
Lehrstuhl für Zierpflanzenbau
Fachgebiet gartenbauliche Pflanzenzüchtung
der Technischen Universität München

Züchtung von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.)
Entwicklung agronomischer und pharmakologischer Selektionskriterien

Dipl.-Ing. (Univ.) Johannes Sebastian Nebelmeir

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften (Dr. agr.) genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. B. Hock
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. G. Forkmann
2. Univ.-Prof. Dr. E. F. Elstner, em.
3. Univ.-Prof. Dr. G. Wenzel

Die Dissertation wurde am 23.11.2005 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 06.03.2006 angenommen.

Veröffentlichungsverzeichnis

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits als Tagungsbeiträge in Form von Vorträgen oder Postern vorgestellt:

MANN E, A DENKE, J NEBELMEIR, G FORKMANN, AND EF ELSTNER (2000): Biochemical *in vitro* test systems as a tool for selection in breeding of *Hypericum perforatum* L. Polyphenols Communications 2000, Freising-Weihenstephan, 11. - 15. September 2000: 473-474.

NEBELMEIR J, H SCHEMP, E MANN, G FORKMANN, AND EF ELSTNER (2000): A rapid method for screening larger populations of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) for pharmaceutically active compounds. Polyphenols Communications 2000, Freising-Weihenstephan, 11. - 15. September 2000: 475-476.

NEBELMEIR J, E MANN, G FORKMANN UND EF ELSTNER (2001): Züchterische Bearbeitung von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) unter besonderer Berücksichtigung der pharmakologischen Wirksamkeit. 38. Gartenbauwissenschaftliche Tagung, Osnabrück, 28. Februar - 02. März 2001: Vortrag.

MANN E, J NEBELMEIR, G FORKMANN UND EF ELSTNER (2001): Bewertung der pharmakologischen Aktivität von *Hypericum perforatum* L. anhand von biochemischen Testsystemen. XXXVI. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung: Gewürz- und Heilpflanzen, Jena, 19. - 20. März 2001: Vortrag.

NEBELMEIR J, E MANN, G FORKMANN UND EF ELSTNER (2001): Selektion von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) mit Hilfe verbesserter Extraktionsmethoden und Inhaltsstoffanalytik. XXXVI. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung: Gewürz- und Heilpflanzen, Jena, 19. - 20. März 2001: Poster.

NEBELMEIR J, E MANN, G FORKMANN UND EF ELSTNER (2002): Selektion von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.): Extraktion und Inhaltsstoffprofile. Wissenschaftstagung Lebensmittel und Gesundheit, Freising-Weihenstephan, 26. Februar 2002: Poster.

NEBELMEIR J, E MANN, G FORKMANN UND EF ELSTNER (2002): Morphologische, pharmakologische und molekulargenetische Charakterisierung von 64 Johanniskraut-Akzessionen (*Hypericum perforatum* L.). 39. Gartenbauwissenschaftliche Tagung, Braunschweig, 27. Februar - 01. März 2002: Poster.

NEBELMEIR J, E MANN, G FORKMANN UND EF ELSTNER (2002): Agronomische und pharmakologische Qualitätsmerkmale bei der Züchtung von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.). XXXVII. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung: Qualität und Pflanzenzüchtung, Hannover, 4. - 5. März 2002: Vortrag.

NEBELMEIR J, E MANN, EF ELSTNER UND G FORKMANN (2003): Untersuchungen zur Ertragsphysiologie von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.). 13. Bernburger Winterseminar zu Fragen der Arznei- und Gewürzpflanzenproduktion, Bernburg, 25. - 26. Februar 2003: Poster.

Inhaltsverzeichnis

Veröffentlichungsverzeichnis	II
Inhaltsverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	VIII
Abbildungsverzeichnis	IX
Tabellenverzeichnis	XI
I Grundlagen	1
1. Botanik	1
2. Pharmakologie	3
2.1 Pharmakologisch relevante Inhaltsstoffe	3
2.2 Indikationsbereiche	6
2.3 Wirksamkeit bei Depressionen	7
2.4 Toxikologie und Interaktionen mit anderen Arzneimitteln	9
3. Züchtung	11
3.1 Züchtungsbedarf	11
3.2 Zuchtziele	12
3.2.1 Agronomische Zuchtziele	12
3.2.2 Pharmakologische Zuchtziele	14
4. Fortpflanzungsbiologie	16
4.1 Apomixis bei Johanniskraut	16
4.2 Konsequenzen für die Züchtungsarbeit	18
4.3 Ansatzpunkte für die Entwicklung von Johanniskrautsorten	19
5. Zielsetzung und Vorgehensweise der Arbeit	21
II Material und Methoden	23
1. Ausgangssituation und Pflanzenmaterial	23
2. Feldversuche	25
2.1 Blockanlage	27
2.2 Zweisatzgitter	28
2.3 Versuchsanbau unter Praxisbedingungen	29
2.4 Linienanlage	30
3. Erfassung der agronomischen Merkmale	31
3.1 Vegetative Merkmale	31
3.2 Generative Merkmale	32
3.3 Verwendung und Verrechnung von Boniturnoten	34
4. Inhaltsstoffanalytik	36

4.1	Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterial	36
4.2	Optimierung der Inhaltsstoffanalytik	37
4.2.1	Aufbereitungsgrad und Extraktionsdauer	37
4.2.2	Verhältnis von Einwaage zu Extraktionsmittelvolumen	37
4.3	Probenaufbereitung und Extraktion	38
4.3.1	Probenaufbereitung	38
4.3.2	Standardprotokoll für die Extraktion	39
4.4	Quantifizierung der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe	39
4.4.1	HPLC (High Performance Liquid Chromatography)	39
4.4.2	Quantifizierung der Inhaltsstoffe auf Basis von Reinsubstanzen	41
4.4.3	Quantifizierung der Protohypericine	43
5.	Physiologie der Ertragsbildung	46
5.1	Blühverhalten	46
5.2	Entwicklung der Inhaltsstoffe in der Droge	46
5.2.1	Blühperiode	47
5.2.2	Generative Phase	47
5.3	Entwicklung der Inhaltsstoffe in Einzelblüten	48
5.3.1	Blühverlauf	48
5.3.2	Tagesverlauf	48
5.3.3	Positionseffekte	48
5.3.4	Lokalisation in den Blütenorganen	49
5.3.5	Knospenentwicklung	49
III	Ergebnisse	51
1.	Feldversuche	51
1.1	Blockanlage	51
1.1.1	Pflanzenentwicklung	51
1.1.2	Agronomische Merkmale (Versuchsjahr 2001)	53
1.1.3	Agronomische Merkmale (Versuchsjahr 2002)	57
1.2	Zweisatzgitter	59
1.2.1	Pflanzenentwicklung	59
1.2.2	Agronomische Merkmale (Versuchsjahre 2001 und 2002)	59
1.3	Versuchsanbau unter Praxisbedingungen	61
1.4	Linienanlage	64
1.4.1	Pflanzenentwicklung	64
1.4.2	Agronomische Merkmale (Versuchsjahr 2002)	64
2.	Optimierung der Inhaltsstoffanalytik	66

