur ein Teil der Klone im 12 h-Kurztag im Gewächshaus Blütenknospen. Der Zeitpunkt der Knospenbildung variierte zwischen den Klonen über einen Zeitraum von drei Wochen. Die ungleichmäßige Induktion ist vermutlich auf die geringe Größe der eintriebigen Pflanzen (10-20 cm Höhe) zurückzuführen. Dennoch wurden alle Klone wie geplant als Polycross ins Feld gepflanzt (ASC 3). Von den Klonen, die Blüten entwickelten, wurden die abgereiften Triebe klonweise geerntet. Diese enthielten jedoch kein Saatgut! Als Ursache wird die zu schwache Pollenwolke gesehen, da ja nur ein Teil der Pflanzen an einem einzigen Trieb blühte, und die Pflanzen im 40 cm x 40 cm Abstand gepflanzt waren. Ebenfalls muss hinterfragt werden, ob die Pflanzen kräftig genug waren für die Samenentwicklung, da keine Selbstbefruchtung auftrat – sofern diese überhaupt möglich ist (vgl. Kap. 2.4.2.3).

Daher wurden die Klone erneut für eine Kreuzung im Gewächshaus vermehrt. Eine Kurztagbehandlung im Winter führte zu keiner Knospenbildung (eventuell Lichtmangel). Nach Rückschnitt der Pflanzen Mitte Februar 2007 und Umstellung auf 16 h-Langtag (Belichtung bei Dunkelheit), wurden für das *Artemisia*-Polycross ASC 4 (vgl. Tab. 12) die kräftigsten Pflanzen Anfang Mai 2007 auf 1 Trieb reduziert und in 12 cm-Töpfe umgetopft. Am 31.05. wurden die Pflanzen auf 60 cm Höhe gestutzt (ausreichender Abstand zum Verdunkelungsgewebe) und ab 04.06. von 18-6 Uhr verdunkelt (12 h-Kurztag), da die Induktion an größeren Pflanzen eine sicherere und gleichmäßigere Reaktion, d. h. Übergang in die generative Phase versprach. Dadurch hatten weniger Pflanzen und damit insgesamt auch weniger Klone auf der Stellfläche unter dem Verdunkelungsschirm Platz. Die Klonzahl musste auf 25 reduziert werden.

Zwei bis drei Wochen nach Kurztagbeginn wechselten alle Klone in die generative Phase, blühten und bildeten Samen aus. Die reifen Triebe wurden ab Anfang November 2007 geerntet und aufbereitet. Von 25 Pflanzen je Klon konnten zwischen 1,2 und 25 g gereinigtes Saatgut je Klon gewonnen werden. Somit stehen nun F₁-Nachkommen von 8 Klonen der Herkunft Blaszczyk und 17 Klonen der Herkunft Elixir Farm zur Prüfung der allgemeinen Kombinationseignung bereit.

2.7.4 Klonleistung *Leonurus*

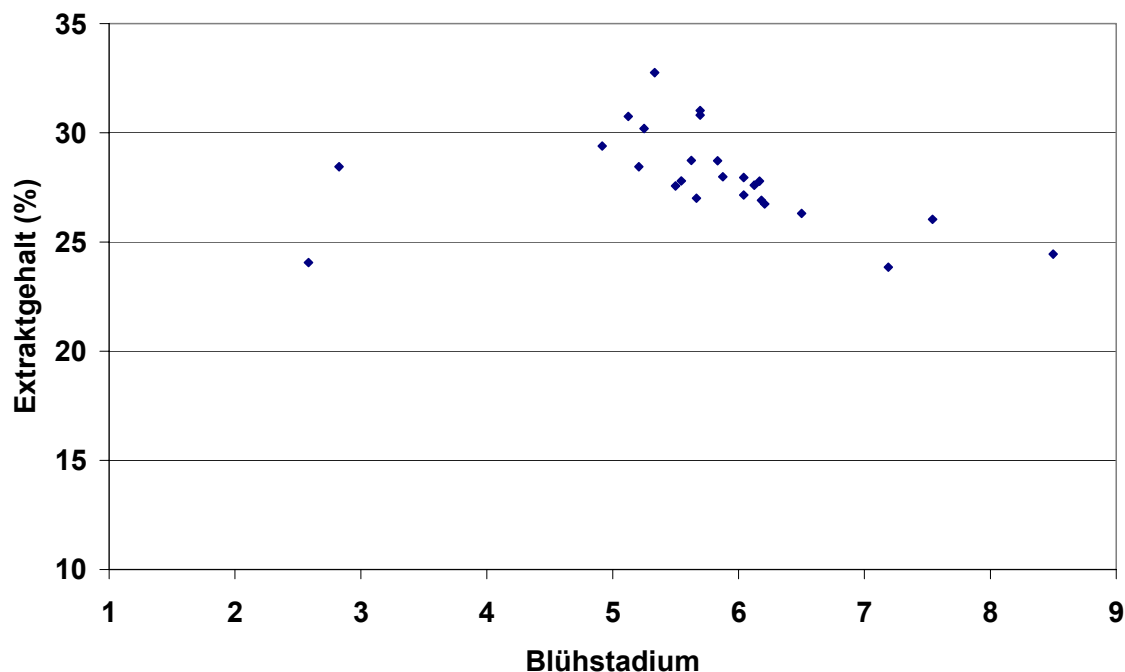


Abb. 23: Blühstadium am 21.08.2006 und Extraktgehalt (%) in der Krautdroge der *Leonurus*-Klone im Polycross LJA 1 in Puch 2006. (Blühstadien 1=Rosette, 5=erste Blüten offen (Blühbeginn), 9=Samen reif)

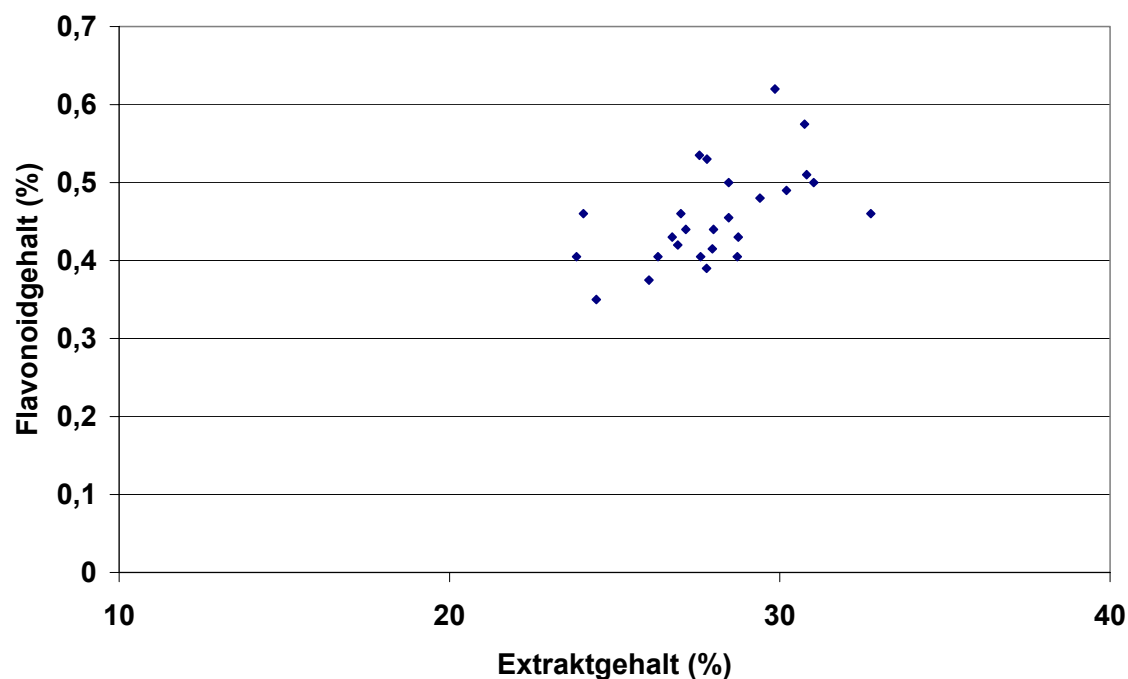


Abb. 24: Extraktgehalt (%) und Flavonoidgehalt (%) in der Krautdroge der *Leonurus*-Klone im Polycross LJA 1 in Puch 2006.

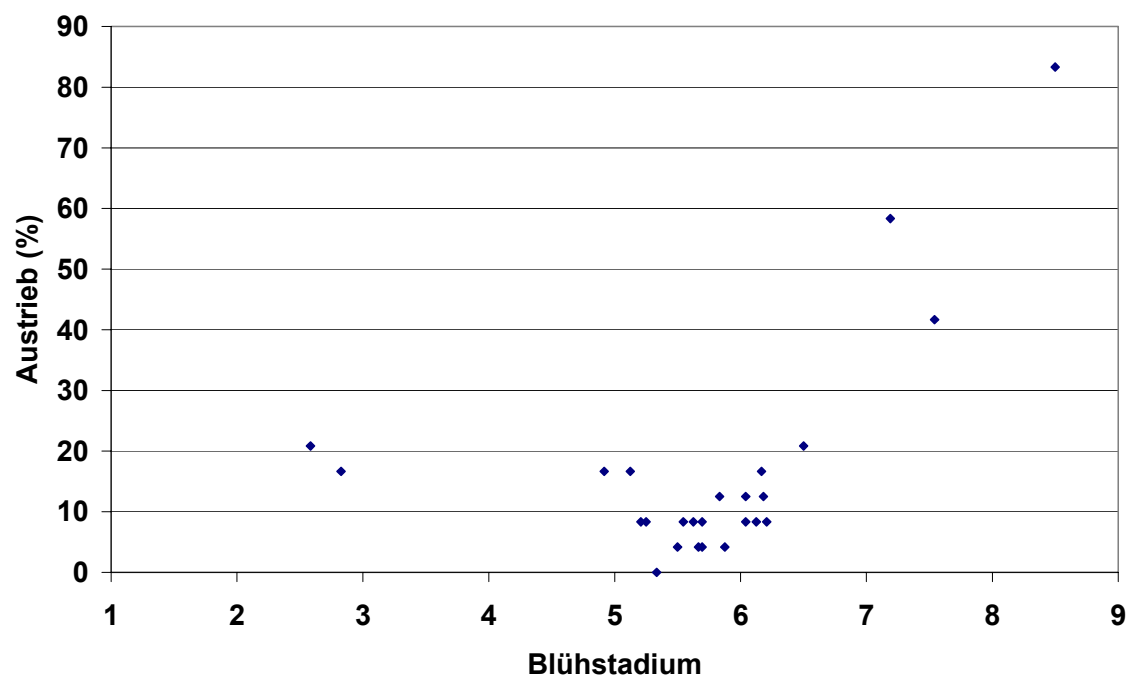


Abb. 25: Blühstadium am 21.08.2006 und Anteil wieder austreibender Pflanzen (%) im Frühjahr des zweiten Standjahrs 2007 der *Leonurus*-Klone im Polycross LJA 1 in Puch 2006. (Blühstadien 1=Rosette, 5=erste Blüten offen (Blühbeginn), 9=Samen reif)

Die Klone variierten stark in ihrem Blühbeginn (Abb. 23 und 25). Die drei mit Abstand frühesten Klone, von denen zwei aus Herkunft B. T. World Seeds und einer aus Horizon Herbs stammten, waren am 21.08.06 bereits am Verblühen, zwei andere Klone aus Horizon Herbs begannen dagegen gerade mit dem Schossen und der Knospenbildung oder waren teilweise sogar noch im Rosettenstadium. Die restlichen Klone befanden sich recht gleichmäßig in der frühen bis vollen Blüte. Die unterschiedliche Blühneigung war bereits an den Jungpflanzen direkt nach der *in vitro*-Bewurzelung und der Überführung ins Gewächshaus zu beobachten.

Der Extraktgehalt in der Droge variierte zwischen 24 und 33 %, wobei in den früh blühenden, d. h. zum Erntezeitpunkt schon im Verblühen befindlichen Klonen eher niedrigere Extraktgehalte gefunden wurden (Abb. 23). Der Flavonoidgehalt in der Droge schwankte zwischen 0,35 und 0,62 % (Abb. 24). Einige Klone wiesen sowohl einen hohen Flavonoid- als auch hohen Extraktgehalt auf.

Nur wenige Klone trieben im Frühjahr des zweiten Standjahrs mit einem nennenswerten Anteil der Pflanzen (42-83 %) wieder aus (Abb. 25). Dabei handelte es sich um die Klone, die im ersten Standjahr früh blühten.

Auf der Basis der Klonleistungen im Feld wurden sieben Klone der Herkunft Horizon Herbs auf Grund extrem später Blüte, auffälliger Blattkräuselungen oder schwachen Wuchses ausselektiert.

2.7.5 Klonkreuzung und Samenernte *Leonurus*

Die Klone, in denen einige Pflanzen wenige Tage nach der Pflanzung bereits blühten, trieben nach der Blüte oder Samenreife wieder neu aus und bildeten ungefähr zur gleichen Zeit wie die anderen Klone erneut Blüten aus, so dass weitgehend alle Klone in ihren Blühphasen überlappten und sich so gegenseitig bestäuben konnten. Pollen der im Nachgang ausselektierten Klone war Teil der Pollenwolke.

Das ausgereifte Saatgut der *Leonurus*-Klone wurde im Herbst klonweise geerntet und aufbereitet. Von 12 bzw. 24 Pflanzen je Klon konnten zwischen 2,8 und 103 g gereinigtes Saatgut je Klon gewonnen werden. Von den gleich nach der Pflanzung blühenden Pflanzen wurde bereits im August Saatgut klonweise geerntet. Eine dieser frühen Partien wurde im Vergleich zur regulär geernteten Partie des selben Klons auf Kombinationseignung geprüft (Variante 405136-06F₁K-f bzw. 406136-06F₁K in Kap. 2.8). Schließlich standen 18 F₁-Nachkommenschaften sowie die frühe Partie für die Prüfung auf allgemeine Kombinationseignung bereit.

2.8 Prüfung der Klone auf allgemeine Kombinationseignung

2.8.1 Material und Methoden

Die allgemeine Kombinationseignung der Klone wird anhand der Eigenschaften der F₁-Nachkommenschaften der Klone aus der Klonkreuzung (Polycross) ermittelt. Die F₁-Nachkommenschaften wurden wie folgt benannt: z. B. 104021-05F₁K mit Klonnummer (104021), Erntejahr des Samens (05 = 2005), entstanden aus Kreuzung in der ersten Generation (F₁), von Klonpflanzen (K).

Bei *Artemisia* konnten bislang nur die in 2005 entstandenen zehn F₁-Nachkommenschaften der 9 Blaszczyk-Klone und des Elixir Farm-Klons geprüft werden. Dazu wurde 2006 am Standort Baumannshof ein Exaktversuch mit drei Wiederholungen und den Herkünften Blaszczyk und Elixir Farm als Kontrollen durchgeführt. Von einem

zweiten Anbaujahr wurde abgesehen, da aus einem späteren Polycross Nachkommenschaften vieler weiterer Elixir Farm-Klone erwartet wurden. Die vorgezogenen Einzelpflanzen wurden am 09.05.06 gepflanzt und am 08.06.06 zum ersten Mal beerntet. Insgesamt wurden sieben Ernteschnitte bei Erreichen von ca. 30 cm Pflanzenhöhe durchgeführt.

Von *Leonurus* wurden 18 F₁-Nachkommenschaften der Klone aus den Herkunftsorten Horizon Herbs, B. T. World Seeds und Richters/Kräuterzauber, sowie eine frühe Saatgutpartie des Klons 405136 (405136-06F₁K-f) zusammen mit den Ursprungsherkünften als Kontrollvarianten geprüft. Die Versuchsreihe, die über zwei Anbaujahre stattfinden soll, wurde 2007 am Standort Baumannshof mit einem Exaktversuch mit drei Wiederholungen begonnen. Der Versuch wurde am 02. und 03.05.07 gepflanzt, die Krauternte der ersten Varianten erfolgte am 20.06.07.

Die allgemeinen Versuchsbedingungen für die *Artemisia*- und *Leonurus* Feldversuche inkl. Analysen sind in Kapitel 2.2 detailliert beschrieben.

Die Ergebnisse aus einem einzelnen Feldversuch an einem Standort sind wenig belastbar, können aber doch einen ersten Hinweis auf die Leistung der Prüfvarianten geben. Daher sollen die bereits vorliegenden Ergebnisse der ersten Nachkommenschaftsprüfungen vorgestellt werden.

2.8.2 Leistung der F₁-Nachkommenschaften der *Artemisia*-Klone

Die Bestände von Blaszczyk sowie der Nachkommenschaften waren bis auf eine Ausnahme als wenig homogen zu bezeichnen (Tab. 14), wobei insbesondere die Blattform variierte. Die Stängel der Nachkommenschaften wiesen eine mehr oder weniger geringere Anthocyanfärbung auf als Blaszczyk, und waren nur selten deutlicher gefärbt als die Stängel von Elixir Farm. Der Krautdrogenertrag der F₁-Nachkommenschaften als Summe aus allen sieben Schnitten schwankte zwischen 35 und 45 dt/ha und lag in einzelnen Fällen sogar deutlich über dem Ertrag der ursprünglichen Herkunft Blaszczyk (35,8 dt/ha) bzw. Herkunft Elixir Farm (36,6 dt/ha).

Das Blatt-Stängel-Verhältnis der Krautdroge (Mittelwert des 3. und 5. Schnitts) lag bei den Nachkommenschaften mit 1,5 bis 2,2 um den Wert von Blaszczyk, war aber meist deutlich niedriger als das von Elixir Farm. Dagegen enthielt die Krautdroge einzelner Nachkommenschaften weniger Cadmium als die von Blaszczyk, aber immer noch deutlich über dem Niveau von Elixir Farm (Tab. 14).

Die Leistung weiterer Klon-Nachkommenschaften wird 2008 - 2010 an zwei Standorten untersucht, so dass auf dieser dann belastbaren Basis die Klone mit der besten Kombinationseignung ermittelt werden können.

Tab. 14: Krautdrogenertrag (dt/ha), Homogenität des Bestands (Boniturnote), Anthocyanfärbung der Stängel (Boniturnote), sowie Blatt-Stängel-Verhältnis (BSV, Mittelwert des 3. und 5. Schnitts) und Cd-Gehalt in der Krautdroge der F₁-Nachkommenschaften der *Artemisia*-Klone und der Kontrollherkünfte Blaszczyk und Elixir Farm 2006 am Standort Baumannshof. (Boniturnoten: 1=sehr gering, 9=sehr stark ausgeprägtes Merkmal) – Exaktversuch (Mittelwerte, N=3; Werte mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden, Tukey, $\alpha=5\%$)

Nachkommen bzw. Herkünfte	Homogenität (Bonitur)	Anthocyanfärbung Stängel (Bonitur)	Drogenertrag (dt/ha)	BSV	Cd-Gehalt (mg/kg)
104021-05F ₁ K	2,0 c	4,3 abc	35,4 d	1,5 d	1,14 abc
104028-05F ₁ K	3,0 bc	4,3 abc	36,0 d	1,7 cd	1,32 a
104055-05F ₁ K	2,7 bc	4,0 bc	37,9 bcd	1,7 cd	1,28 ab
104056-05F ₁ K	5,0 ab	5,7 ab	41,0 abcd	1,6 d	1,17 abc
104059-05F ₁ K	2,0 c	4,0 bc	43,8 ab	1,9 bcd	1,19 abc
104073-05F ₁ K	1,7 c	3,3 c	36,0 d	1,7 cd	1,19 abc
104074-05F ₁ K	2,7 bc	4,3 abc	37,6 bcd	1,9 bcd	1,16 abc
104075-05F ₁ K	2,3 c	4,0 bc	43,1 abc	2,0 bcd	1,01 c
104076-05F ₁ K	2,7 bc	2,7 c	44,5 a	2,2 ab	1,04 bc
104080-05F ₁ K	1,3 c	4,0 bc	39,7 abcd	2,1 abc	1,28 ab
Blaszczyk	2,0 c	6,0 a	35,8 d	1,8 cd	1,34 a
Elixir Farm	7,0 a	3,0 c	36,6 cd	2,5 a	0,64 d

2.8.3 Leistung der F₁-Nachkommenschaften der *Leonurus*-Klone

Der Blühbeginn der Nachkommenschaften erstreckte sich von 06.07. bis 29.08.07 (Tab. 15). Die Nachkommenschaft des Richters-Klons (405042) blühte zwei Monate später als die ursprüngliche Herkunft! Die beiden Nachkommenschaften der B. T. World Seeds Klonen (405136 und 405137), sowie die frühe Partie „f“ blühten dagegen Anfang Juli und damit nur drei Wochen später als die Ursprungsherkunft. Die anderen Nachkommenschaften begannen im Verlauf des Augusts mit der Blüte. Der genaue Blühbeginn war in den Varianten mit hohem Rosettenanteil sehr schwierig festzustellen, da deren Bestände sich nicht gleichmäßig entwickelten und blühten.

Tab. 15: Blühbeginn, Anteil der in Rosetten verharrender Pflanzen (%), Krautdrogenertrag (dt/ha) und Anteil der im Herbst des ersten Standjahrs abgestorbenen Pflanzen (%) der F₁-kommen der *Leonurus*-Klone und der Kontrollherkünfte Horizon Herbs, Richters und B. T. World Seeds 2007 am Standort Baumannshof – Exaktversuch (Mittelwerte, N=3; Werte mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden, Tukey, $\alpha=5\%$)

Population	Blühbeginn	Rosetten (%)	Drogenertrag (dt/ha)	BSV	Abgestorbene Pflanzen im Herbst (%)
405002-06F ₁ K	09.-13.08.	61 ab	57 bc	0,60 bc	6 f
405003-06F ₁ K	10.-18.08.	44 abcde	68 abc	0,62 bc	12 ef
405006-06F ₁ K	03.-06.08.	49 abcd	62 abc	0,65 bc	19 ef
405007-06F ₁ K	30.07.	27 bcdefg	64 abc	0,59 bc	34 cde
405010-06F ₁ K	17.-23.08.	40 abcdef	76 ab	0,67 bc	15 ef
405011-06F ₁ K	17.-23.08.	65 a	67 abc	0,60 bc	11 ef
405016-06F ₁ K	17.-23.08.	60 ab	78 ab	0,65 bc	6 f
405017-06F ₁ K	18.-20.08.	53 ab	77 ab	0,58 bc	16 ef
405021-06F ₁ K	02.-06.08.	60 ab	42 cd	0,65 bc	13 ef
405042-06F ₁ K	20.-29.08.	57 ab	64 abc	0,53 c	9 ef
405104-06F ₁ K	14.-20.08.	17 cdefg	88 a	0,62 bc	26 def
405108-06F ₁ K	11.08.	33 abcdefg	79 ab	0,61 bc	22 ef
405111-06F ₁ K	01.-04.08	44 abcde	69 abc	0,71 b	22 ef
405118-06F ₁ K	30.07.	44 abcde	63 abc	0,71 b	18 ef
405119-06F ₁ K	30.07.	38 abcdef	67 abc	0,68 b	26 def
405123-06F ₁ K	02.-06.08.	14 defg	86 ab	0,62 bc	32 de
405136-06F ₁ K	09.07.	9 efg	74 ab*	0,71 b	59 bc
405137-06F ₁ K	06.07.	7 fg	73 ab*	0,62 bc	70 b
405136-06F ₁ K -f	12.07.	14 defg	67 abc*	0,71 b	50 bcd
Horizon Herbs	10.-16.08.	50 abc	73 ab	0,63 bc	19 ef
Richters	19.06.	0 g	17 d*	1,03 a	100 a
B. T. World Seeds	18.06.	0 g	17 d*	0,98 a	100 a

* Summe aus zwei Ernten; alle anderen Varianten konnten nur einmal beerntet werden

Einzelne Nachkommenschaften wiesen nur einen geringen Anteil an Pflanzen auf, die zum Erntezeitpunkt noch im Rosettenstadium verblieben waren. Darunter auch die Nachkommenschaften aus B. T. World Seeds, die auf Grund der frühen ersten Blüte und einem nennenswerten Wiederaustrieb zweimal beerntet werden konnten und so einen hohen Ertrag erzielen konnten. Dagegen war der Ertrag der Ursprungsherkunft B.T. World Seeds und von Richters äußerst niedrig: diese blühten noch früher und trieben nach der ersten

Ernte nur noch geringfügig aus. Die Nachkommenschaften von Klon 405104 wiesen nur 17 % und die von Klon 405123 14 % Rosetten auf, was sich bei deren Blühbeginn im August in den höchsten Drogenerträgen von 88 bzw. 86 dt/ha niederschlug. Die Nachkommenschaft des Richters-Klons (405042) erreichte, vermutlich auf Grund des späteren Blühbeginns, einen deutlich höheren Drogenertrag als die Ursprungsherkunft.

Das Blatt-Stängel-Verhältnis der Krautdroge variierte nur wenig zwischen den Nachkommenschaften. Lediglich die Herkünfte Richters und B. T. World Seeds wichen deutlich davon ab.

Im Herbst 2007 waren bereits eine Reihe von Pflanzen komplett abgestorben. Der ermittelte Anteil abgestorbener Pflanzen schwankte von 6 bis 100 %, wobei ein negativer Zusammenhang zum Anteil Rosettenpflanzen zu bestehen scheint. Die Herkünfte Richters und B. T. World Seeds waren komplett abgestorben, die Nachkommenschaften der daraus auf Winterhärte selektierten Klone waren dagegen zu einem deutlich geringeren Anteil abgestorben (Tab. 15).

3 Drogenqualität chinesischer Heilpflanzen aus bayerischem Versuchsanbau im Vergleich zu Importware: Identität, sensorische Eigenschaften, Inhaltsstoffe und Reinheit

Da die Qualitätsfrage 1998 mit den Impuls zum Gesamt-Anbauprojekt gab, wurde seit 2004 geprüft, ob die Drogen aus deutschem Versuchs- und schließlich (großflächigem) Feldanbau eine äquivalente Alternative zu den Importdrogen darstellen. Dazu wurden Versuchs- und Handelsproben von den Firmen PhytoLab und Kräuter Mix auf deren eigene Kosten einer umfangreichen Qualitätsuntersuchung unterzogen.

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Untersuchtes Material

Von 2004 bis 2006 wurden von den Arten *Angelica dahurica*, *Artemisia scoparia*, *Astragalus mongholicus* (ehemals *A. membranaceus*), *Bupleurum chinense*, *Leonurus japonicus*, *Prunella vulgaris*, *Salvia miltiorrhiza*, *Saposhnikovia divaricata*, *Scutellaria baicalensis* und *Sigesbeckia pubescens* je 10 Drogenmuster à 1 kg anonym über zwei TCM-Apotheken von 11 verschiedenen TCM-Handelsfirmen aus dem deutschsprachigen Raum bezogen. Bei den Handelsproben (HP) handelte es sich um zertifizierte, verkehrsfähige Ware. Die zu vergleichenden Versuchsdrogen stammten aus den Erntejahren 2003 bis 2005 der LfL-Versuchsstationen Baumannshof und Puch. Die Drogenmuster (Versuchsproben, VP) wurden einzelnen Versuchsvarianten entnommen, so dass verschiedene genetische Herkünfte, Pflanzenalter und Anbauverfahren in die Untersuchung eingingen, von denen sich einige letztlich als nicht für den Anbau geeignet erwiesen. In den Abbildungen 26 bis 35 sind repräsentative Muster von Versuchs- und Handelsproben der zehn Arten dargestellt.

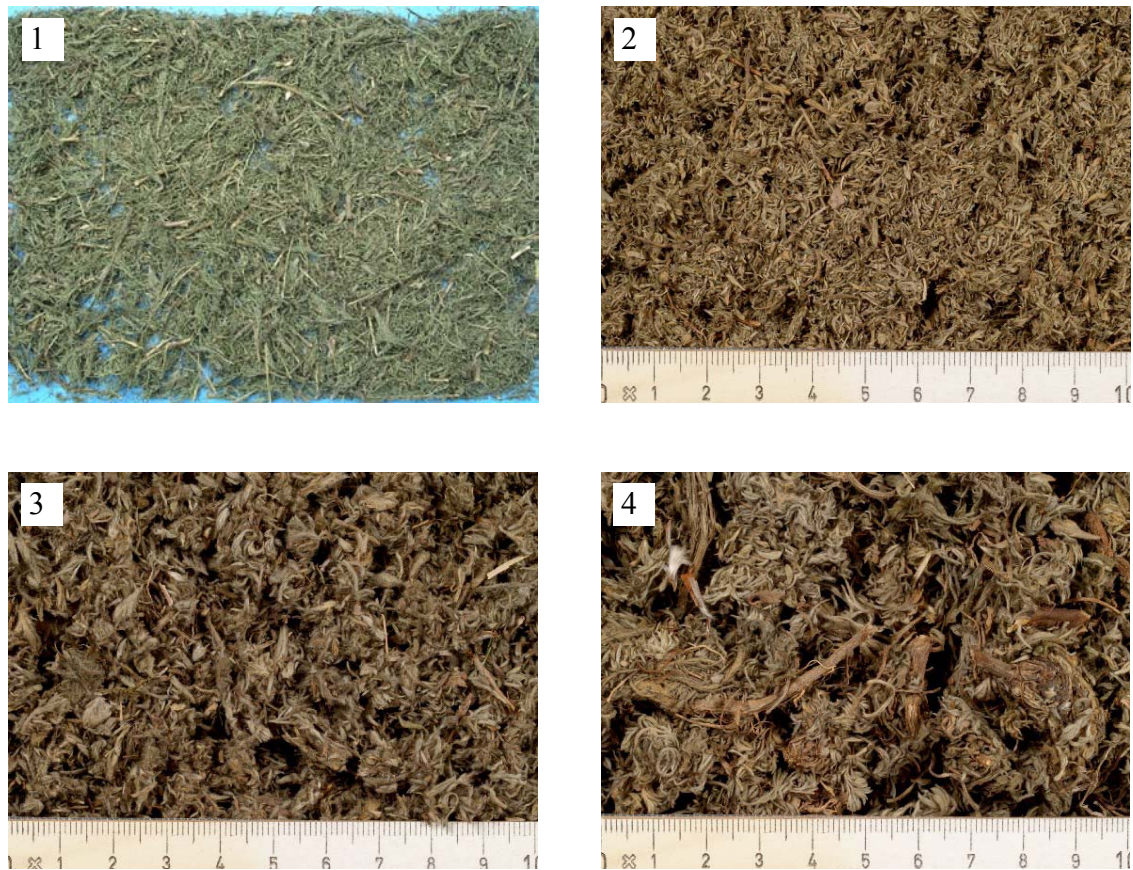


Abb. 26: *Artemisia scoparia* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-4)



Abb. 27: Leonurus japonicus – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-6)

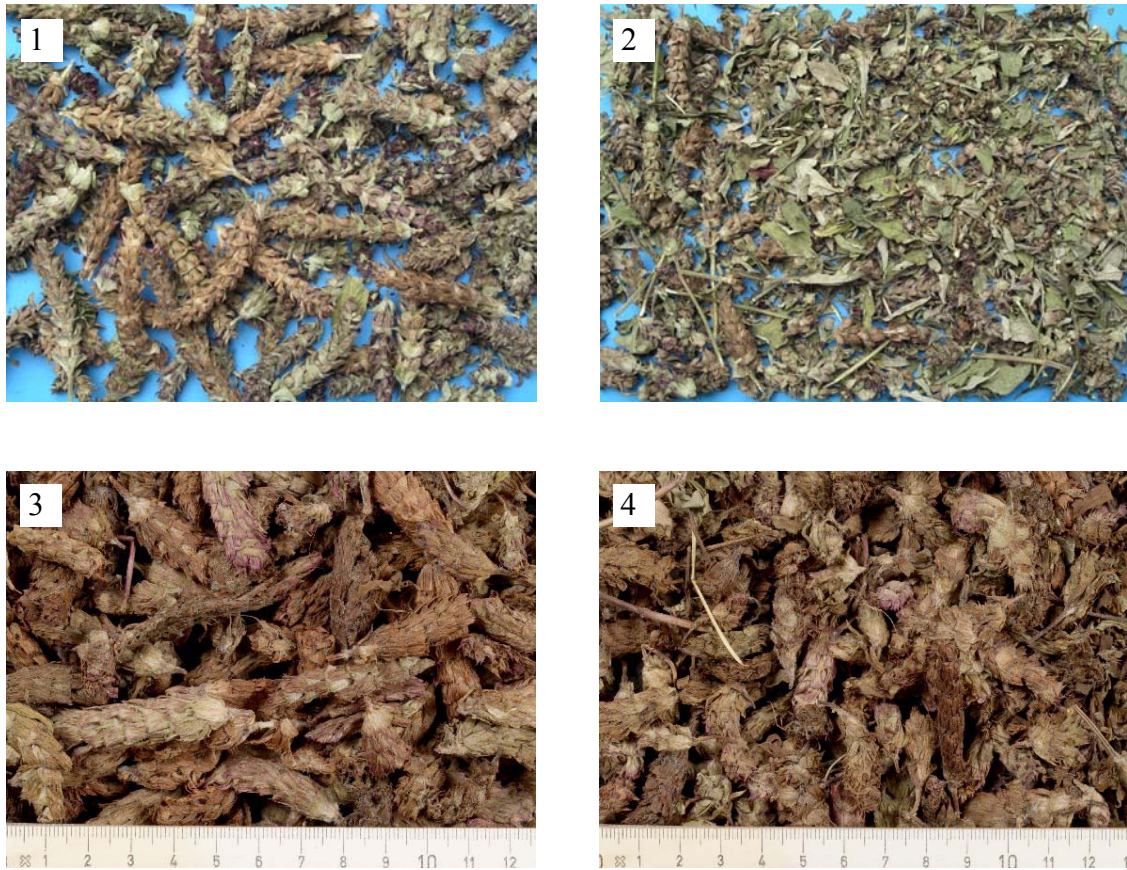


Abb. 28: *Prunella vulgaris* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-4)