2.1	Aufbereitungsgrad und Extraktionsdauer	66
2.2	Verhältnis von Einwaage zu Extraktionsmittelvolumen	69
3.	Pharmakologisch relevante Inhaltsstoffe	71
3.1	Blockanlage	71
3.1.1	Ergebnisse der Inhaltsstoffanalysen	72
3.1.2	Inhaltsstoffprofile	74
3.2	Zweisatzgitter	78
3.3	Linienanlage	80
4.	Physiologie der Ertragsbildung	84
4.1	Blühverhalten	84
4.2	Entwicklung der Inhaltsstoffe in der Droge	86
4.2.1	Blühperiode	86
4.2.2	Generative Phase	87
4.3	Entwicklung der Inhaltsstoffe in Einzelblüten	88
4.3.1	Blühverlauf	88
4.3.2	Tagesverlauf	89
4.3.3	Positionseffekte	90
4.3.4	Lokalisation in den Blütenorganen	93
4.3.5	Knospenentwicklung	94
IV	Diskussion	96
1.	Feldversuche	96
1.1	Blockanlage	96
1.2	Zweisatzgitter	101
1.3	Versuchsanbau unter Praxisbedingungen	109
1.4	Linienanlage	111
2.	Inhaltsstoffanalytik	112
2.1	Optimierung der Inhaltsstoffanalytik	112
2.1.1	Aufbereitungsgrad und Extraktionsdauer der Proben	112
2.1.2	Verhältnis von Einwaage zu Extraktionsmittel	114
2.2	Bewertung der Methoden	116
2.2.1	Gewinnung, Vorbereitung und Extraktion der Proben	117
2.2.2	HPLC-Analyse der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe	119
3.	Physiologie der Ertragsbildung	121
3.1	Blühverlauf	121
3.2	Entwicklung der Inhaltsstoffe in der Droge	123
3.3	Entwicklung der Inhaltsstoffe in Einzelblüten	128

3.4	Konsequenzen für die Anbaupraxis	132
3.5	Konsequenzen für die Züchtungsarbeit	137
4.	Entwicklung von Selektionskriterien	140
4.1	Morphologische Unterscheidungskriterien	141
4.1.1	Blattmorphologie	141
4.1.2	Blütenmorphologie	143
4.1.3	Kapselmorphologie	144
4.2	Agronomische Selektionskriterien	145
4.2.1	Technologische Eignung	145
4.2.2	Ertragsbildung	148
4.2.3	Resistenz gegen <i>Colletotrichum cf. gloeosporioides</i>	150
4.3	Pharmakologische Selektionskriterien	151
4.3.1	Hypericinbehälter auf den Blüten	151
4.3.2	Inhaltsstoffprofile	153
4.3.3	Inhaltsstoffgehalte	158
4.3.4	Pharmakologische Wirksamkeit	165
5.	Zuchtmethodik und Selektionsschema	168
5.1	Zuchtmethodik	168
5.2	Selektionsschema	170
5.2.1	Anbauplanung	170
5.2.2	Entwicklung Selektionsschema	172
6.	Bewertung ausgewählter Herkünfte	180
V	Zusammenfassung	186
VI	Summary	187
VII	Literaturverzeichnis	188
VIII	Anhang	199
1.	Informationen zum Pflanzenmaterial	199
2.	Bodenuntersuchungen	203
3.	Pflanzpläne der Feldversuche	203
3.1	Blockanlage	203
3.2	Zweisatzgitter	205
3.3	Linienanlage	206
4.	Ergebnisse der Feldversuche	207
4.1	Zweisatzgitter	207
4.2	Linienanlage	211

Abkürzungsverzeichnis

AU	absorption units
BA	Blockanlage
BfArM	BUNDESINSTITUT FÜR ARZNEIMITTEL UND MEDIZINPRODUKTE
BMG	BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT
CPVO	COMMUNITY PLANT VARIETY OFFICE (Gemeinschaftliches Sortenamt der EU)
FAH	FORSCHUNGSVEREINIGUNG DER ARZNEIMITTELHERSTELLER E.V.
GD	Grenzdifferenz bzw. kleinste gesicherte Differenz
HPLC	high performance liquid chromatography
LA	Linienanlage
N _{min}	mineralischer Stickstoff
PH. EUR.	PHARMACOPOEIA EUROPAEA (Europäisches Arzneibuch)
rcf	relative centrifugal force in g
Rt	Retentionszeit
UV	ultravioletter Wellenlängenbereich des Lichtes
VIS	sichtbarer Wellenlängenbereich des Lichtes
ZG	Zweisatzgitter

Abkürzungen der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe

Zur Erleichterung der tabellarischen und graphischen Darstellung von Ergebnissen werden alle pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe mit drei Buchstaben codiert. Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden sie stets in der Reihenfolge behandelt, in der sie im HPLC-Chromatogramm erscheinen.