Abb. 29: *Sigesbeckia pubescens* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-4)



Abb. 30: *Angelica dahurica* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-4)

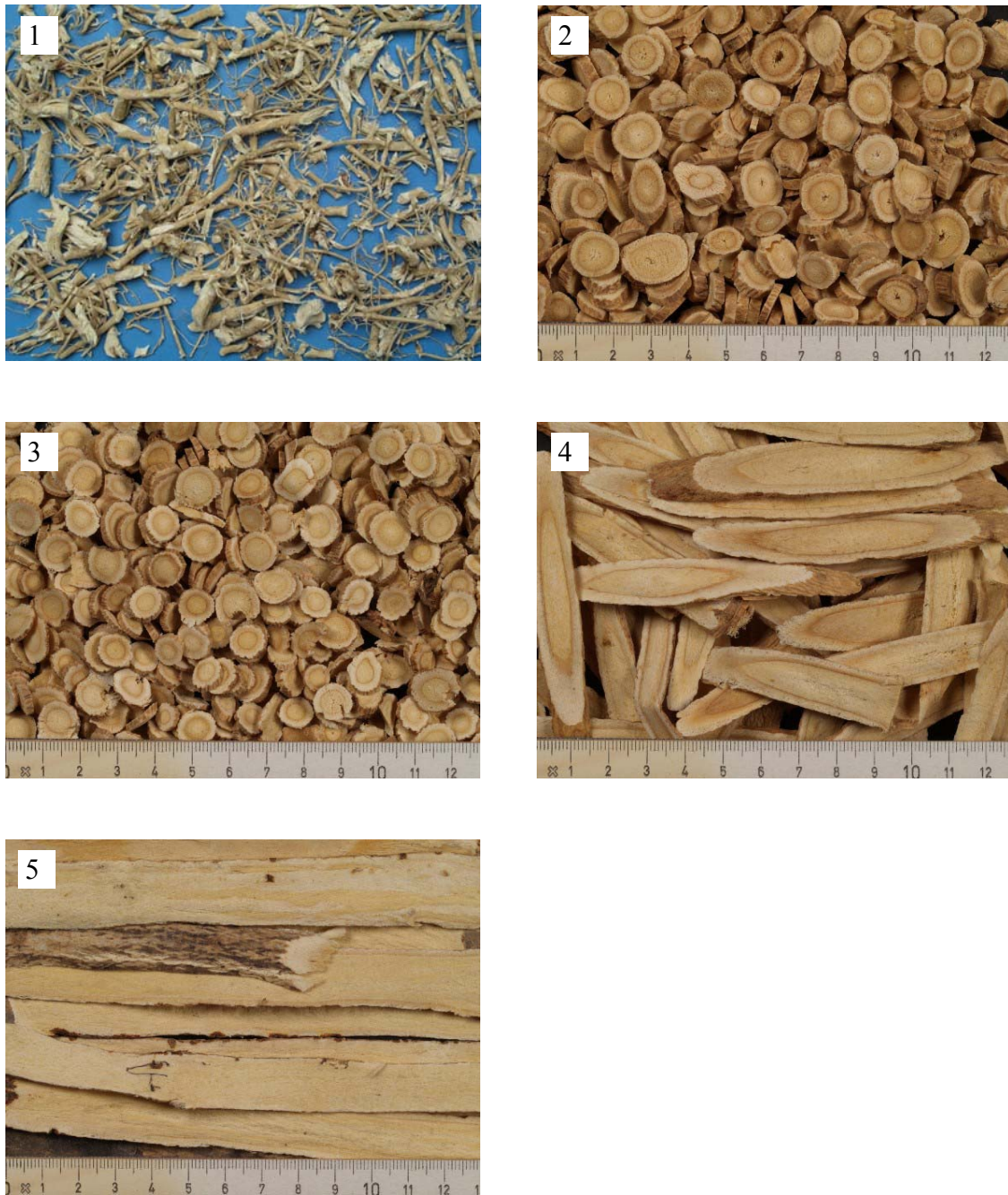


Abb. 31: *Astragalus mongholicus* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-5)



Abb. 32: *Bupleurum chinense* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-5)



Abb. 33: *Salvia miltiorrhiza* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-8)



Abb. 34: *Saposhnikovia divaricata* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-5)



Abb. 35: *Scutellaria baicalensis* – repräsentative Versuchs- (1) und Handelsdrogen (2-6)

3.1.2 Untersuchungen

Die so gewonnenen und in drei Jahrgänge eingeteilten Versuchs- und Handelsproben wurden vom akkreditierten und GMP-zertifizierten Labor der Fa. PhytoLab auf ihre Identität, Reinheit und Inhaltsstoffe auf der Basis folgender Regelwerke untersucht (Tab. 16): Monographien des Chinesischen Arzneibuchs (Ch. P.) 2000 (5), Europäisches Arzneibuch 4.0/5.0 (44), Arzneimittel-Kontaminanten-Empfehlung - Schwermetalle des Bundesgesundheitsministeriums (3), Mykotoxinhöchstmengenverordnung (MHmV) (13), Aflatoxinverbotsverordnung (6). Außerdem wurden von je 3 VP und HP zusätzlich die Gehaltsbestimmungen durchgeführt, die neu in die englische Übersetzung des Ch.P. von 2005 (9) aufgenommen wurden. Die Untersuchungen auf Pestizidrückstände (44), Aristolochiasäure (14), sowie polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK's) (11) und Acrylamid in Wurzeldrogen wurden nur an HP vorgenommen, da diese Stoffe in den VP auf Grund der bekannten Anbau- und Aufbereitungsmethoden nicht auftreten können. Die sensorischen Eigenschaften wurden von der Fa. Kräuter Mix durch geschulte Prüfer an den Aufgüssen aus pulverisierten Einzeldrogen beurteilt, wobei sich die Konzentrationen am Ch. P. (5) orientierten. Dabei wurden sowohl der nach Ch. P. (5) charakteristische Geschmack, d. h. artspezifisch bitter, süß, scharf oder aromatisch (Flavour) mit Noten von 0 bis 10, als auch darüber hinaus auftretende Geschmacksrichtungen, Aromanoten und Fehlnoten bewertet. Versuchs- und Handelsproben einer Art und eines Jahrgangs wurden immer gemeinsam geprüft, damit diese direkt miteinander verglichen werden können.

Tab. 16: Im Qualitätsvergleich untersuchte Parameter und Probenzahl (N) je Art

Parameter	Regelwerk	Proben aus	
		Versuch	Handel
Identität			
Identität	Ch.P. 2000 (5)	10	10
Sensorische Eigenschaften	Ch.P. 2000 (5)	10	10
Reinheit			
Schwermetalle Pb, Cd, Hg	Kontaminanten- empfehlung (3)	10	10
Pestizidrückstände	Ph. Eur. 4.0/5.0 (44), BVL (26) RHmV (8)	10	-
Mikrobiologie	Ph. Eur. 4.0/5.0 (44)	5-10	10
Mykotoxine	MHmV (13), Aflatoxin-VVO (6) EU-VO 123/2005 (10)	10	1
Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe	EU-VO 208/2005 (11)	-	10*
Acrylamid	BVL (27)	-	10*
Aristolochiasäure	DAC (14)	-	10
Gehaltsbestimmungen			
Artspezifische Inhaltsstoffe und Extrakte	Ch.P. 2000 (5)	10	10
Artspezifische Inhaltsstoffe und Extrakte	Ch.P. 2005 (9)	3	3

* nur in Wurzelndrogen, die laut Ch.P.-Monographie (5, 9) auch nach *Paozhi* zubereitet werden können.

3.2 Identität von Versuchs- und Handelsproben

3.2.1 Identität nach Ch. P. 2000 (2)

Die Identität aller Versuchsproben wurde mittels Dünnschichtchromatographie, mikroskopisch, makroskopisch, im Geruch und Geschmack und z. T. mittels chemischer Nachweisreaktionen der Ch. P. (5) gesichert. Die Versuchsdrogen von *Artemisia scoparia* waren zwar deutlich schwächer behaart als die Handelsdrogen (Abb. 26), jedoch konnte die Pflanzenart vorab schon anhand von DNA-Sequenz-Untersuchungen abgesichert werden. Bei den Handelsdrogen entsprachen bis auf zwei Proben alle den Identitätsvorgaben. Die Ablehnungsgründe waren: gelb-braun statt grün gefärbte Droge und negativer qualitativer Stachydrinnachweis (DC) bei Herba Leonuri, sowie Verfälschung mit der Droge eines Lippenblütlers in Herba Sigesbeckiae. Es trat keine Verfälschung mit Radix Aristolochiae auf, was über die Abwesenheit von Aristolochiasäure nachgewiesen wurde.

3.2.2 Identität – Sensorische Eigenschaften

Die Vielzahl der Komponenten, die zum sensorischen Eindruck einer Droge bzw. deren Aufguss beitragen, führen dazu, dass eine verallgemeinernde Aussage über die Vergleichbarkeit der Drogen aus Versuchsanbau und Handel zu kurz greift. Dennoch kann gesagt werden, dass die Versuchs- und Handelsproben überwiegend den Vorgaben des Ch. P. (5) entsprachen. Bei jeder Droge gab es spezifische Ähnlichkeiten und Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen, aber auch Variabilität innerhalb einer Gruppe. In einigen Fällen traten auch Fehlnoten auf. Dies soll im Folgenden an einigen Beispielen aufgezeigt und Zusammenhänge diskutiert werden.

Radix Angelicae dahuricae wird als scharf, bitter und aromatisch beschrieben. Die Wurzeldrogen aus dem Handel waren milder, die aus Versuchsanbau deutlich kräftiger in diesen Parametern. Dabei bestanden Unterschiede zwischen den beiden genetischen Herkünften aus dem Versuchsanbau, eine der beiden war den Handelsdrogen ähnlicher. Die Verkostung einer zwei Jahre länger gelagerten Versuchsprobe gleicher Herkunft ergab, dass die sensorische Intensität in diesem Zeitraum nicht nachgelassen hatte. Ein kausaler Zusammenhang zwischen den oben genannten Geschmacks- und Aromakomponenten und dem Gehalt an ätherischem Öl zeichnete sich in den Untersuchungsjahren ab, in denen Drogen mit Ölgehalten $>0,1\%$ im Vergleich enthalten waren.

Der Einfluss der genetischen Herkünfte auf die sensorischen Eigenschaften wurde ebenfalls bei Radix Astragali, Radix Saposhnikoviae sowie Herba Artemisiae und Herba Sigesbeckiae beobachtet.

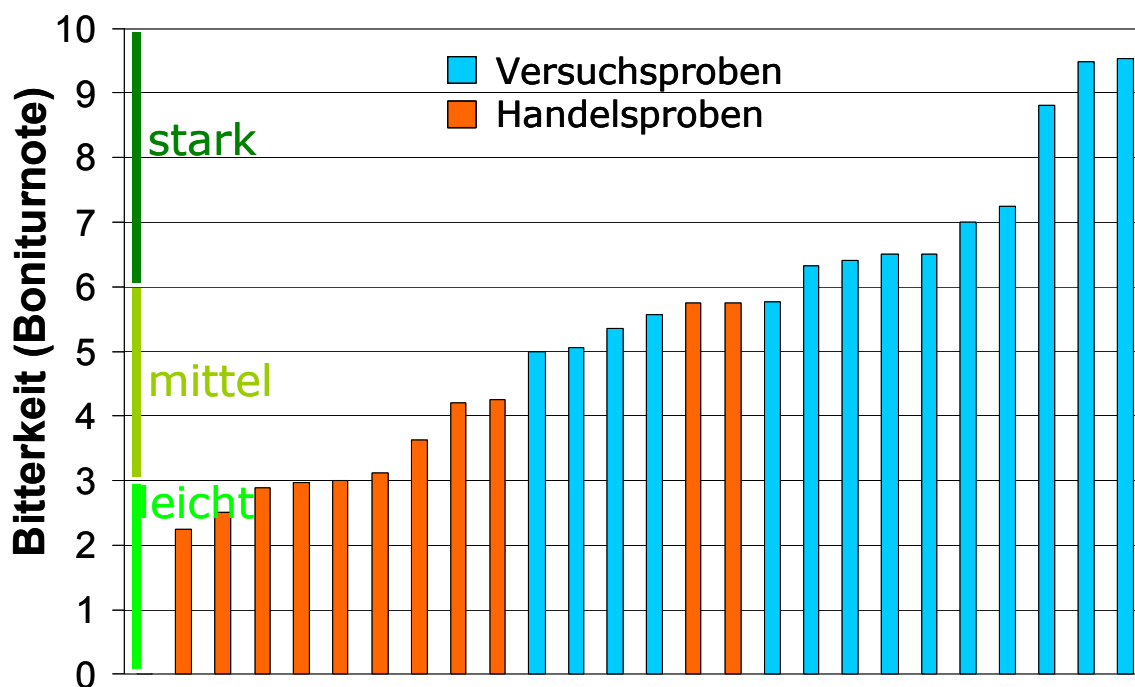


Abb. 36: Beurteilung der Bitterkeit einzelner Aufgüsse aus Versuchs- und Handelsproben von Herba Leonuri japonici

Das Ch. P. (5, 9) gibt für *Herba Leonuri japonici* einen leicht bitteren Geschmack an. Der überwiegende Teil der Handelsproben ist schwach bis mittel bitter, die Versuchsproben dagegen mittel bis sehr stark bitter (Abb. 36). Trotz klarer Tendenz gab es auch Unterschiede innerhalb der Versuchs- und Handelsproben. Um Ansätze für eine Reduzierung bzw. Kontrolle der Bitterkeit zu erhalten, wurden einige potenzielle Einflussparameter betrachtet. Trotz geringer Probenzahl ergaben sich deutliche Hinweise. Das Alter der Drogen ist eine nahe liegende Ursache, da die aus Asien importierten Drogen nach Bündelung, Zwischenlagerung, Seeweg und Distribution in Deutschland sicher älter sind als die Drogen aus dem Versuchsanbau. Drei Versuchs- und eine Handelsprobe wurden nach der ersten Verkostung ein Jahr gelagert und erneut geprüft. Die Aufgüsse von zwei extrem bitteren Versuchsdrogen wurden dadurch deutlich milder und besser genießbar (Abb. 37). Auch die vor der Lagerung etwas mildere Versuchsprobe und eine Handelsprobe verloren durch die einjährige Lagerung an Bitterkeit. Ein weiterer Einfluss zeigte sich in der Verkostung von Dekokten aus reiner Blatt- bzw. Stängeldroge der selben, ungelagerten und stark bitteren Versuchsprobe. Der Aufguss aus Blättern war extrem bitter (Boniturnote >9), im Aufguss aus Stängeln war die Bitterkeit kaum wahrnehmbar (Boniturnote <1). Auf Grund der gewonnenen Erkenntnis ist zu überlegen, ob in einer Monographie für *Herba Leonuri* im Europäischen Arzneibuch im Sinne einer gleichbleibenden Drogenqualität ein maximaler Stängelanteil festgelegt werden muss. Vergleicht man das Aussehen von Versuchs- und Handelsproben, so wird an den repräsentativen Beispielen von Abbildung 27 deutlich, dass die Versuchsprobe sehr viel frischer aussieht und einen höheren Blattanteil und damit beide Bitterkeit fördernde Eigenschaften aufweist im Vergleich zu den Handelsproben. Ob die Dosierung von *Herba Leonuri* in einer Rezeptur hinsichtlich Geschmack und Wirkung daher anzupassen ist, muss der behandelnde Arzt entscheiden. Erste Hinweise auf eine stärkere Wirkung der frischen Drogen gibt es bereits (23).