RUT	Rutin
H+I	Hyperosid+Isoquercitrin
QIT	Quercitrin
QER	Quercetin
BIA	Biapigenin
PPS	Protopseudohypericin
PSH	Pseudohypericin
PHY	Protohypericin
HYP	Hypericin
HFO	Hyperforin
AHF	Adhyperforin

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: <i>H. perforatum</i> L. aus dem Kräuterbuch des LEONHART FUCHS von 1543	2
Abbildung 2: Strukturformeln Quercetin und Quercetinglykoside	3
Abbildung 3: Strukturformeln Biflavonoide	4
Abbildung 4: Strukturformel Naphthodianthrone	5
Abbildung 5: Strukturformel Phloroglucinderivate	5
Abbildung 6: Schadbild der Johanniskrautwelke (<i>Colletotrichum</i> cf. <i>gloeosporioides</i>)	14
Abbildung 7: Schematische Darstellung zur Apomixis bei Johanniskraut	17
Abbildung 8: Ausprägung der Hypericinbehälter auf den Petalen	33
Abbildung 9: HPLC-Chromatogramm eines Johanniskrautextraktes bei $\lambda = 254$ nm	40
Abbildung 10: Umwandlung von Protopseudohypericin und Protohypericin ($\lambda = 254$ nm)	43
Abbildung 11: Umwandlung von Protopseudohypericin und Protohypericin ($\lambda = 585$ nm)	44
Abbildung 12: Schematische Darstellung einer Infloreszenz von Johanniskraut	49
Abbildung 13: Knospentadien I bis VI (oben vollständig, mitte Petalen entfernt, unten kastriert)	50
Abbildung 14: Feldbestand der Frühjahrspflanzung von SN-1 zur Ernte: Blühhorizont	62
Abbildung 15: Feldbestand der Frühjahrspflanzung von SN-1 zur Ernte: Johanniskrautwelke	63
Abbildung 16: Kinetik von Hyperosid+Isoquercitrin, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)	66
Abbildung 17: Kinetik von Rutin und Quercitrin, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)	67
Abbildung 18: Kinetik von Quercetin und Biapigenin, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)	67
Abbildung 19: Kinetik der Naphthodianthrone, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)	68
Abbildung 20: Kinetik der Phloroglucinderivate, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)	68
Abbildung 21: Kinetik Einwaage/Lösungsmittel, Flavonoide ($n = 5$)	69
Abbildung 22: Kinetik Einwaage/Lösungsmittel, Hypericine und Hyperforine ($n = 5$)	70
Abbildung 23: Inhaltsstoffprofil A – Grundausstattung (Block IV, Pflanze 6)	74
Abbildung 24: Inhaltsstoffprofil B – mit zwei zusätzlichen Peaks (Block III, Pflanze 5)	75
Abbildung 25: Inhaltsstoffprofil C – mit einem zusätzlichen Peak (Block III, Pflanze 12)	75
Abbildung 26: Inhaltsstoffprofil D – mit drei zusätzlichen Peaks (Block I, Pflanze 8)	76
Abbildung 27: Inhaltsstoffprofil E – ohne Rutin (Block III, Pflanze 4)	77
Abbildung 28: Inhaltsstoffprofil F – ohne Rutin, mit zwei zusätzlichen Peaks (Block III, Pflanze 1) ..	77
Abbildung 29: Blühverlauf bei 'Taubertal', SN-1 und 'Topaz'	85
Abbildung 30: Entwicklung des Trockengewichtes von je 20 Blüten bei 'Taubertal' und SN-1	88
Abbildung 31: Mittelwerte für die Inhaltsstoffgehalte über ca. 4 Wochen ($n = 17$)	89
Abbildung 32: Einfluss der Position am Blütenstand auf das Blütengewicht	91
Abbildung 33: Einfluss der Blütenposition auf den Quercitringehalt	92
Abbildung 34: Einfluss der Blütenposition auf den Quercetingehalt	92
Abbildung 35: Konzentration der Inhaltsstoffe in den einzelnen Blütenorganen von NF-1	93
Abbildung 36: Entwicklung der Flavonoide im Verlauf der Knospentwicklung bei UN-4	94
Abbildung 37: Entwicklung der Naphthodianthrone in Knospen von UN-4	95
Abbildung 38: Entwicklung der Phloroglucinderivate in Knospen von UN-4	95
Abbildung 39: Diagramm zu den Versuchspflanzungen	96
Abbildung 40: Blockweiser Vergleich des Blühbeginns 2001 und 2002, Blockanlage	98