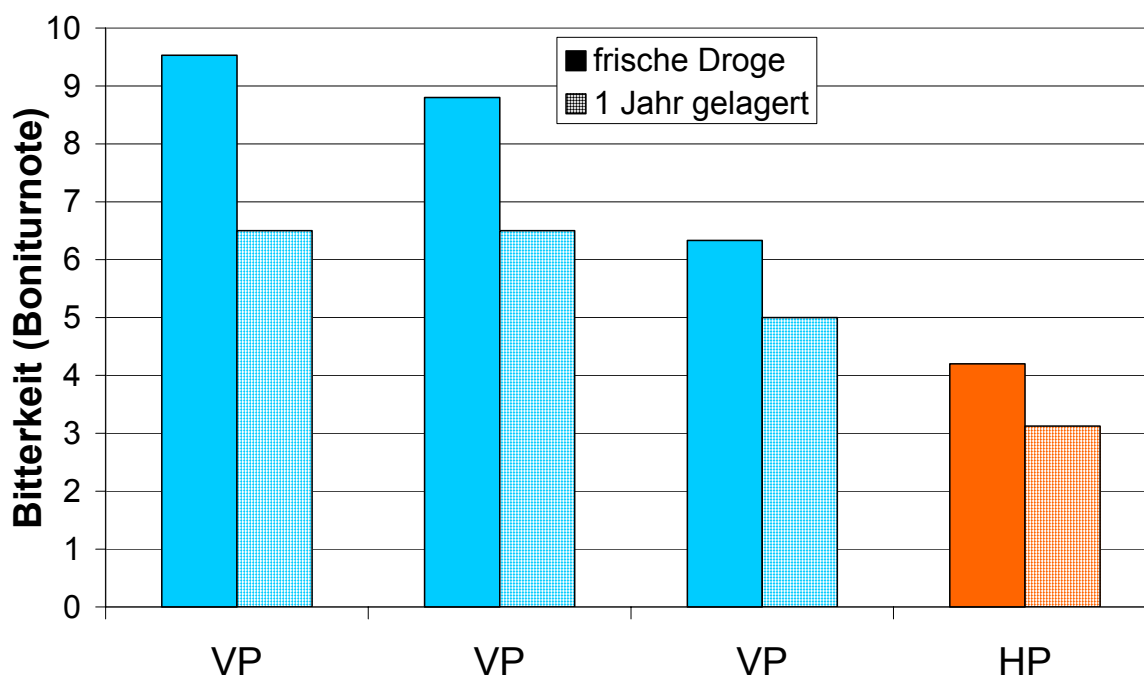


Abb. 37: Bitterkeit der Aufgüsse einzelner Versuchs- (VP) und Handelsproben (HP) von *Herba Leonuri japonici* vor und nach 1-jähriger fachgerechter Lagerung

Das für *Radix Salviae miltiorrhizae* leicht bitter und adstringierend beschriebene Aroma (5) wurde sowohl in Versuchs- als auch Handelsproben mit leichter Variabilität vorgefunden. Es gab keine Hinweise, dass die Bitterkeit der Versuchsproben durch die genetische Herkunft, Zerkleinerungsmethode oder das Alter der Pflanze zum Erntezeitpunkt bedingt gewesen wäre. Beinahe alle Handelsproben wiesen eine unangenehme, modrige Fehlnote auf. Diese Fehlnote war in ähnlichem Umfang und Intensität in Handelsproben von *Spicae Prunellae* und *Herba Sigesbeckiae* wahrzunehmen, sowie in einzelnen Fällen auch bei allen anderen Handelsdrogen-Arten. Die Versuchsproben wurden dagegen als angenehm frisch beurteilt. Der modrige Geschmack bzw. Geruch deutet auf Verderb der Droge hin, der durch zu langsame Trocknung oder Rückfeuchtung während Lagerung und Transport („Schwitzen“ durch Temperatur- und Feuchteschwankungen) verursacht sein könnte.

3.3 Reinheit der Versuchs- und Handelsproben

3.3.1 Reinheit – Schwermetalle

Bei den Krautdrogen fielen alle Handelsproben durch mehr oder weniger erhöhte Blei(Pb)-Gehalte auf (Tab. 17), wobei eine oder zwei Proben je Drogenart den empfohlenen Maximalgehalt von 5 mg Pb/kg (3) überschritten hatten. Die Bleigehalte der Wurzel-drogen der Versuchs- und Handelsproben lagen auf niedrigem Niveau unter 1 mg Pb/kg.

Tab. 17: Durchschnittliche Schwermetallgehalte (mg/kg) in Versuchs- (VP) und Handelsproben (HP) von TCM-Drogen (N=10)

Max. Gehalt (3)	Blei		Cadmium		Quecksilber		Arsen	
	5 mg/kg		0,2 mg/kg		0,1 mg/kg		--	
	VP	HP	VP	HP	VP	HP	VP	HP
Krautdrogen								
<i>Artemisia scoparia</i>	2,0	6,3	0,75	0,66	0,01	0,13	0,55	0,87
<i>Leonurus japonicus</i>	0,5	2,5	0,06	0,07	0,01	0,02	0,31	0,46
<i>Prunella vulgaris</i>	0,3	3,7	0,04	0,17	0,01	0,02	0,21	0,26
<i>Sigesbeckia pubescens</i>	0,3	3,1	0,41	0,25	0,01	0,03	0,07	0,36
Wurzel-drogen								
<i>Angelica dahurica</i>	0,2	0,4	0,43	0,08	n.n.*	0,06	0,21	0,67
<i>Astragalus mongholicus</i>	0,2	0,2	0,06	0,01	n.n.*	0,01	0,33	0,11
<i>Bupleurum chinense**</i>	0,5	0,9	0,32	0,05	0,01	0,02	0,39	0,37
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	0,3	0,4	0,11	0,02	0,01	0,01	0,49	0,18
<i>Saposhnikovia divaricata</i>	0,2	0,6	0,59	0,03	0,01	0,01	0,22	0,26
<i>Scutellaria baicalensis</i>	0,4	0,8	0,06	0,03	n.n.*	0,02	0,35	0,86

* n.n.: nicht nachweisbar

** bei VP: N=5

Das Schwermetall Cadmium (Cd) war in den Versuchsproben durchschnittlich in höheren Konzentrationen enthalten als in den Handelsproben. Dies ist auf die speziellen Bedingungen am Versuchsstandort Baumannshof zurückzuführen, von dem die meisten der Proben stammen. Der Boden ist sehr sandig und leicht sauer, wodurch Cd für die Pflanzen besser verfügbar ist als auf einem etwas schwereren Boden oder einem Boden mit neutralem pH-Wert. Alle Versuchsproben von Radix Astragali, Herba Leonuri, Spicae Prunellae, Radix Salviae und Scutellariae unterschritten in der Regel den empfohlenen Maximalgehalt von 0,2 mg Cd/kg (3). Dagegen konnte bei Herba Artemisiae und Sigesbeckiae sowie Radix Angelicae, Bupleuri und Saposhnikoviae der Maximalgehalt nicht immer eingehalten werden. Bei *Artemisia scoparia* und *Sigesbeckia pubescens* enthielten auch die Handelsproben überwiegend über 0,2 mg Cd/kg (vgl. Abb. 38 für *Artemisia scoparia*). Diese beiden Arten zählen zu den sogenannten Cadmiumakkumulatoren, deren spezifische Eigenschaft es ist, Cd besonders stark aufzunehmen und im Pflanzengewebe anzureichern. Auch einige europäische Arzneipflanzen, darunter ein weiterer Vertreter der Gattung *Artemisia*, gehören zu dieser besonderen Pflanzengruppe (38). Für stoffwechselbedingte höhere Aufnahmen von Cd sind höhere Gehalte in Arzneidrogen zulässig (14). In der Praxis wird spezifisch für jede Art der Gehalt des 90 %-Perzentils als Maximalgehalt akzeptiert, wie von Kabelitz vorgeschlagen wurde (38). Aber auch diese Gehalte wurden von einer Reihe der VP und HP überschritten (31). Im Hinblick auf die Verbrauchersicherheit untersuchte Dekokte von *Artemisia scoparia* Drogen mit besonders hohem Cd-Gehalt wiesen allerdings um den Faktor 100 niedrigere Gehalte auf!

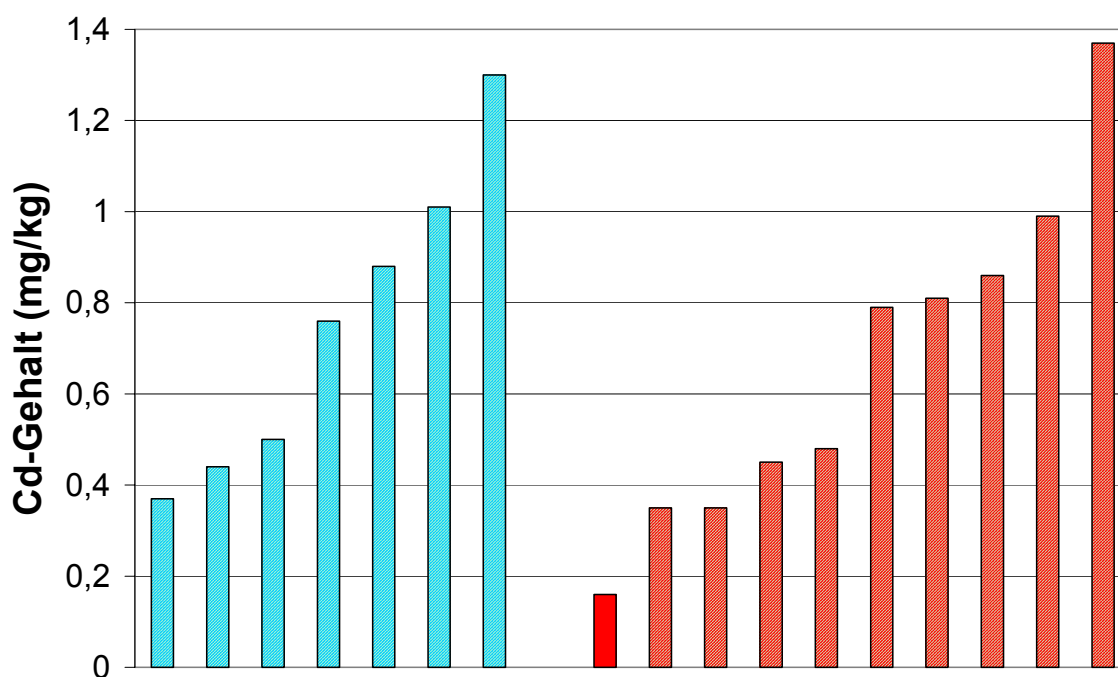


Abb. 38: Cadmium Gehalt (mg/kg) einzelner Versuchs- (blau) und Handelsproben von Herba Artemisiae Scopariae

Beim Anbau insbesondere von *Artemisia scoparia* und *Sigesbeckia pubescens* müssen alle Möglichkeiten genutzt werden, die Kontamination mit Cd zu minimieren. Dazu gehört die Kultivierung auf ausgewählten, vorab untersuchten schwereren, humusreichen Böden mit besonders geringem Cd-Gehalt und neutralem pH-Wert sowie die Entwicklung von Sorten mit geringerer Neigung zur Akkumulation.

Die Untersuchung auf Quecksilber (Hg) ergab, dass die VP vollständig, die HP weitgehend in Ordnung waren, teilweise war dieses Schwermetall sogar nicht nachweisbar. Bei drei HP lag der Hg-Gehalt mit bis zu 0,84 mg Hg/kg deutlich über dem empfohlenen Maximalgehalt von 0,1 mg Hg/kg (3)!

In einigen Drogenarten fielen einzelne Handelsproben durch insgesamt überhöhte Schwermetallgehalte (auch Arsen) auf, welche zum Teil weit über den empfohlenen Maximalgehalt lagen. Möglicherweise stammten diese Drogen von kontaminierten Standorten. Dieses Risiko kann im kontrollierten und dokumentierten landwirtschaftlichen Anbau dieser Heilpflanzen durch die Auswahl geeigneter Anbauflächen deutlich reduziert werden.

3.3.2 Reinheit – Pestizide

Im Versuchsanbau wurden keine Pestizide eingesetzt, da dies auch im Praxisanbau von chinesischen Heilpflanzen in Deutschland nicht zulässig ist. Daher wurden nur die Handelsproben auf Pestizidrückstände untersucht und ihre Ergebnisse in Tabelle 18 zusammengefasst.

Tab. 18: Pestizidrückstände (8, 26, 44) in Handelsproben von TCM-Drogen (N=10)

	Proben ohne Rückstände	Anzahl Rückstände*	Proben mit Grenzwert-Überschreitungen
Krautdrogen			
<i>Artemisia scoparia</i>	1	33	1
<i>Leonurus japonicus</i>	3	11	1
<i>Prunella vulgaris</i>	1	12	5
<i>Sigesbeckia pubescens</i>	0	14	1
Wurzeldrogen			
<i>Angelica dahurica</i>	7	4	0
<i>Astragalus mongholicus</i>	7	4	1
<i>Bupleurum chinense</i>	1	16	0
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	4	9	2
<i>Saposhnikovia divaricata</i>	7	4	0
<i>Scutellaria baicalensis</i>	5	5	0

* aufsummiert über Wirkstoffe und Proben

Nur einzelne Handelsproben der Krautdrogen bzw. Spicae (Scheinähren) waren frei von Pestizidrückständen. Meist wurden ein oder zwei, bei *Artemisia scoparia* oft noch mehr Rückstände verschiedener Pestizide nachgewiesen. Bei den gefundenen Rückständen handelte es sich überwiegend um Insektizide und deren Hilfsstoffe. Dies zeigt, dass bei Produktion und Lagerung Pestizide eingesetzt werden, wobei auch Sammelware betroffen sein kann durch den Einsatz von Insektiziden als Vorratsschutz. In den meisten Fällen handelte es sich um niedrige Pestizidkonzentrationen unter den zugelassenen Rückstandshöchstmengen. Dennoch wurden in 8 von 40 Proben, d. h. in 20 % der Proben Pestizidrückstände über der Höchstmenge gefunden (8, 17, 26, 44)! Die Spicae von *Prunella vulgaris* waren besonders häufig betroffen. Besonders häufig war der Gehalt von S421 erhöht, ein Octachlordipropylether, der zur Stabilisierung bestimmter Insektizide eingesetzt wird. Da für diesen Hilfsstoff vom Europäischen Arzneibuch, von der RHmV und vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) (8, 26 bzw. 44) noch keine eigene Rückstandshöchstmenge festgelegt wurde, gilt ein Grenzwert von 0,01 mg/kg. Sollte der Grenzwert für S421, wie aktuell in den Gremien diskutiert, auf z. B. 0,02 mg/kg angehoben werden, würden unter Beachtung einer Toleranzschwelle von 0,04 mg/kg immer noch 3 Handelsproben von Spicae *Prunellae* unzulässig hohe Gehalte aufweisen.

Bei den Handelsproben der Wurzeldrogen wurden insgesamt weniger Pestizidrückstände gefunden. Ungefähr die Hälfte der Proben war sogar rückstandsfrei. Eine Ausnahme stellt Radix Bupleuri mit nur einer rückstandsfreien Probe dar. Bei Wurzeldrogen mit Rückständen wurden 1-2 Pestizide je Probe nachgewiesen, deren Gehalte jedoch meist unter den Rückstandshöchstmengen lagen (8, 17, 26, 44). Wie bei den Krautdrogen herrschen auch bei den Wurzeldrogen Insektizide und deren Hilfsstoffe vor, die auch im Drogenlager zum Einsatz gekommen sein können. In drei Proben der Wurzeldrogen war die Rückstandshöchstmenge verschiedener Pestizide überschritten.

Die Rückstandsuntersuchungen zeigen, dass Pestizide generell Anwendung finden, insbesondere bei Krautdrogen. Folglich muss bei fehlender Kenntnis über die Entstehungsgeschichte einer Drogencharge das ganze Spektrum der Pestizidwirkstoffe untersucht werden, um zu gewährleisten, dass die Droge verkehrsfähig ist. Die Kosten dafür sind erheblich. Hinzu kommt, dass in heterogenen Chargen z. B. aus Sammelware oder kleinflächigem Anbau eine repräsentative Probenahme erschwert wird, und damit die Aussage des Ergebnisses weniger sicher ist. Bei Ware aus dokumentiertem und kontrolliertem Anbau oder auch dokumentierter Sammlung und entsprechender Lagerung kann bei Einsatz von Pestiziden ganz gezielt auf die speziellen Rückstände untersucht und somit Untersuchungsaufwand und -kosten verringert werden. Oder es kann ganz auf die Rückstandsuntersuchung verzichtet werden, wenn keine Pestizide angewandt werden, und die Anbauflächen nachweislich rückstandsfrei sind, wie dies im deutschen Anbau der Fall ist. In Deutschland sind für diese Arzneipflanzengruppe keine Pestizide zugelassen oder genehmigt, so dass diese im heimischen Anbau generell gegenwärtig nicht eingesetzt werden dürfen.