Abbildung 41: Ikonogramme für den Habitus (Höhe, Triebzahl, Erntehorizont), Blockanlage 2001..	99
Abbildung 42: Anzahl Triebe/Pfl., Zweisatzgitter 2001.....	101
Abbildung 43: Bonitur Standfestigkeit, Zweisatzgitter 2001	102
Abbildung 44: Blühbeginn in Wochen nach Pflanzung, Zweisatzgitter 2001.....	103
Abbildung 45: Korrelation zwischen Blühbeginn 2001 und 2002, Zweisatzgitter	103
Abbildung 46: Blütendurchmesser, Zweisatzgitter 2001	104
Abbildung 47: Korrelation Blütendurchmesser und Blütengewicht, Zweisatzgitter 2001	105
Abbildung 48: Ausfälle durch Johanniskrautwelke, Zweisatzgitter Zierpflanzenbau	106
Abbildung 49: Ausfälle durch Johanniskrautwelke, Zweisatzgitter Gemüsebau.....	106
Abbildung 50: Korrelation der Anfälligkeit auf den Flächen Zierpflanzenbau und Gemüsebau.....	107
Abbildung 51: Phänotypische Variabilität im Zweisatzgitter Zierpflanzenbau 2001.....	108
Abbildung 52: Herbstpflanzung 'Taubertal' und SN-1, Frühjahrspflanzung SN-1, alle im 2. Jahr ...	110
Abbildung 53: Schematische Darstellung der Arbeitshypothese zur Extraktion.....	114
Abbildung 54: Extraktionsverhalten der Naphthodianthrone (n = 5)	115
Abbildung 55: Übersicht zu den eingesetzten Extraktionsmethoden.....	116
Abbildung 56: Effekt der Belichtung auf das Inhaltsstoffspektrum von 'Taubertal' (n = 3).....	120
Abbildung 57: Blühverlauf von 'Taubertal', SN-1 und 'Topaz'; gleitender Mittelwert über 5 Tage...	122
Abbildung 58: Erntetermine und physiologische Stadien im Blühverlauf von 'Taubertal'.....	123
Abbildung 59: Drogenenertrag zu den jeweiligen Ernteterminen, Einzel- und Mittelwerte (n = 8)....	124
Abbildung 60: Entwicklung von Rutin und Hyperosid+Isoquercitrin (n = 8).....	125
Abbildung 61: Entwicklung von Quercitrin, Quercetin und Biapigenin (n = 8)	126
Abbildung 62: Entwicklung der Naphthodianthrone mit Gesamtgehalt (n = 8)	126
Abbildung 63: Entwicklung der Phloroglucinderivate (n = 8).....	127
Abbildung 64: Entwicklung von Biapigenin und Quercetin im Tagesverlauf bei 'Topaz'	129
Abbildung 65: Verteilung der Inhaltsstoffe und des Gewichtes auf die Blütenorgane von NF-1.....	130
Abbildung 66: Zusammenhang zwischen Anzahl geöffneter Blüten und Biapigeningehalt.....	136
Abbildung 67: Modulierende Einflüsse auf den Inhaltsstoffgehalt der Droge	138
Abbildung 68: Einteilung der Merkmale in Unterscheidungs- und Selektionskriterien.....	140
Abbildung 69: Variabilität der Blattform (PM-9, SN-1, AS-28, BB-1, WE-1).....	142
Abbildung 70: Petaloides Gewebe am Rand der Sepalen von PF-02 und PF-05	144
Abbildung 71: Fruchtknoten ohne (links) und mit (rechts) Hypericinbehälter im Querschnitt.....	145
Abbildung 72: Korrelation Anzahl liegender Triebe und Boniturnote Standfestigkeit (n = 64)	147
Abbildung 73: Korrelation Hypericinbehälter und Gesamthypericingehalt der Droge (n = 62)	152
Abbildung 74: Korrelation von Pseudohypericin- und Hypericingehalt in der Droge, Blockanlage	155
Abbildung 75: Korrelation von Pseudohypericin- und Hypericingehalt nach Profilen (M. Bauer) ..	156
Abbildung 76: Korrelation von Hyperforin- und Adhyperforingehalt in der Droge, Blockanlage....	157
Abbildung 77: Vergleich Praxis- und Versuchsanbau von Johanniskraut.....	171
Abbildung 78: Variabilität der Blütenmorphologie von 6 Pflanzen der Selektion H-2a.....	185

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1:</i>	<i>Von Interaktionen mit Johanniskrautpräparaten betroffene Arzneimittel.....</i>	<i>10</i>
<i>Tabelle 2:</i>	<i>Qualitätsanforderungen an Johanniskrautdroge.....</i>	<i>12</i>
<i>Tabelle 3:</i>	<i>Sorten, Saatgutherkünfte, Selektionen und Wildherkünfte.....</i>	<i>24</i>
<i>Tabelle 4:</i>	<i>Klimabedingungen im Kulturraum.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabelle 5:</i>	<i>Grundschema für Feldversuche.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabelle 6:</i>	<i>Kulturdaten Blockanlage.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 7:</i>	<i>Versuchsaufbau Blockanlage.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 8:</i>	<i>Kulturdaten Zweisatzgitter.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabelle 9:</i>	<i>Versuchsaufbau Zweisatzgitter.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabelle 10:</i>	<i>Kulturdaten Versuchsanbau unter Praxisbedingungen.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabelle 11:</i>	<i>Versuchsaufbau Feldversuch.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabelle 12:</i>	<i>Kulturdaten Linienanlage.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabelle 13:</i>	<i>Versuchsaufbau Linienanlage.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabelle 14:</i>	<i>Boniturskala für die Standfestigkeit.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabelle 15:</i>	<i>Boniturskala für die Ausprägung der Hypericinbehälter auf den Petalen.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabelle 16:</i>	<i>Boniturskala für den Blühhorizont.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 17:</i>	<i>Übersicht zur Extraktion der verschiedenen Probenarten.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabelle 18:</i>	<i>Aufstellung der Reinsubstanzen.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabelle 19:</i>	<i>Aufstellung der Parameter zu den jeweiligen Eichgeraden.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabelle 20:</i>	<i>Parameter zur Umrechnung der Protohypericine in Hypericin-Äquivalente.....</i>	<i>44</i>
<i>Tabelle 21:</i>	<i>Parameter der Eichgeraden zur Quantifizierung der Hypericin-Äquivalente.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabelle 22:</i>	<i>Standorte der zum Blühverhalten untersuchten Pflanzen.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabelle 23:</i>	<i>Erntezeitpunkt und korrespondierendes physiologisches Stadium, Blühperiode.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabelle 24:</i>	<i>Erntezeitpunkt und korrespondierendes physiologisches Stadium, generative Phase..</i>	<i>47</i>
<i>Tabelle 25:</i>	<i>Beschreibung der Blüten zu den Erntezeitpunkten.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 26:</i>	<i>Beschreibung der Knospentadien von Johanniskraut (vgl. Abbildung 13).....</i>	<i>50</i>
<i>Tabelle 27:</i>	<i>Blühbeginn Blockanlage in den Versuchsjahren 2001 und 2002.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 28:</i>	<i>Pflanzenhöhe in cm, Blockanlage 2001.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 29:</i>	<i>Triebzahl in Triebe/Pfl., Blockanlage 2001.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 30:</i>	<i>Erntehorizont in cm, Blockanlage 2001.....</i>	<i>54</i>
<i>Tabelle 31:</i>	<i>Frischgewicht in g/Pfl., Blockanlage 2001.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 32:</i>	<i>Drogengewicht in g/Pfl., Blockanlage 2001.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 33:</i>	<i>Eintrocknungsverhältnis, Blockanlage 2001.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 34:</i>	<i>Zweite Ernte: Frischgewicht und Drogengewicht in g/Pfl., Blockanlage 2001.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 35:</i>	<i>Pflanzenhöhe in cm, Blockanlage 2002.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 36:</i>	<i>Triebzahl in Triebe/Pfl., Blockanlage 2002.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 37:</i>	<i>Erntehorizont in cm, Blockanlage 2002.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 38:</i>	<i>Frischgewicht und Drogengewicht in g/Pfl., Blockanlage 2002.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 39:</i>	<i>Eintrocknungsverhältnis, Blockanlage 2002.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 40:</i>	<i>Eckdaten zu den agronomischen Merkmalen (n = 64), Zweisatzgitter.....</i>	<i>60</i>