3.3.3 Reinheit – Mikrobiologie und Mykotoxine

Der Mikroorganismenbesatz aller Wurzeldrogen aus Versuchsanbau und weitgehend aller Handelsproben entsprach den Vorgaben des Ph. Eur. 4.0 und 5.0 Kategorie 4a (pflanzliche Arzneimittel, denen vor der Anwendung kochendes Wasser hinzugefügt wird) und weitgehend auch Kategorie 4b (pflanzliche Arzneimittel, denen vor der Anwendung kein kochendes Wasser hinzugefügt wird) (44). Eine detaillierte Darstellung ist in Tabelle 19 zu

finden. Bei einzelnen Krautdrogen aus dem Versuchsanbau kam es zu Überschreitungen der Grenzwerte nach Kategorie 4a. Dies war vor allem darauf zurückzuführen, dass an einem der beiden Versuchsstandorte das Pflanzenmaterial nicht sofort optimal getrocknet werden konnte. Insbesondere auf *Spicae Prunellae* mit ihrer besonderen Morphologie (Abb. 28) konnten sich die Mikroorganismen überdurchschnittlich stark vermehren, da sie bei Trocknung mit nicht-erwärmter Luft besonders lange feucht blieben. Dies unterstreicht die Bedeutung einer raschen, professionellen Trocknung in der Praxis der Heilpflanzenproduktion. Trotz der niedrigen Durchschnittswerte wiesen einzelne Handelsproben von Kraut- und Wurzeldrogen einen überhöhten Besatz mit Mikroorganismen auf, wobei die Grenzwertüberschreitungen auch *Escherichia coli* betrafen (bis zu 10^4 KBE/g Droge bei *Leonurus japonicus*). Ein nennenswerter Anteil der Handelsproben fiel durch extrem niedrige Keimzahlen auf, die auf die Durchführung bestimmter, in Europa nur nach Registrierung zulässiger, keimreduzierender Maßnahmen im Verlauf des Produktions- bzw. Handelsprozesses hinweisen.

Die Kontamination von Arzneidroge mit Mykotoxinen ist bislang nur für Aflatoxine in der Aflatoxinverbotsverordnung geregelt (6). Für Ochratoxin A gibt es Grenzwerte u.a. für Säuglingsnahrung von 0,5 µg/kg und für getrocknete Weintrauben von 10 µg/kg (10). Letzterer wurde zur Beurteilung der Versuchs- und Handelsproben herangezogen. In den Versuchsproben, von denen nur 1-2 Proben je Art untersucht wurden, konnten keine Aflatoxine nachgewiesen werden, jedoch in 2 Proben Ochratoxin A weit unter 10 µg/kg. Ebenso waren in den Handelsproben kaum Aflatoxine zu finden (2 von 100 HP, unter Grenzwert). Dagegen war in 33 von 100 Handelsproben Ochratoxin A nachweisbar, davon 10 Proben mit weit über 10 µg/kg (bis über 3000 µg/kg). Besonders belastet waren *Radix Astragali*, *R. Bupleuri* und *R. Salviae*.

Tab. 19: Mikrobiologische Reinheit der Versuchs- (VP) und Handelsproben (HP) von TCM-Drogen: *Durchschnittliche* Anzahl Kolonien bildender Einheiten (KBE/g) und Anteil verkehrsfähiger Proben nach Ph. Eur. 4.0/5.0 (44); Kat.4a: VP N=5-10, HP N=10; Kat.4b: VP u. HP N=2-5

	Gesamtkeimzahl (KBE/g)		Schimmel u. Hefen (KBE/g)		E. coli (KBE/g)		Verkehrsfähige Proben (%)			
Max. Anzahl KBE/g nach Kat. 4a (44)	10 ⁷		10 ⁵		10 ²		Kat. 4a		Kat. 4b	
	VP	HP	VP	HP	VP	HP	VP	HP	VP	HP
Krautdrogen										
<i>Artemisia scoparia</i>	10 ⁷	10 ⁶	10 ³	10 ³	<10 ^{2†}	<10 ²	71	100	33	60
<i>Leonurus japonicus</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ³	10 ³	<10 ²	<10 ^{2**}	100	90	0	100
<i>Prunella vulgaris</i>	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁴	<10 ²	<10 ^{2**}	25	70	0	--*
<i>Sigesbeckia pubescens</i>	10 ⁶	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	<10 ²	<10 ²	86	90	--*	--*
Wurzel drogen										
<i>Angelica dahurica</i>	10 ⁵	10 ⁵	10 ²	10 ¹	<10 ²	<10 ²	100	100	100	100
<i>Astragalus mongholicus</i>	10 ⁵	10 ⁶	10 ²	10 ³	<10 ²	<10 ²	100	80	100	33
<i>Bupleurum chinense</i>	10 ⁶	10 ⁵	10 ²	10 ³	<10 ²	<10 ²	100	--*	100	67
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ²	n.n.	<10 ²	<10 ²	100	100	100	100
<i>Saposhnikovia divaricata</i>	10 ⁵	10 ⁵	10 ³	10 ²	<10 ²	<10 ²	100	100	67	100
<i>Scutellaria baicalensis</i>	10 ⁴	10 ⁶	n.n.	10 ¹	<10 ²	<10 ^{2**}	100	90	--*	--*

* nicht untersucht; ** 1 Probe abweichend, über Grenzwert; n.n.=nicht nachweisbar

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung zeigen wie wichtig es ist, auf allen Ebenen der Produktion bei Düngung, Ernte, Trocknung, Lagerung und Transport mit den richtigen Methoden und Bedingungen den mikrobiologischen Status so gering wie möglich zu halten. Zu hohe Keimzahlen können zwar durch geeignete (und teure) Maßnahmen effektiv reduziert werden, die Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen, zu denen die Mykotoxine gehören, bleiben davon aber unberührt!

3.3.4 Reinheit – Acrylamid und PAK's

Eine Reihe von TCM-Drogen, darunter auch die Wurzeln von *Astragalus mongholicus*, *Bupleurum chinense*, *Salvia miltiorrhiza* und *Scutellaria baicalensis*, werden nach traditionellen Verfahren, dem sogenannten *Paozhi* zubereitet. Dazu gehören Verfahren, in denen die Drogen trocken oder mit weiteren Zutaten (z. B. Honig, Wein, Essig) geröstet oder gekocht werden (5, 9). Durch die Hitzeeinwirkung können unerwünschte, potenziell toxische Stoffe wie Acrylamid und PAK's entstehen. Daher wurden die Handelsproben der

oben genannten Arten auf diese Stoffe untersucht, auch wenn es keine spezifischen Grenz- oder Richtwerte gibt (Tab. 20).

Tab. 20: Häufigkeiten (N) der Gehalte ($\mu\text{g/kg}$) von Acrylamid und Benzo(a)pyren in ausgewählten Handelsproben von TCM-Drogen

	Acrylamid		Benzo(a)pyren	
	Gehalt ($\mu\text{g/kg}$)	N	Gehalt ($\mu\text{g/kg}$)	N
<i>Astragalus mongholicus</i>	<1	3	<1	10
	26-188	6	1-5	0
	13600	1	5-10	0
<i>Bupleurum chinense</i>	<1	7	<1	7
	22-69	3	1-5	3
			5-10	0
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	<1	9	<1	4
	773	1	1-5	4
			5-10	2
<i>Scutellaria baicalensis</i>	<1	9	<1	8
	61	1	1-5	2
			5-10	0

Acrylamid, das ab $0,1 \mu\text{g/kg}$ nachweisbar ist (HPLC-MS/MS), war in den meisten der untersuchten HP nicht nachweisbar. Lediglich 6 HP von Radix Astragali wiesen Gehalte von 23-188 $\mu\text{g/kg}$ und eine sogar 13600 $\mu\text{g/kg}$ Acrylamid auf. Da Acrylamid bei hoher Hitze unter Anwesenheit von Zuckern entsteht, liegt das Paozhi-Verfahren „mizhi“ der Röstung mit Honig nahe. Auch eine nicht-repräsentative Befragung von Handelsfirmen ergab, dass ca. 20 % der Radix Astragali Chargen diesem Verfahren unterzogen worden sind (56). Für Acrylamid sind keine Maximalgehalte vorgeschrieben. Jedoch werden Signalwerte (90 %-Perzentil einer Produktgruppe) festgesetzt, bei deren Überschreitung ein Hersteller den Produktionsprozess optimieren muss (27). Die Signalwerte von Backwaren, Kartoffel- und Kaffeeprodukten liegen bei maximal 1000 $\mu\text{g/kg}$, so dass der oben genannte extrem hohe Acrylamidgehalt auf eine unsachgemäße Verarbeitung hinweist.

PAK's waren bei gaschromatographischer Untersuchung mit massenspektrometrischer Detektion (GC/MS) nur in zwei von 16 HP in geringen Mengen nachweisbar. Nach Umstellung des Nachweises auf empfindlichere HPLC-Analytik mit Fluoreszenz Detektion konnten noch geringere Mengen vieler verschiedener PAK-Einzelstoffe nachgewiesen werden. Benzo(a)Pyren wurde als Markersubstanz herangezogen, für die es folgende

Grenzwerte gibt: 1 µg/kg in Säuglingsnahrung, 5 µg/kg in geräuchertem Fleisch (11). Bis auf zwei Ausnahmen (*Radix Salviae miltiorrhizae*) lagen die Gehalte deutlich unter 5 µg/kg, bei mehr als der Hälfte der HP sogar unter 1 µg/kg Benzo(a)Pyren. Röstverfahren scheinen bei *Radix Salviae miltiorrhizae* häufiger und etwas seltener bei *Radix Bupleuri* und *Radix Scutellariae* angewandt worden zu sein. Nach Torres-Londoño et al. (56) werden diese Drogen mit Wein oder Essig geröstet.

3.4 Gehaltsbestimmungen an Versuchs- und Handelsproben

Die spezifischen Gehalte an Inhaltsstoffen oder die gesamten extrahierbaren Bestandteile (Extraktgehalt) variierten je nach Drogenart unterschiedlich zwischen den Versuchs- und Handelsproben (Tab. 21 und Abb. 39).

Bei vielen Gehaltsbestimmungen lagen die VP und HP auf ähnlich hohem Niveau über dem geforderten Mindestgehalt: Baicalin und Extraktgehalt in *Scutellaria baicalensis*, Ursoläure und Extraktgehalt in *Prunella vulgaris*, Extraktgehalt in *Bupleurum chinense* und *Saposhnikovia*.

Auch bei *Salvia miltiorrhiza* waren die Extrakt- (Kaltwasser und Heißeethanol) und Tanshinon-IIa-Gehalte der Drogen aus Versuchsanbau und Import vergleichbar. Jedoch lagen alle Gehalte für Heißeethanolextrakt deutlich unter dem Mindestgehalt von 15 % (9). Auch die Tanshinon-IIa-Gehalte lagen durchschnittlich unter dem Mindestgehalt von 0,2 % (5, 9), der nur von 2 VP und 1 HP knapp erreicht wurde. Für beide Gehaltsbestimmungen ist zu überlegen, ob der Mindestgehalt bzw. die Methode bei einer Überarbeitung der Monographie angepasst werden müsste (34).

Tab. 21: Gehalte (%) an spezifischen Inhaltsstoffen und Extrakten in Versuchs- und Handelsproben (VP bzw. HP) von TCM-Drogen

N: Gehalte nach (5) N=10; nach (9) N=3-7; nach (44) N=2-10

	Mindest- gehalt*	Mittelwert		Min - Max	
		VP	HP	VP	HP
Krautdrogen					
<i>Artemisia scoparia</i>					
Ätherisches Öl (44)	--	0,15	0,06	<0,01-0,47	<0,01-0,22
<i>Leonurus japonicus</i>					
Extrakt Heißwasser (9)	15,0	29,6	14,1	26,4-32,5	7,7-19,9
Flavonoide nach <i>Leonurus car- diaca</i> (44)	--	0,75	0,3	0,5-1,0	0,1-0,5
<i>Prunella vulgaris</i>					
Ursolsäure (9)	0,12	0,20	0,25	0,16-0,24	0,19-0,32
Extrakt Heißwasser (9)	10,0	18,1	16,6	17,3-19,3	13,6-21,6
<i>Sigesbeckia pubescens</i>					
Kirenol (9)	0,05	0,16	0,24	0,14-0,17	0,14-0,31

Tab. 21 Fortsetzung: Gehalte (%) an spezifischen Inhaltsstoffen und Extrakten in Versuchs- und Handelsproben (VP bzw. HP) von TCM-Drogen

	Mindest- gehalt*	Mittelwert		Min - Max	
		VP	HP	VP	HP
Wurzeldrogen					
<i>Angelica dahurica</i>					
Imperatorin (9)	0,08	0,41	0,13	0,11-0,57	0,08-0,15
Extrakt Heiethanol (9)	15,0	29,3	18,3	26,9-31,4	17,4-19,4
Ätherisches Öl (44)	--	0,11	0,04	<0,1-0,25	<0,1-0,07
<i>Astragalus mongholicus</i>					
Astragalosid IV (5)	0,04	0,16	0,03	0,1-0,2	0,01-0,06
Astragalosid IV (9)	0,04	0,13	0,05	0,06-0,21	0,04-0,05
Extrakt Kaltwasser (5, 9)	17,0	17,9	34,5	14,9-23,1	30,2-40,1
<i>Bupleurum chinense</i>					
Extrakt Heiethanol (5, 9)	11,0	21, 8	18,3	19,1-24,4	12,9-26,3
<i>Salvia miltiorrhiza</i>					
Tanshinon IIa (5, 9)	0,20	0,13	0,12	0,07-0,2	0,02-0,3
Salvianolsäure B (9)	3,0	11,0	4,2	10,8-11,2	3,4-5,1
Extrakt Kaltwasser (9)	35,0	64,7	60,3	61,9-67,7	55,8-64,7
Extrakt Heiethanol (9)	15,0	8,1	8,2	7,1-8,7	7,8-8,5
<i>Saposhnikovia divaricata</i>					
Prim-O-Glucosylcimifugin + 5-O-Methylvisamminosid (5, 9)	0,24	0,52	0,69	0,29-0,71	0,45-0,93
Extrakt Heiethanol (5, 9)	13,0	31,7	29,7	28,3-36,2	23,8-38,7
<i>Scutellaria baicalensis</i>					
Baicalin (5, 9)	9,0	14,0	13,2	10,7-17,0	9,9-17,8
Extrakt Heiethanol (9)	40,0	51,3	56,8	48,3-54,4	53,8-60,9

* nach Ch.P. 2000 (5) bzw. 2005 (9); -- ohne Ch.P.-Vorgabe, Methode nach Ph. Eur. 4.0/5.0 (44)

Die HP von *Saposhnikovia divaricata* und *Sigesbeckia pubescens* wiesen auf insgesamt hohem Niveau, weit über dem Mindestgehalt, einen etwas höheren spezifischen Inhaltsstoffgehalt auf als die VP.

Umgekehrt zeigten eine Reihe von VP einen deutlich höheren Inhaltsstoff- bzw. Extraktgehalt auf als die HP: Imperatorin, Extraktgehalt und ätherisches Öl in *Angelica dahurica*, Ätherisches Öl in *Artemisia scoparia*, Astragalosid IV in *Astragalus mongholicus* (beide Methoden nach (5) bzw. (9)), Salvianolsäure B in *Salvia miltiorrhiza* sowie Extraktgehalt in *Leonurus japonicus*. Einzelne HP von *Leonurus japonicus* erreichten nicht einmal den geforderten Extraktgehalt. Auch die Astragalosid IV Gehalte einzelner *Astragalus*-HP waren grenzwertig bis zu niedrig.

Der Extraktgehalt von *Astragalus mongholicus* lag in den HP mit durchschnittlich 34,5 % deutlich über dem geforderten Mindestgehalt. Von den VP übertrafen nur einzelne genetische Herkünfte den Mindestgehalt von 17 %. Eine dieser Herkünfte wurde für den Praxisanbau empfohlen und dort bereits angebaut. Im Entwurf der *Astragalus*-Monographie für das Europäische Arzneibuch wird voraussichtlich keine Bestimmung der extrahierbaren Bestandteile mehr gefordert sein, da mit der Astragalosid IV Gehaltsbestimmung bereits ein spezifischer Inhaltsstoff zur Qualitätssicherung beschrieben wird.

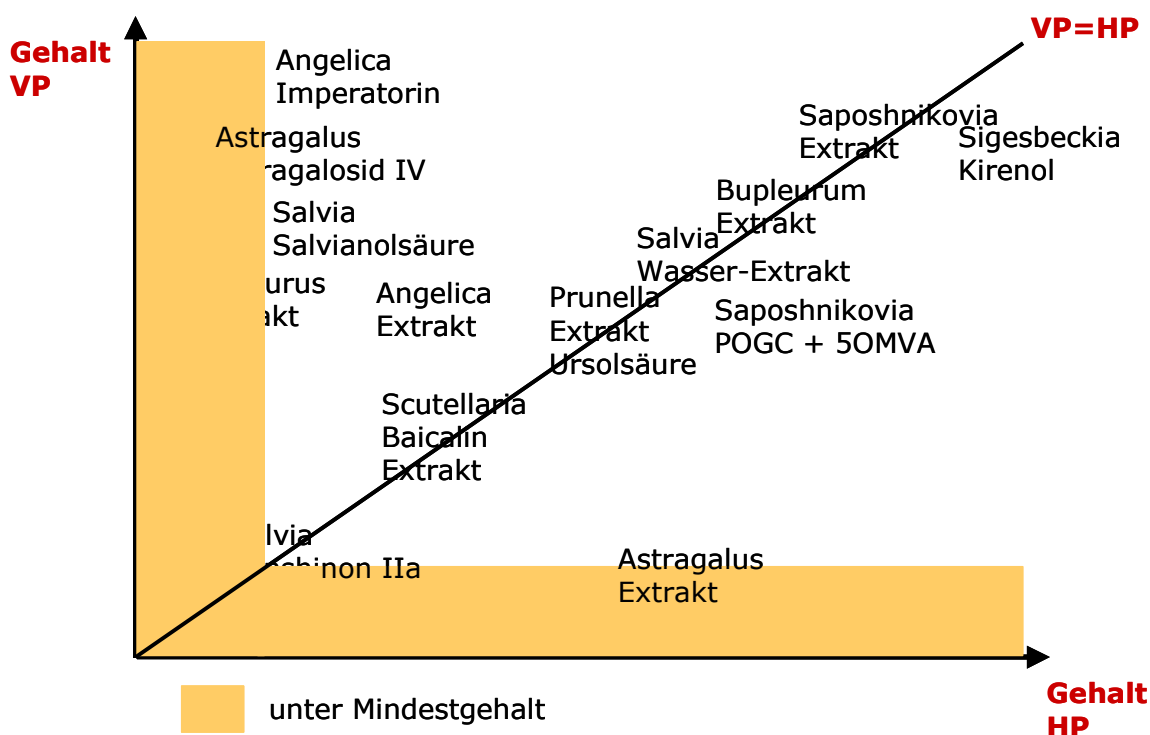


Abb. 39: Relative Gehalte an spezifischen Inhaltsstoffen und Extrakten von Versuchs- (VP) und Handelsproben (HP).

3.5 Schlussfolgerungen

3.5.1 Qualität der Handelsproben

Die großen Unterschiede innerhalb der HP lassen nicht vereinfacht von „der besonderen Qualität“ der Importdrogen aus China oder Asien sprechen. Betrachtet man alle Qualitätsparameter, für die es Mindest-, Grenz- bzw. Richtwerte gibt (inkl. Schwermetalle (gegebenenfalls 90 %-Perzentil), excl. Ochratoxin A, excl. Inhaltsstoffe, deren Bestimmungsmethode problembehaftet ist, excl. Ch. P. 2005 (9)), so waren lediglich 77 der 100 untersuchten Handelsproben verkehrsfähig! Die meisten Abweichungen traten bei den Krautdrogen bzw. den Spicae von *Artemisia scoparia* und *Prunella* auf (je nur 40 % der Proben verkehrsfähig), dagegen waren alle Handelsproben von *Saposhnikovia* und *Scutellaria* verkehrsfähig (Abb. 40). Auf Grund der umfassenden Analysen, die an jeder Probe durchgeführt wurden, musste der Probenumfang je Drogenart klein gehalten werden.

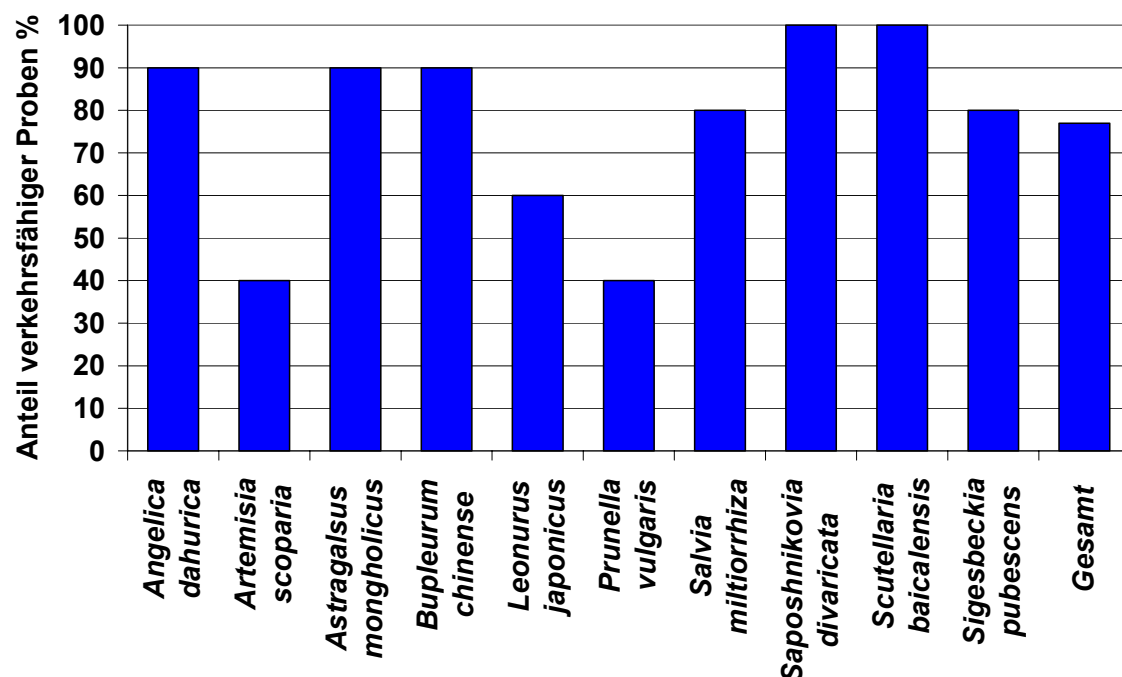


Abb. 40: Anteil (%) der Handelsproben je Art, die nach den eigenen Untersuchungen verkehrsfähig sind. (N=10)

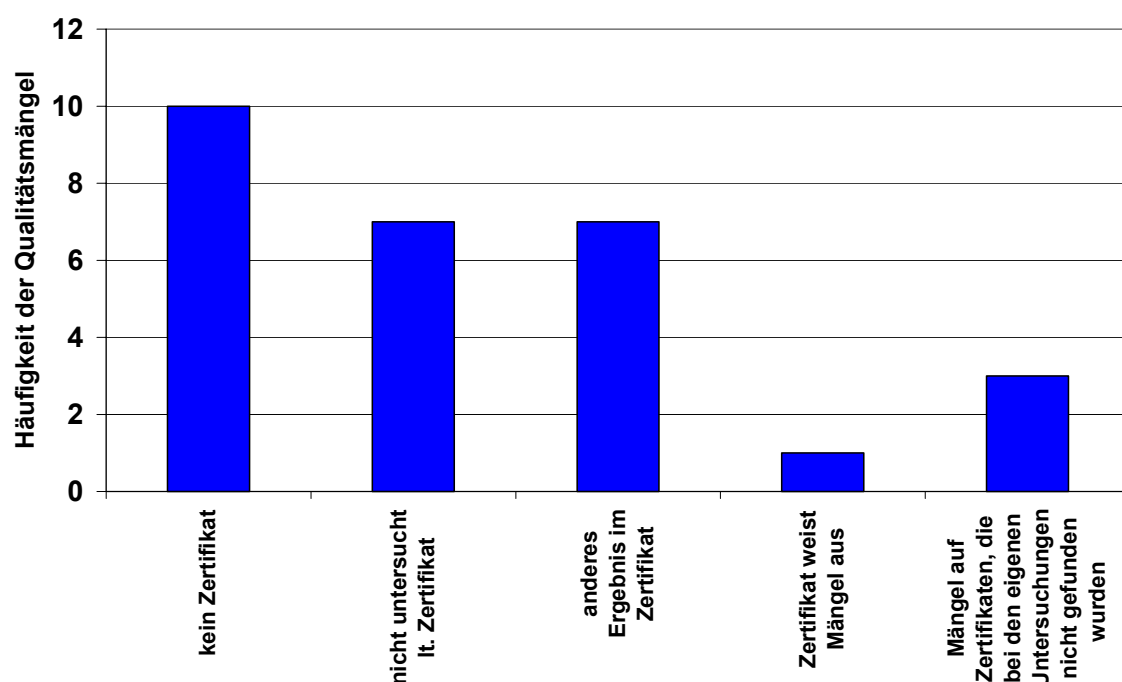


Abb. 41: Häufigkeit, mit der aufgetretene Qualitätsmängel auf den mit den Handelsproben mitgelieferten Analysenzertifikaten wiedergefunden wurde (Insgesamt N=25), bzw. Häufigkeit, mit der auf Zertifikaten ausgewiesene Mängel in der eigenen Untersuchung nicht wiedergefunden wurden.

Dieser ist sicher nicht ausreichend für eine repräsentative, statistisch gesicherte Aussage. Dennoch zeigen die Untersuchungen einige Schwachstellen auf.

Insgesamt wurden 25 Qualitätsmängel gefunden. Bei 10 der mit Mängeln behafteten Proben war mit der Ware kein Zertifikat gemäß §§6 und 11 der Apothekenbetriebsordnung mitgeliefert, bei weiteren 7 war der entsprechende Parameter nicht untersucht worden (Abb. 41). Insgesamt fehlten vor allem Daten zu Keimzahlen, Aflatoxinen und Gehaltsbestimmungen, ferner waren Untersuchungen auf Pestizidrückstände seltener deklariert. Ohne bzw. mit unvollständigen Zertifikaten kann der Händler bzw. die vertreibende Apotheke, die für die Qualität verantwortlich sind, die Verkehrsfähigkeit nicht beurteilen, insbesondere nicht im Hinblick auf Reinheit und Gehaltsbestimmungen. Bei weiteren 7 Mängeln war im Zertifikat ein anderes, teilweise grenzwertiges, aber noch tolerierbares Ergebnis ausgewiesen (Abb. 41). Umgekehrt war in 4 Fällen ein Qualitätsmangel im Zertifikat beschrieben, von denen nur ein überhöhter Aschegehalt in den eigenen Untersuchungen reproduzierbar war. Dies weist auf die Schwierigkeit hin, repräsentative Proben aus großen, heterogenen Handelschargen zu ziehen. Bei zwei Mustern mit deklarerter, aber nicht wiedergefundener zu hoher Restfeuchte könnten die Chargen auch nachgetrocknet worden sein. Dass ein Muster, das anonym über einen Apotheker von einer Handelsfirma bezogen wurde, trotz bekanntem zu hohem Pestizidrückstand an die Apotheke ausgeliefert wurde, bleibt unverständlich und ist nicht akzeptabel!

Vor diesem Hintergrund ist es interessant und wichtig zu betonen, dass zwei der Handelsfirmen zu 100 % und eine weitere Firma zu 90 % als verkehrsfähig beurteilte Ware lieferten (Abb. 42).

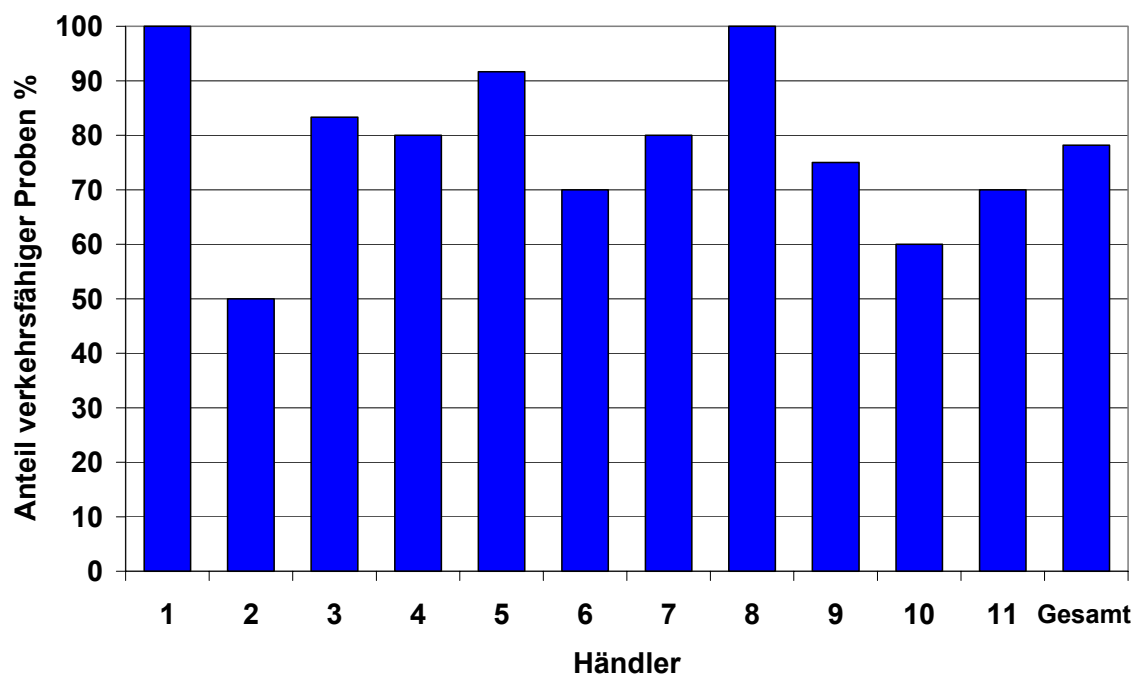


Abb. 42: Anteil (%) der verkehrsfähigen Handelsproben, die von einzelnen Handelsfirmen stammten (N=6-12)

3.5.2 Qualitätserwartung für TCM-Drogen aus heimischem Anbau

Insgesamt hat sich im Vergleich zwischen Versuchs- und Handelsproben gezeigt, dass bei allen untersuchten Arten die VP überwiegend eine gute bis sehr gute Qualität erreicht haben! Nicht zufriedenstellende Qualitäten konnten in den meisten Fällen auf bestimmte, versuchsbedingte Ursachen zurückgeführt werden. Aus diesen Erkenntnissen können nun für den Anbau in der Praxis konkrete Empfehlungen ausgesprochen werden, so dass dort hohe Drogenqualitäten erzeugt werden können!

Die Verwendung der untersuchten und empfohlenen Saatgutherkünfte aus dem Projekt und der artenreine Anbau gewährleisten die richtige Identität in der heimischen Produktion, wogegen Importe mit Unsicherheiten behaftet sind. Im Vergleich beobachtete Abweichungen der sensorischen Eigenschaften der Versuchs- von Handelsproben können teilweise durch entsprechende Wahl der Saatgutherkunft und gegebenenfalls Erntezeitpunkt oder Nacherntetechniken an den gewohnten Geschmack angepasst werden. Zusätzlich führen orts- und zeitnahe Produktion zu frischerem Aroma und Aussehen der Drogen im Gegensatz zur Importware, bei der teilweise muffige Fehlnoten auftraten.

Hinsichtlich der Schwermetalle ist durch die Wahl des geeigneten Bodens (Bodenuntersuchung vor dem Anbau!) und die Befolgung der Anbauempfehlungen insbesondere bei Akkumulatorpflanzen eine geringe bis sehr geringe Kontamination möglich. Bei Importware muss in Einzelfällen mit überhöhten Cadmium- und Arsenbelastungen sowie vor allem bei Krautdrogen mit höheren Bleigehalten gerechnet werden. Der Besatz mit Mikroorganismen ist durch eine professionelle, entsprechend technisierte Produktion – wie sie bei europäischen Heilpflanzen üblich ist – gut zu begrenzen. Ebenso ist dadurch und auf Grund der kurzen Transportwege das Risiko der Entstehung von Mykotoxinen in der heimischen Produktion gering. Im Vergleich dazu sind die mikrobiologischen Kennwerte der Importware zwar ebenfalls meist in Ordnung, in Einzelfällen und bei speziellen Drogen können aber dennoch überhöhte Mykotoxingehalte auftreten. TCM-Drogen aus dokumentiertem und kontrolliertem deutschen Anbau sind im Hinblick auf Pestizidrückstände auf Grund des sehr strengen deutschen Rechts sicherer und erfordern einen geringeren Untersuchungsaufwand als Importware, deren Entstehungsgeschichte häufig unbekannt ist.