Tabelle 41:	<i>Pflanzhöhe in cm und Triebzahl am 7. Juni 2002 (n = 24), Anbauversuch.....</i>	63
Tabelle 42:	<i>Eckdaten zu den agronomischen Merkmale (n = 44), Linienanlage</i>	64
Tabelle 43:	<i>Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben von 'Taubertal' (n = 39)¹, Blockanlage 2001..</i>	72
Tabelle 44:	<i>Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben von SN-1 (n = 40), Blockanlage 2001.....</i>	72
Tabelle 45:	<i>Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben von M. Bauer (n = 55)², Blockanlage 2001</i>	73
Tabelle 46:	<i>Eckdaten zur Analyse der Drogenproben (n = 60), Zweisatzgitter 2001</i>	78
Tabelle 47:	<i>Inhaltsstoffanalyse der Blütenproben, Zweisatzgitter 2002.....</i>	80
Tabelle 48:	<i>Eckdaten zur Inhaltsstoffanalyse der Blütenproben, Linienanlage 2002</i>	81
Tabelle 49:	<i>Eckdaten zur Inhaltsstoffanalyse der Blütenproben N₂, Linienanlage 2002</i>	82
Tabelle 50:	<i>Korrelationen zwischen Blütenproben und Blütenproben N₂, Linienanlage 2002</i>	83
Tabelle 51:	<i>Eckdaten zur Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben, Linienanlage 2002.....</i>	83
Tabelle 52:	<i>Korrelationen zwischen Blütenproben und Drogenproben, Linienanlage 2002</i>	84
Tabelle 53:	<i>Phänologische Daten zum Blühverlauf von 'Taubertal', SN-1 und 'Topaz'</i>	86
Tabelle 54:	<i>Ertrag und Inhaltsstoffgehalte im Verlauf der Blühperiode in g/kg (n = 8).....</i>	86
Tabelle 55:	<i>Ertrag und Inhaltsstoffgehalte im Verlauf der generativen Phase in g/kg (n = 8).....</i>	87
Tabelle 56:	<i>Entwicklung der Inhaltsstoffgehalte im Tagesverlauf in g/kg, Blütenproben 'Topaz'... </i>	90
Tabelle 57:	<i>Einfluss von Positionseffekten auf Gewicht und Inhaltsstoffgehalte.....</i>	91
Tabelle 58:	<i>Trockengewicht der einzelnen Blütenorgane von NF-1.....</i>	93
Tabelle 59:	<i>Übersicht zur Homogenität der saatzgutvermehrten Herkünfte in der Blockanlage</i>	97
Tabelle 60:	<i>Kategorien zur Anfälligkeit für Colletotrichum cf. gloeosporioides.....</i>	105
Tabelle 61:	<i>Anforderungen seitens der Züchtung an die Inhaltsstoffanalytik</i>	116
Tabelle 62:	<i>Vergleich zur Entwicklung der Inhaltsstoffgehalte in Droge und Blüten</i>	128
Tabelle 63:	<i>Stadien mit den maximalen Gehalten der Inhaltsstoffe in der Droge.....</i>	133
Tabelle 64:	<i>Charakteristische Merkmale der identifizierten Inhaltsstoffprofile (vgl. III 3.1.2)</i>	153
Tabelle 65:	<i>Absorptionsmaxima (λ_{max}) der Flavonoide und der unbekannt Substanzen.....</i>	154
Tabelle 66:	<i>Verhältnis von Pseudohypericin- zu Hypericingehalt (c_{PSH}/c_{HYP}), Blockanlage.....</i>	155
Tabelle 67:	<i>Verhältnis von Hyperforin- zu Adhyperforingehalt (c_{HFO}/c_{AHF}), Blockanlage.....</i>	157
Tabelle 68:	<i>Pharmakologische Selektionskriterien für Inhaltsstoffgehalte von Blüten und Droge</i>	163
Tabelle 69:	<i>Die vier Züchtungskategorien (nach BECKER 1993).....</i>	168
Tabelle 70:	<i>Vorschlag für ein Selektionsschema zur Züchtung von Johanniskraut.....</i>	179
Tabelle 71:	<i>Sorten und Saatzgutherkünfte.....</i>	199
Tabelle 72:	<i>Selektionen aus Arbeiten von MANN (em) und NEBELMEIR (jn).....</i>	199
Tabelle 73:	<i>Sammlung von Wildherkünften</i>	201
Tabelle 74:	<i>Ergebnisse der Bodenuntersuchungen.....</i>	203
Tabelle 75:	<i>Pflanzplan Blockanlage</i>	204
Tabelle 76:	<i>Pflanzplan Zweisatzgitter.....</i>	205
Tabelle 77:	<i>Pflanzplan Linienanlage.....</i>	206
Tabelle 78:	<i>Morphologische Merkmale Zweisatzgitter, Versuchsjahre 2001 und 2002.....</i>	207
Tabelle 79:	<i>Inhaltsstoffgehalte der Drogenproben Zweisatzgitter, Versuchsjahr 2001</i>	209
Tabelle 80:	<i>Ergebnisse der Linienanlage im Versuchsjahr 2002</i>	211
Tabelle 81:	<i>Inhaltsstoffgehalte der Blütenproben (n = 50), Linienanlage Versuchsjahr 2002</i>	213

I Grundlagen

1. Botanik

Das Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) gehört innerhalb der Ordnung Theales zur Familie der Hypericaceae (auch Guttiferae oder Clusiaceae), den Hartheugewächsen, die ca. 380 Spezies in 30 Sektionen umfassen. Der botanische Name dieser alten Heilpflanze leitet sich aus dem griechischen und später latinisierten "Ἵπερ εἰκῶν" (hyper eikon = über dem Bild bzw. Bildnis) ab. Dies weist vermutlich auf den antiken Brauch hin, über den Götterbildern und später auch über christlichen Ikonen Kräuterbündel anzubringen. Der deutsche Name Johanniskraut erklärt sich aus dem Umstand, dass der Höhepunkt der Blütezeit mit dem Tag des Hl. Johannes des Täufers, dem 24. Juni, zusammenfällt. Von der Beobachtung, dass die Blätter gegen das Licht gehalten aufgrund ihrer Ölbehälter wie durchstochen erscheinen, leiten sich andere gebräuchliche Namen wie "Tüpfelhartheu" und auch der Artnamen *perforatum* ab. Weitere volkstümliche Namen wie "Herrgottsblut" oder "Johanniblut" gehen darauf zurück, dass beim Zerreiben der goldgelben Blüten das Hypericin aus den schwarzen Sekretbehältern austritt und eine blutrote Farbe verursacht. Von alters her wurden daher dem Johanniskraut Wunderkräfte nachgesagt. Im Mittelalter wurde es sogar als "fuga daemonum" und "Teufelsfuchtel" eingesetzt, um Besessene von Dämonen zu befreien. Sicherlich entsprang diese Anwendung dem von Aberglauben geprägten Zeitgeist des Mittelalters. Sie gibt aber auch einen Hinweis auf die heilende Wirkung des Johanniskrautes auf die menschliche Psyche (ROTH 1990 und CZYGAN 2003).

Das natürliche Verbreitungsgebiet von *Hypericum perforatum* L. erstreckt sich über ganz Europa und Nordafrika bis in weite Teile Westasiens. Es ist bevorzugt an Weg- und Feldrändern sowie in lichten Wäldern anzutreffen und besiedelt als Pionierpflanze gerne Bahndämme, Kiesgruben und andere Ruderalflächen. Nach Australien und Nordamerika wurde das Johanniskraut eingeschleppt und hat sich dort zu einem problematischen Weideunkraut entwickelt (SOUTHWELL and CAMPBELL 1991).

Das Johanniskraut ist eine bis etwa einen Meter hohe, ausdauernde und ausläuferbildende Pflanze. Der harte und arttypisch zweikantige Stängel verzweigt sich aus den Achseln der gegenständigen, eiförmigen bis länglichen Blätter (vgl. Abbildung 1).

Die Blätter weisen die charakteristischen durchscheinenden Ölbehälter in der Blattspreite auf und besitzen schwarze Hypericinbehälter, die vermehrt am Blattrand auftreten und auch an den Stängeln zu finden sind. Auf den Kelch- und Kronblättern der gelben Blüten können die Hypericinbehälter sowohl punkt- als auch streifenförmig sein. Die fünfzähligen Blüten erscheinen von Juni bis August und sitzen an einer reichblütigen Trugdolde, die mit einer terminalen Blüte abschließt. Die zahlreichen Stamina sind am Grund zu drei Büscheln verwachsen. Aus dem dreiteiligen Fruchtknoten entwickelt sich eine Kapsel, die bei Reife

aufspringt und die dunkelbraunen bis schwarzen Samen freigibt. Das Tausendkorngewicht der sehr feinen zylinderförmigen Samen liegt bei nur 0,1 g (BOMME 1997).