Durch die Verwendung besonderer Saatgutherkünfte und die Frische der Drogen haben TCM-Drogen aus heimischem Anbau auch ein sehr großes Potenzial für hohe Inhaltsstoffgehalte.

Es ist also zu erwarten, dass Drogen aus heimischem Anbau eine hohe Qualität aufweisen. Dies wurde in den ersten Anbau- und Erntejahren in der Praxis bereits so bestätigt (23). Die Voraussetzungen dafür sind unbedingt, dass die im Forschungsprojekt als richtig und geeignet identifizierten Saatgutherkünfte verwendet werden, und dass auf der Basis der Empfehlungen aus dem Forschungsprojekt, sowie nach guter landwirtschaftlicher Praxis produziert wird. Auf diese Weise produziert werden die TCM-Drogen aus heimischem Anbau den Handelsproben in den untersuchten Qualitätsparametern mindestens ebenbürtig, wenn nicht sogar besser sein. Auf jeden Fall versprechen die heimischen Drogen, eine gleichmäßigere und damit verlässlichere Qualität zu bringen. Heimische Ware der Arten *Angelica dahurica*, *Artemisia scoparia*, *Astragalus mongholicus*, *Leonurus japonicus*, *Salvia miltiorrhiza*, *Saposhnikovia divaricata*, *Scutellaria baicalensis* und *Sigesbeckia pubescens* können Apotheker und Anwender bereits aus dem Großhandel beziehen. Anfragen des Großhandels können an Kräuterhof Gerhard Frieß, Beerbach 28, 91183 Abenberg, E-Mail: Friess-Heilpflanzen@t-online.de gerichtet werden. Über den Anbau wurde in der Fachpresse bereits berichtet (12, 21, 22).

Da auch in Zukunft nur ein kleiner Anteil der in der TCM verwendeten Heilpflanzen unter unseren Bedingungen angebaut werden kann, müssen Apotheker und Anwender nach weiteren Lösungen im Hinblick auf die Drogensicherheit suchen. Dazu gehört aus unserer Sicht, dass die Abnehmer darauf bestehen müssen, für jede gelieferte Charge ein vollständiges Analysenzertifikat gemäß §§ 6 und 11 der Apothekenbetriebsordnung von einem zertifizierten Labor zu erhalten. Auf diesem Weg kann Druck über die Handelskette aufgebaut werden, damit sich hochwertige Ware aus Asien durchsetzt – denn diese Ware gibt es!

4 **Ausblick**

Drei Jahre nach **Beginn der züchterischen Bearbeitung** von *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus* sind zum Einen die wesentlichen blühbiologischen Erkenntnisse erarbeitet, zum Anderen sind aus einer Sammlung von Saatgutherkünften eine Reihe von Zuchtlinien (Klone) selektiert worden, von denen einzelne ein oder mehrere züchtungsrelevante Merkmale besitzen. Die nächsten Schritte im Züchtungsprozess, die auf dem bisher Erarbeiteten aufbauen, werden sein:

1. Prüfung auf allgemeine Kombinationseignung der Klone über zwei Jahre und zwei Standorte
2. Herstellung von Testsorten durch Kreuzung von Klonen mit höchsten Kombinationseignungen
3. Prüfung der Testsorten, d.h. der potenziellen Sorten, über mehrere Jahre an mehreren Standorten
4. Anmeldung einer oder mehrerer verbesserter Sorten zum Sortenschutz

Die Feldprüfungen auf allgemeine Kombinationseignung oder auf Leistung und Stabilität der potenziellen Sorten müssen über mehrere Jahre und auch Standorte erfolgen, da die Pflanzenreaktion auf unterschiedliche Witterungs- und Wachstumsverhältnisse erfasst werden muss. Mit dem Eingang je einer geschützten Sorte aus den beiden Arten in die Praxis wird daher nicht vor 2014 zu rechnen sein.

Die sehr umfangreichen und detaillierten Ergebnisse und Erkenntnisse aus dem **Qualitätsvergleich von Drogen aus Versuchsanbau und aus dem Import** erlauben es, die Qualität der Drogen aus heimischer Produktion besser zu bewerten. Auf dieser Basis können nun die Stärken und Vorteile der heimischen Ware gegenüber dem Durchschnitt der Importware den Abnehmern und Anwendern besser kommuniziert werden. Die Informationen darüber wurden bereits und werden in Zukunft noch weiter an die Schlüsselstellen des Markts vermittelt, nämlich an Händler, Apotheker und TCM-Ärzte. Dies erfolgte bzw. wird erfolgen durch Workshops, Vorträge, Internet (23), Fachveröffentlichungen in Zeitschriften und Kurzfassungen in Verbandsorganen.

5 **Zusammenfassung**

Die **züchterische Bearbeitung** der Herkünfte von *Artemisia scoparia* und *Leonurus japonicus* hat das Ziel, die Homogenität und Ertragsleistung und Winterhärte der Bestände zu verbessern, sowie hohe Inhaltsstoffgehalte in der jeweiligen Krautdroge zu erhalten. Bei *Artemisia* ist speziell ein niedriger Cadmiumgehalt in der Droge ein wichtiges Zuchtziel. Da beide Arten als Fremdbefruchter charakterisiert werden konnten, wurde mit der Züch-

tung einer synthetischen Sorte begonnen. Für die dazu notwendige Verklonung wurden verschiedene Protokolle zur *in vitro*-Sprosskultur artspezifisch entwickelt.

Bei *Artemisia* konnten selektierte Eliten sowohl *in vitro* als auch gärtnerisch über Stecklinge verklont, geprüft und nach Blühinduktion unter Kurztagbedingungen (12 Stunden) gekreuzt werden. Klone mit hohem Blattanteil, hohem Ätherischölgehalt oder niedrigem Cadmiumgehalt der Droge konnten identifiziert werden. Dagegen war die Winterhärte dieser Klone nicht ausreichend. Eine von einem Wildstandort stammende Herkunft zeigte eine stärkere Winterhärte. Daraus gewonnene Klone werden nun weiter geprüft.

Bei *Leonurus* konnten selektierte Eliten *in vitro* verklont, geprüft und gekreuzt werden. Klone mit hohem Ertragspotenzial, gleichmäßiger Blütenbildung oder besserer Winterhärte, sowie hohem Extrakt- oder Flavonoidgehalt der Droge konnten gefunden werden. Den höchsten Ertrag zeigten Herkünfte bzw. Klonnachkommen mit spätem Blühbeginn, hohen und gleichmäßig zur Blüte kommenden Pflanzen. Mit der Prüfung auf allgemeine Kombinationseignung wurde begonnen.

In einem **Qualitätsvergleich** wurden die Drogen von zehn ausgewählten Pflanzenarten (*Angelica dahurica*, *Artemisia scoparia*, *Astragalus mongholicus* (ehemals *A. membranaceus*), *Bupleurum chinense*, *Leonurus japonicus*, *Prunella vulgaris*, *Salvia miltiorrhiza*, *Saposhnikovia divaricata*, *Scutellaria baicalensis* und *Sigesbeckia pubescens*) aus Versuchsanbau und aus dem Handel (Importware aus Asien) umfassend auf ihre pharmazeutische und sensorische Qualität untersucht.

Die Handelsproben wiesen keine homogene Qualität auf, sowohl in deren Aussehen, Sensorik, Inhaltsstoffgehalte als auch in den verschiedenen Parametern der Reinheit. Betrachtet man alle Qualitätsparameter, für die es Mindest-, Grenz- bzw. Richtwerte gibt, so waren lediglich 77 der 100 untersuchten Handelsproben verkehrsfähig! Die meisten Abweichungen traten bei den Krautdrogen auf. Grenzwertüberschreitungen waren vor allem bei Schwermetallen und Pestiziden zu finden. Es gab allerdings auch Handelsfirmen, die zu 90-100 % als verkehrsfähig beurteilte Ware lieferten.

Insgesamt hat sich gezeigt, dass bei allen untersuchten Arten die Versuchsproben überwiegend eine gute bis sehr gute Qualität erreicht haben. Nicht zufriedenstellende Qualitäten konnten in den meisten Fällen auf bestimmte Ursachen zurückgeführt werden. Aus diesen Erkenntnissen können nun für den Anbau in der Praxis konkrete Empfehlungen ausgesprochen werden, so dass dort hohe Drogenqualitäten erzeugt werden können. Es ist zu erwarten, dass Drogen aus heimischem Anbau eine hohe Qualität aufweisen werden, die sich vor allem im Bereich Reinheit (vor allem Pestizide, Schwermetalle, Mikrobiologie, ohne Bestrahlung) und in der Frische von der Handelsware positiv absetzen wird.

6 Abstract

The field production of *Artemisia scoparia* and *Leonurus japonicus* is based on seed provenances which are worth and necessary to be improved. Therefore, a **breeding programme** has been started to improve homogeneity, yield potential and second year cropping, as well as low Cadmium accumulation especially in *Artemisia*.

For *Artemisia scoparia* and *Leonurus japonicus* individual plants were selected, cloned, tested and cross-pollinated. Clones possessing most of the target qualities could be identified. Field trials to determine their general combining ability have been initiated for *Leonurus*.

Comparison of drug quality. To be able to evaluate herbs quality for Chinese herbal medicine from local production versus import, drugs of ten selected species (*Angelica dahurica*, *Artemisia scoparia*, *Astragalus mongholicus*, *Bupleurum chinense*, *Leonurus japonicus*, *Prunella vulgaris*, *Salvia miltiorrhiza*, *Saposhnikovia divaricata*, *Scutellaria baicalensis* and *Sigesbeckia pubescens*) from experimental cultivation and import were analysed for their pharmaceutical and sensory qualities according to pharmacopoeia.

There was no uniform quality of the imported drugs regarding their appearance, sensory quality, active principle contents and purity. The drugs derived from field experiments showed high to very high quality. In case of quality deficiencies, they could mostly be traced back to their origin. To avoid these problems, recommendations for commercial field production were made. Drugs from local German production can be expected to achieve high pharmaceutical quality. It will mainly differentiate from imported drugs by its purity and freshness.

7 Danksagung

Ganz besonderer Dank gilt den Firmen PhytoLab und Kräuter Mix für die umfangreichen Untersuchungen im Rahmen des Qualitätsvergleichs, die sie auf eigene Kosten durchgeführt haben, sowie die fachliche Unterstützung bei der Interpretation der Daten.

Großer Dank gebührt Prof. Dr. Heubl für die Durchführung der vielen systematischen Bestimmungen, den vielen fruchtbaren Diskussionen vor Ort, per E-Mail und am Telefon sowie die entsprechende Berichterstattung. Den Versuchstechnikern Schmidmeier und Gastl zusammen mit ihren Teams sei ebenfalls besonders gedankt für die langjährige und zuverlässige Versuchsanlage, Versuchsbetreuung und Ergebnisermittlung.

Herzlicher Dank für die gute und vertrauensvolle Zusammenarbeit in diesem Projekt gilt den Damen Friedmann, Gassner, Dr. Groß, Kärner, Dr. Killermann, Kleidorfer, Kollmannsberger, Mosch, Pawlowski, Regenhardt, Reus, Sauerhammer, Schanze, Schumann, Schwaiger, Stoll, Dr. Torres- Londoño, Dr. von Tucher, Unglaube und Wahl sowie den Herren Prof. Dr. Bauer, Baumann, Bögelein, Dr. Daniel, Dr. Friedl, Geißendörfer, Hiller, Höck, Dr. Hummelsberger, Dr. Kabelitz, Dr. Kreckl, Dr. Lepschy, Leuprecht, Mayr, Nast, Reif, Rinder, Prof. Dr. Röber, Dr. Schmücker, Dr. Seefelder, Seemann, Voit, Wendel und Dr. Wurzing.

Der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, ausführend für das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, wird für die großzügige finanzielle Förderung gedankt.

8 Literaturverzeichnis

1. Al-Charchafchi, F., Clor, M.A., Jawad, M. (1986): Seed characteristics and germination of *Artemisia scoparia*. *Annals of Arid Zone* 25 (2), 97-104.
2. Ali, M., Chaudhary, A., Remachandram, R., (2000): Volatile oil constituents of *Artemisia scoparia* leaves. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences* 22 (1). Abstract aus: http://www.cimap.res.in/jmaps/ab_mar2000_1.htm (Stand: 14.04.2004, Text im Anhang).
3. Anonym (1991): Bundesministerium für Gesundheit. Bekanntmachung von Empfehlungen für Höchstmengen an Schwermetallen bei Arzneimitteln pflanzlicher

- und tierischer Herkunft (Arzneimittel-Kontaminanten-Empfehlungen – Schwermetalle). Entwurf vom 17.10.1991.
4. Anonym (1993): International Rules for Seed Testing. Seed Sci. Technol. Suppl. 21.
 5. Anonym (2000): Pharmacopoeia of the People's Republic of China. English edition, Vol. 1. Chemical industry press, Beijing.
 6. Anonym (2000): Verordnung über das Verbot der Verwendung von mit Aflatoxinen kontaminierten Stoffen bei der Herstellung von Arzneimitteln (AflatoxinVerbotsV) vom 19.Juli 2000. BGBl I S. 1081 vom 25. Juli 2000.
 7. Anonym (2001): Anbauhinweise zu Leonurus heterophyllus. In: Xue Liang (Hrsg.): New techniques of cultivation for good agricultural practice (GAP) and industrializing development on the Chinese rare-medicinal herbs. China Xiehe Medizinischer Hochschulverlag, Beijing (auszugsweise deutsche Übersetzung).
 8. Anonym (2003): Siebente Verordnung zur Änderung der Rückstands-Höchstmengenverordnung vom 13. Januar 2003. BGBl Jahrgang 2003 Teil I Nr. 1, ausgegeben zu Bonn am 15. Januar 2003, S 11-50.
 9. Anonym (2005): Pharmacopoeia of the People's Republic of China. English edition. Vol. 1. People's Medical Publishing House, Beijing.
 10. Anonym (2005): Verordnung (EG) Nr. 123/2005 der Kommission vom 26. Januar 2005 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 in Bezug auf Ochratoxin A. Amtsblatt der Europäischen Union, 28.1.2005, L 25/3-5.
 11. Anonym (2005): Verordnung (EG) Nr. 208/2005 der Kommission vom 4. Februar 2005 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 446/2001 im Hinblick auf polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe. Amtsblatt der Europäischen Union, 8.2.2005. L 34/3-5.
 12. Anonym (2006): Vorteile, wenn vor Ort angebaut wird. Deutsche Apothekerzeitung 146 (33), 3392.
 13. Anonym (2006): Verordnung über Höchstmengen an Mykotoxinen in Lebensmitteln (Mykotoxin-Höchstmengenverordnung – MHmV) vom 2. Juni 1999, BGBl. I S. 1248, zuletzt geändert durch Artikel 17 der Verordnung vom 22. Februar 2006, BGBl. I S. 444.
 14. Anonym (2007): DAC – Deutscher Arzneimittelcodex. Laufend aktualisierte Ausgabe, Govi-Verlag, Eschborn, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart.
 15. Anonym (2007): Heilkunst aus China. Apothekenumschau Nr. 5, 52-56.
 16. Bauer, R. (1999): Bei der Prüfung von TCM-Arzneimitteln größte Sorgfalt anwenden. Deutsche Apothekerzeitung 139, 922-923.
 17. BMELV (1999): Rückstandshöchstmengenverordnung von Oktober 1999 sowie nachfolgende Verordnungen zur Änderung der Rückstandshöchstmengenverordnung. Abruf am 08.04.2008.
http://www.bmelv.de/cln_045/nn_750634/SharedDocs/Gesetzestexte/R/RHmV.html__nnn=true.
 18. Bomme, U., Eberlein, H., Rödel, G. (2001): Grünguternter für Heil- und Gewürzpflanzen optimiert. Gemüse 37 (1): 28-30.