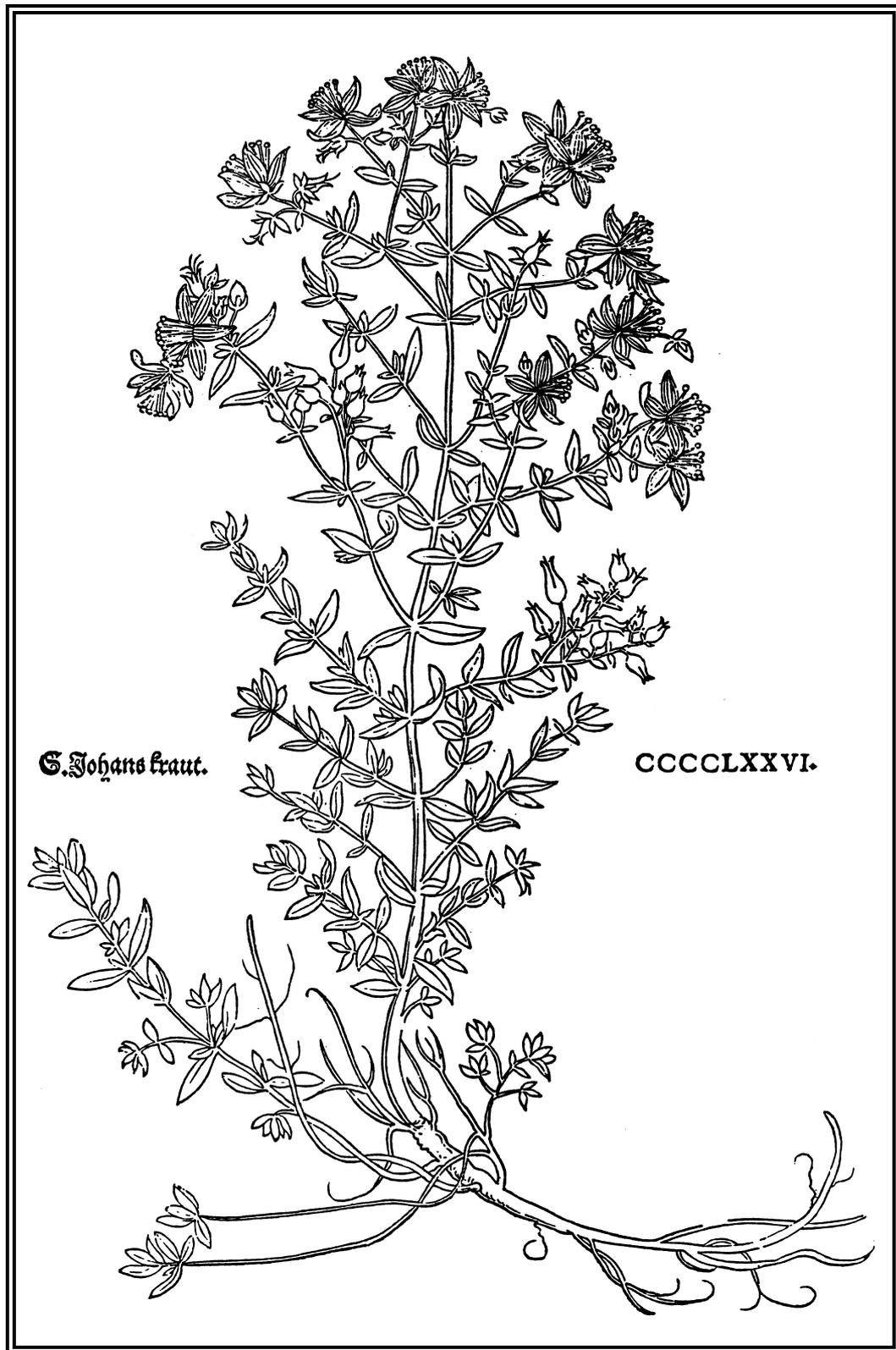


Abbildung 1: *H. perforatum* L. aus dem Kräuterbuch des LEONHART FUCHS von 1543

2. Pharmakologie

2.1 Pharmakologisch relevante Inhaltsstoffe

Johanniskraut enthält ein breites Spektrum an sekundären Pflanzenstoffen. Während Flavonoide in zahlreichen Arzneipflanzen zu finden sind, kommen die Gruppen der Naphthodianthrone und Phloroglucinderivate nahezu ausschließlich bei der Gattung *Hypericum* vor. Neben den drei wichtigsten Inhaltsstoffgruppen wurden in *H. perforatum* noch zahlreiche weitere pharmakologisch aktive Substanzen aus verschiedenen Stoffklassen nachgewiesen. Im Folgenden werden die pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe des Johanniskrautes vorgestellt. Eine umfassende Literaturübersicht bietet KAUL (2000).

Flavonoide

Unter den Flavonoiden stellen die Flavonolglykoside Hyperosid, Rutin, Isoquercitrin und Quercitrin sowie deren freies Aglykon Quercetin die Hauptkomponenten dar (vgl. Abbildung 2), wobei Hyperosid die höchsten Gehalte erreicht. JÜRGENLIEMK und NAHRSTEDT (2002) konnten weitere Quercetinglykoside sowie ein Dihydroquercetinglykosid nachweisen und identifizieren. Weiter ist das Vorkommen von Luteolin, Kämpferol, Myricetin und (+)-Dihydroquercetin beschrieben (ROTH 1990). Flavonoide kommen in allen Pflanzenteilen vor, wobei sich die höchsten Gehalte in den Blütenkronblättern finden.



Abbildung 2: Strukturformeln Quercetin und Quercetinglykoside

Eine Besonderheit des Johanniskrautes ist das Vorkommen der Biflavonoide Biapigenin (I3,II8-Biapigenin) und Amentoflavon (I3',II8-Biapigenin), das sich ausschließlich auf die Blüten beschränkt (vgl. Abbildung 3). Während Biflavonoide bei tropischen Pflanzen häufiger anzutreffen sind, ist das Johanniskraut neben der Eibe (*Taxus baccata* L.) eine der wenigen einheimischen Arten, die Biflavonoide enthalten.

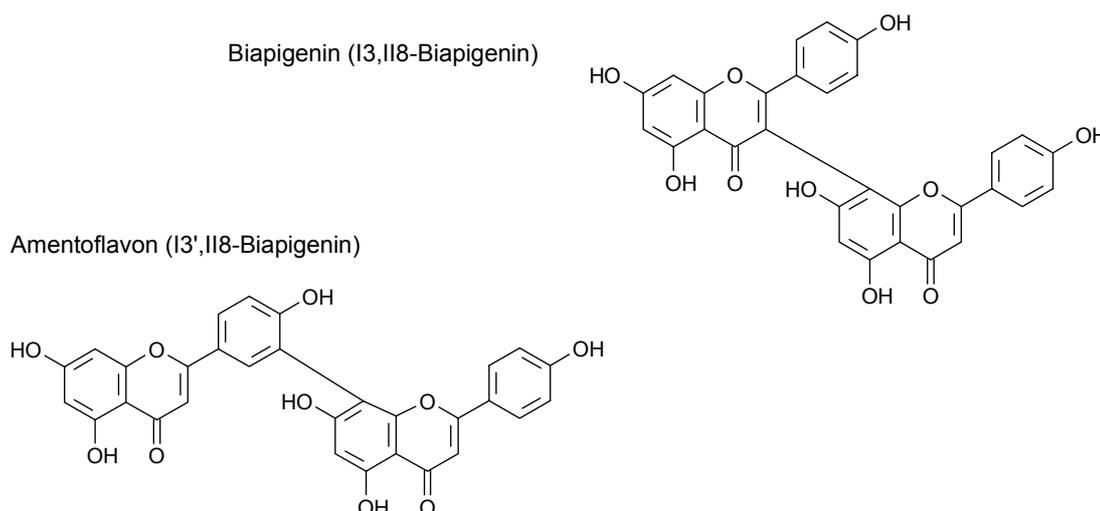


Abbildung 3: Strukturformeln Biflavonoide

Naphthodianthrone

Besonders charakteristisch für die Gattung *Hypericum* ist das Vorkommen von Verbindungen mit Naphthodianthronstruktur (vgl. Abbildung 4). Zum einen verdankt das Johanniskraut den tiefroten Hypericinen von alters her viel Aufmerksamkeit. Zum anderen kommen Naphthodianthrone als Fagopyrin nur noch in Buchweizen (*Fagopyrum esculentum* L.) in nennenswerter Menge vor. Die Naphthodianthrone stammen aus dem Polyketidstoffwechsel und gehen aus der Kondensation zweier identischer tricyclischer Anthrachinone, dem sogenannten Emodin-Anthron hervor (WALKER 2004). Mengenmäßig sind vor allem Pseudohypericin und Hypericin sowie deren Vorstufen Protopseudohypericin und Protohypericin von Bedeutung. Im letzten Schritt der Biosynthese setzen sich die Protoverbindungen unter Einwirkung von Licht durch Zyklisierung in Hypericin bzw. Pseudohypericin um. Cyclopseudohypericin kommt ebenfalls in geringer Menge vor, wird aber zum Großteil aus Pseudohypericin gebildet. Weitere nachgewiesene und in ihrer Struktur aufgeklärte Naphthodianthrone spielen aufgrund ihrer geringen Konzentrationen nur eine untergeordnete Rolle und sind in ihrem genuine Vorkommen fraglich (KAUL 2000).