19. Bomme, U. (2002): Neue Destillationstechnik für ätherische Öle – Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau in Weihenstephan erhält Patent. Z. Arzn. Gew. Pfl. 7 (4), 433.
20. Bomme, U. (2004): Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben „Inkulturnahme und Etablierung neuer Heilpflanzenarten, die in der traditionellen chinesischen Medizin (TCM) eingesetzt werden“. LfL Freising, unveröffentlicht.
21. Bomme, U. (2005): Anbau von TCM-Pflanzen. Deutsche Apothekerzeitung 145 (42), 5604.
22. Bomme, U., Friedl, F., Hummelsberger, J. (2006): Anbau Chinesischer Arzneipflanzen in Bayern – ein Pilotprojekt. Deutsche Zeitschrift für Akupunktur 49, 4, 44-45.
23. Bomme, U. (2007): Workshop „Dokumentierter und kontrollierter Anbau ausgewählter TCM-Pflanzen in Deutschland – eine Chance für bessere Drogenqualität in der TCM“ 04.10.07 in Freising <http://www.lfl.bayern.de/ipz/heilpflanzen>.
24. Bomme, U. (2007): Integratives Forschungs- und Beratungsmanagement bei der Einführung ausgewählter chinesischer Heilpflanzen in die heimische Produktion. Schule und Beratung 12, III-8-14.
25. Brandes, D. (2002): *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. – neu für Niedersachsen. Braunschweiger Naturkundliche Schriften 6 (3), 609-618.
26. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (Hrsg.)(2005): Bewertung der Rückstandssituation und Genehmigung der Anwendungen von Pflanzenschutzmitteln in Arzneipflanzen. Ständig aktualisiertes Internetdokument, Abruf am 08.04.2008: http://www.bvl.bund.de/cln_027/nn_492020/DE/04__Pflanzenschutzmittel/00__docs__downloads/hm__drogen,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/hm_drogen.pdf.
27. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (Hrsg.)(2008): Acrylamid in Lebensmitteln. Ständig aktualisierte Internetseite, Abruf am 08.04.2008: http://www.bvl.bund.de/cln_007/nn_493378/DE/01__Lebensmittel/03__UnerwStoffeUndOrganismen/04__Acrylamid/acrylamid__node.html__nnn=true.
28. Dice, L. R. (1945): Measures of the amount of ecological association between species. Ecology 26, 297-302.
29. Doyle, J. J., Doyle, J. L. (1990): Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 90 (12), 13-15.
30. Gassner, M.P. (2006): Analysis for cadmium accumulation and -distribution at *Artemisia scoparia*. Master thesis, TU München, Chair of Plant Nutrition. Unpublished.
31. Gasser, U. (2008): 90 %-Percentile für Blei und Cadmium in TCM-Drogen. Schriftliche Mitteilung vom 04.04.2008. Kneipp-Werke, Bad Wörishofen.
32. Harada, R., Iwasaki, M. (1982): Volatile components of *Artemisia capillaris*. Phytochemistry 21, 2009-2011.
33. Hegi, G. (1975): Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Band V/4, Dicotyledones, Labiatae – Solanaceae. Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg. 2. Auflage.

34. Heuberger, H., Bomme, U., Groß, J., Kabelitz, L., Reif, K., Schmücker, R. (2008): Inhaltsstoffgehalte ausgewählter chinesischer Heilpflanzen aus deutschem Versuchsanbau im Vergleich zu Importware aus Asien. Tagungsband Gemeinsame Tagung 18. Bernburger Winterseminar und 5. Fachtagung Arznei- und Gewürzpflanzen, 18.-21.2. 2008 in Bernburg, 89.
35. Hui-Lin, Li et al. (1978) Flora of Taiwan Vol. 4: Compositae – Artemisia: 785-789. Epoch Publishing.
36. Hummelsberger, J., Bomme, U., Friedl, F. (2006): Chinesische Arzneipflanzen – Anbau hierzulande garantiert Qualität. Deutsches Ärzteblatt 103 (21), A1442-A1443.
37. Jekle, A. (2008): Imageanalyse von Drogen für die Traditionelle Chinesische Medizin aus deutschem Anbau bei Apothekern im Großraum München. Bachelorarbeit, Studiengang Landnutzung, Lehrstuhl für Betriebswirtschaftslehre – Marketing und Konsumforschung, TU München. Unveröffentlicht.
38. Kabelitz, L. (1998): Heavy Metals in Herbal Drugs. Eur. J. Herbal Medicine 4 (1), 1-9.
39. Kapoor, R., Ali, M., Mir, S. R., Rafiullah, M. R. M. (2004): Essential oil constituents of aerial parts of *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. Flavour and Fragrance Journal 19 (2), 109-111. Abstract aus: Wiley InterScience.
40. Kothari, S. L., Chandra, N. (1986): Adventitious shoot production from stem internode and callus cultures of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.. Journal of Plant Physiology 124 (5), 409-412.
41. Miyazawa, M., Kameoka, H. (1977): The essential oil of *Artemisia capillaris*. Phytochemistry 16, 1054-1057.
42. Murashige, T., Skoog, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15, 473-479.
43. Ohwi, J. (1965): Flora of Japan. Compositae, Artemisia. Smithsonian Institution Washington D. C., 893-896
44. Ph. Eur. (2002/2005): Europäisches Arzneibuch, 4. und 5. Ausgabe Grundwerk und Nachträge. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Govi-Verlag, Eschborn.
45. Reus, A. (2005): Untersuchungen zu Blüh- und Bestäubungsbiologie der in der Traditionellen Chinesischen Medizin verwendeten Heilpflanzen *Artemisia scoparia* (Besenbeifußkraut) und *Leonurus japonicus* (Chinesisches Mutterkraut) als Voraussetzung für die züchterische Bearbeitung. Diplomarbeit, Fachhochschule Weihenstephan, Fachbereich Gartenbau und Lebensmitteltechnologie. Unveröffentlicht.
46. Rohlf, F. J. (1998): NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0. Exeter Software, Setauket, N. Y.
47. Schischkin, B. K., Bobrov, E. G. (2000): Flora of the UDSSR - Vol. 28: 522-534. Smithsonian Institution Libraries Washington.
48. Sitzmann, J. (2003): Produktionsverfahren für den feldmäßigen Anbau ausgewählter chinesischer Heilpflanzen. Bachelorarbeit am Lehrstuhl für Gemüsebau der TUM Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Freising. Unveröffentlicht.

49. Sitzmann, J. (2004): Die etherischen Öle von *Artemisia scoparia*: Chemische Zusammensetzung und antioxidative Kapazität in Abhängigkeit von Saatgutherkunft, Anbaustandort und Erntestadium. Diplomarbeit im Fach Qualitätsmonitoring gartenbaulicher Produkte, Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt. Unveröffentlicht.
50. Stefanovic, M., Krstic, L., Mladenovi, S. (1973): Extractives of *Artemisia scoparia*. Phytochemistry 12, 2996-2997.
51. Stöger, E., Friedl, F. (1991/2003): Arzneibuch der Chinesischen Medizin. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.
52. Strasburger, E., Noll, F., Schenck, H., Schimper, A. F. W. (2002): Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. 35. Aufl. Heidelberg: Spektrum Verlag, S. 770 u. 861.
53. Tang, W., Eisenbrand, G. (1992): Chinese Drugs of Plant Origin, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. Zit. in: Woerdenbag, H. J., Pras, N., 2002. Analysis and Quality control of commercial *Artemisia* species. In: Wright, C. W. (Hrsg.). *Artemisia*. Taylor & Francis, London, New York, 51-77.
54. Teo, S. P., Pin, C. H. (2001): *Leonurus sibiricus* L. In: v. Valkenburg, J.L.C.H., Bunyapraphatsara, N. (Hrsg.). Plant Resources of South-East Asia, 12 (2). Medicinal and poisonous plants 2. Backhuys Publishers, Leiden.
55. Torell, M., Garcia-Jacas, N., Susanna, A., Valles, J. (1999): Phylogeny of *Artemisia* (Asteraceae, Anthemideae) inferred from nuclear ribosomal DNA (ITS) sequences. Taxon 48: 721-736.
56. Torres-Londoño, P., Engelhardt, U., Hummelsberger, J. (2005). Die Aufbereitungsmethoden chinesischer Arzneimittel (*paozhi*) und ihre Bedeutung für den Westen. Chin. Med. (29), 60-70.
57. Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., vande Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting, Nucleic Acids Res. 23, 4407-4414.
58. Wahl, J. (2006): Untersuchungen zur Blühinduktion der in der Traditionellen Chinesischen Medizin verwendeten Heilpflanze *Artemisia scoparia*. Diplomarbeit im Studiengang Landwirtschaft, Fachhochschule Weihenstephan, Fachbereich Land- und Ernährungswirtschaft. Unveröffentlicht.
59. Watson, L. E., Bates, P.L., Evans, T. M., Unwin, M. M., Estes, J. R. (2002): Molecular phylogeny of subtribe Artemisiinae (Asteraceae). Including *Artemisia* and allied and segregate genera. BMC Evolutionary Biology 2: 1-12.
60. Zahlheimer, W. (2005). Kartierung der Wildvorkommen von *Artemisia scoparia*. Internetabruf über www.flora-niederbayern.de/florenwandel am 05.10.2005.

Literatur aus dem Internet

61. www.eFloras.org. Flora of Pakistan V. 207, Asteraceae, *Artemisia*. Page 107-108.
62. NCBI Datenbank der DNA-Sequenzen. National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

9 Anhang

Tab. 22: Zusammensetzung (mg/l) der geprüften Nährmedien für die *in vitro*-Etablierung, -Vermehrung und -Bewurzelung von *Artemisia scoparia* auf der Grundlage des MS-Basalmediums

	Med 1	Med 2	Med 3	Med 6	Med 7
Makronährstoffe					
KNO ₃	1900	1900	1900	1900	1900
NH ₄ NO ₃	1650	1650	165	165	660
CaCl ₂ * 2H ₂ O	440	440	440	440	440
MgSO ₄ * 7H ₂ O	370	370	370	370	370
KH ₂ PO ₄	170	170	170	170	170
Mikronährstoffe					
MnSO ₄ * H ₂ O	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2
KJ	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
CoCl ₂ * 6H ₂ O	0,025	0,025	--	--	--
FeNa ₂ -EDTA	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0
Aminosäuren					
Glycin	2,0	2,0	2,0	--	--
Glutamin	--	--	750	750	750
Vitamine					
myo-Inositol	100	100	100	100	100
Thiamine-HCl	0,1	0,1	0,4	0,4	0,4
Nicotinacid	0,5	0,5	--	--	--
Pyridoxine HCl	0,5	0,5	--	--	--
Pflanzenhormone					
BAP	2,0	3,0	--	--	--
IAA	0,25	0,25	--	--	--
Bakterizide/Fungizide					
Cefotaxim	--	--	--	125	125
Procline	--	--	--	0,2	0,2
Sonstiges					
Saccharose (g/l)	30	30	20	20	20
Gelrite (g/l)	3,8	3,8	3,8	3,0	3,0
pH	5,7	5,7	5,6	5,6	5,6

Tab. 23: Zusammensetzung (mg/l) der geprüften Nährmedien für die *in vitro*-Etablierung, und -Vermehrung von *Leonurus japonicus* auf der Grundlage des MS-Basalmediums

	Med 0	Med 1	Med 2	Med 3	Med 4	Med 5
Makronährstoffe						
KNO ₃	1900	1900	1900	1900	1900	1900
NH ₄ NO ₃	660	1650	1650	1650	1650	1650
CaCl ₂ * 2H ₂ O	440	440	440	440	440	440
MgSO ₄ * 7H ₂ O	370	370	370	370	370	370
KH ₂ PO ₄	170	170	170	170	170	170
Mikronährstoffe						
MnSO ₄ * H ₂ O	16.9	16.9	16.9	16.9	16.9	16.9
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	8.6	8.6	8.6	8.6	8.6	8.6
H ₃ BO ₃	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2
KJ	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83
Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
CoCl ₂ * 6H ₂ O	--	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
FeNa ₂ -EDTA	40	40	40	40	40	80
Aminosäuren						
Glycin	--	2	2	2	2	2
Glutamin	750	--	--	--	--	--
Vitamine						
myo-Inositol	100	100	100	100	100	100
Thiamine-HCl	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Nicotinacid	--	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Pyridoxine HCl	--	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Pflanzenhormone						
BAP	--	1	1	1	1	--
NAA	--	--	--	--	--	1
IAA	--	0.5	0.5	0.5	0.5	--
Kinetin	--	--	--	--	--	--
Bakterizide/						
Fungizide						
Cefotaxim	125	--	125	125	--	125
Proclin (ml/l)	0.2	--	--	--	--	0.2
PPM (ml/l)	--	--	--	0.2	0.2	--
Ticarcillin	--	--	--	--	100	--
Lysocym	--	--	--	--	--	--
Gentamycin	--	--	--	--	--	--
Sonstiges						
Saccharose (g/l)	20	30	30	30	30	30
Gelrite (g/l)	3.0	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8
pH	5.6	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7

Tab. 24: Zusammensetzung (mg/l) der geprüften Nährmedien für die *in vitro*-Bewurzelung von *Leonurus japonicus* auf der Grundlage des MS-Basalmediums

	Med 6	Med 7	Med7b	Med 8	Med 9	Med 15
Makronährstoffe						
KNO ₃	1900	1900	1900	950	1900	1900
NH ₄ NO ₃	660	165	165	825	165	165
CaCl ₂ * 2H ₂ O	440	440	440	220	440	440
MgSO ₄ * 7H ₂ O	370	370	370	185	370	370
KH ₂ PO ₄	170	170	170	85	170	170
Mikronährstoffe						
MnSO ₄ * H ₂ O	16,9	16,9	16,9	8,45	16,9	16,9
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	8,6	8,6	8,6	4,3	8,6	8,6
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2	3,1	6,2	6,2
KJ	0,83	0,83	0,83	0,42	0,83	0,83
Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,125	0,25	0,25
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
CoCl ₂ * 6H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
FeNa ₂ -EDTA	40	40	40	40	40	40
Aminosäuren						
Glycin	2	2	2	2	2	2
Glutamin	--	--	--	--	--	--
Vitamine						
myo-Inositol	100	100	100	100	100	100
Thiamine-HCl	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Nicotinacid	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Pyridoxine HCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Pflanzenhormone						
BAP	1	1	1	1	1	1
NAA	--	--	--	--	--	--
IAA	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1
Kinetin	--	--	--	--	--	--
Bakterizide/						
Fungizide						
Cefotaxim	--	--	--	--	--	--
Proclin (ml/l)	0,2	0,2	--	0,2	0,2	0,2
PPM (ml/l)	--	--	--	--	--	--
Ticarcillin	100	100	--	100	100	--
Lysocym	--	--	18	--	--	--
Gentamycin						20
Sonstiges						
Saccharose (g/l)	30	30	30	30	30	30
Gelrite (g/l)	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8
pH	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7

Tab. 25: Zusammensetzung (mg/l) der geprüften Nährmedien für die *in vitro*-Bewurzelung von *Leonurus japonicus* auf der Grundlage des MS-Basalmediums

	Med 10	Med 11	Med 12	Med 13	Med 14	Med 16	Med 17
Makronährstoffe							
KNO ₃	950	950	950	950	1900	1900	1900
NH ₄ NO ₃	825	825	825	825	660	1650	1650
CaCl ₂ * 2H ₂ O	220	220	220	220	440	440	440
MgSO ₄ * 7H ₂ O	185	185	185	185	370	370	370
KH ₂ PO ₄	85	85	85	85	170	170	170
Mikronährstoffe							
MnSO ₄ * H ₂ O	8,45	8,45	8,45	8,45	16,9	16,9	16,9
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	4,3	4,3	4,3	4,3	8,6	8,6	8,6
H ₃ BO ₃	3,1	3,1	3,1	3,1	6,2	6,2	6,2
KJ	0,42	0,42	0,42	0,42	0,83	0,83	0,83
Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	0,125	0,125	0,125	0,125	0,25	0,25	0,25
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
CoCl ₂ * 6H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	--	0,025	0,025
FeNa ₂ -EDTA	40	40	40	60	40	40	40
Aminosäuren							
Glycin	2	2	2	2	--	2	2
Glutamin	--	--	--	--	750	--	--
Vitamine							
myo-Inositol	100	100	100	100	100	100	100
Thiamine-HCl	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,1	0,1
Nicotinacid	0,5	0,5	0,5	0,5	--	0,5	0,5
Pyridoxine HCl	0,5	0,5	0,5	0,5	--	0,5	0,5
Pflanzenhormone							
BAP	0,1	--	--	0,1	--	--	0,1
NAA	1	1	1	1	--	1	2
IAA	--	--	--	--	--	--	--
Kinetin	--	0,1	0,2	--	--	--	--
Bakterizide/							
Fungizide							
Cefotaxim	--	--	--	--	125	--	125
Proclin (ml/l)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
PPM (ml/l)	--	--	--	--	--	--	--
Ticarcillin	100	100	100	100	--	100	--
Lysocym	--	--	--	--	--	--	--
Gentamycin	--	--	--	--	--	--	--
Sonstiges							
Saccharose (g/l)	30	30	30	50	20	30	30
Gelrite (g/l)	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8
pH	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7