Die Hypericine sind in vielzelligen, kugel- oder röhrenförmigen Aggregaten lokalisiert, die durch eine ein- bis zweilagige Hülle aus abgeflachten Zellen klar vom umgebenden Blattgewebe abgegrenzt sind (ČELLÁROVÁ et al. 1994). Aufgrund der hohen Hypericinkonzentration sind die Behälter als schwarze Punkte sichtbar, die sich am Rand der Blätter und Petalen befinden. Bei einigen Herkünften treten die Hypericinbehälter auch in Form von schwarzen Streifen auf der äußeren Seite der Kelch- und Kronblätter auf (vgl. Abbildung 8). Außerdem befindet sich je ein charakteristischer schwarzer Hypericinbehälter am Konnektiv der Antheren. In den roten Papillen der Narbe kommen sie in weitaus geringeren Mengen vor.

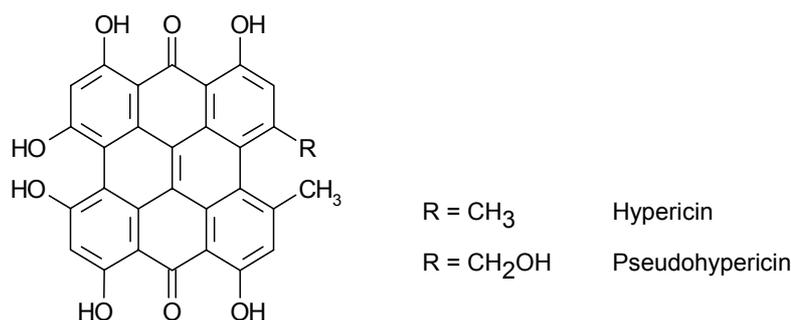


Abbildung 4: Strukturformel Naphthodianthrone

Die Hypericine sind für die Hypersensibilisierung der Haut gegenüber Sonnenlicht verantwortlich und können bei sehr hoher Dosis und starker Einwirkung von UV-Strahlung zu Verbrennungssymptomen, dem sogenannten Hypericismus führen. Da die Hypericine ursprünglich als wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe galten, wurden sie als "Leitsubstanzen" zur Sicherung der pharmazeutischen Qualität von Johanniskrautpräparaten herangezogen. Mittlerweile weiss man, dass sie zwar zur antidepressiven Wirkung beitragen, allerdings nicht alleine dafür verantwortlich sind.

Phloroglucinderivate

Die Phloroglucinderivate Hyperforin und Adhyperforin (Abbildung 5) sind wie die Naphthodianthrone sehr charakteristische Inhaltsstoffe von *H. perforatum*. Mittlerweile konnten weitere Phloroglucinderivate aus Johanniskraut isoliert und identifiziert werden (VEROTTA et al. 2000). Als Verbindungen mit ähnlicher Struktur sind die Bitterstoffe Humulon und Lupulon aus Hopfen (*Humulus lupulus* L.) bekannt. Die höchsten Gehalte an Hyperforin und Adhyperforin finden sich in reifen Kapseln. In Lösung sind Phloroglucinderivate instabil und bauen sich unter Lichteinwirkung je nach Lösungsmittel innerhalb eines Tages fast vollständig ab (ERDELMEIER 1998 und SCHMIDT 2003). Unter den Abbauprodukten ist 2-Methyl-3-buten-2-ol, das durch oxidative Abspaltung der Isoprenylseitenketten entsteht.

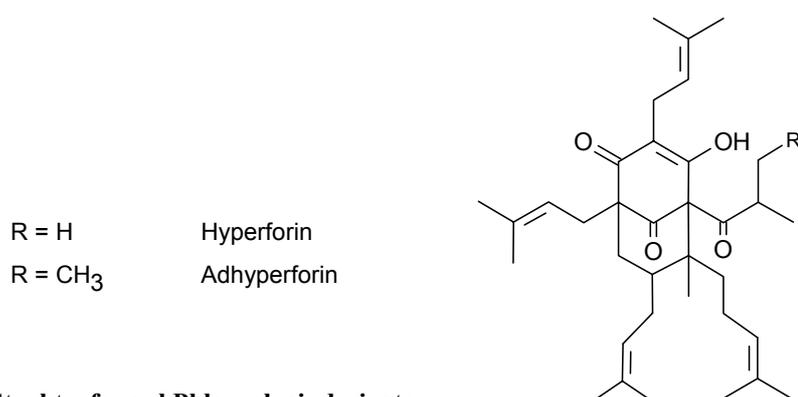


Abbildung 5: Strukturformel Phloroglucinderivate

Weitere Inhaltsstoffe

In *H. perforatum* wurden zahlreiche Proanthocyanidine nachgewiesen (PLOSS 2000). Die hohen Gehalte an (+)-Catechin, (-)-Epicatechin und Procyanidin B2 charakterisieren Johanniskraut als Gerbstoffdroge. Für Procyanidin B2 konnte eine lösungsvermittelnde Wirkung auf die Naphthodianthrone gezeigt werden. Damit leistet es über eine erhöhte Bioverfügbarkeit der Hypericine einen indirekten Beitrag zur Wirksamkeit des Extraktes (BUTTERWECK 1997).

Die Anthrachinone Skyrin und Oxyskyrin sowie die Gruppe der Xanthone mit dem Hauptvertreter 1,3,6,7-Tetrahydroxyxanthon sind nur in sehr geringen Konzentrationen in der Droge enthalten (KAUL 2000). Die für zwei Skyringlykoside nachgewiesene Bindung an Rezeptoren des CRH-1 (Corticotropin releasing hormone-1) deutet auf eine mögliche Wirkung im Zentralnervensystem hin (WIRZ et al. 2000). Xanthone werden ebenfalls im Zusammenhang mit der antidepressiven Wirkung von Johanniskraut diskutiert (HARRER et al. 1993 und SPARENBERG 1993).

Das ätherische Öl von *Hypericum perforatum* ist in schizogenen Ölbehältern des Mesophylls lokalisiert und besteht hauptsächlich aus höheren n-Kohlenwasserstoffen. Daneben treten auch Mono- und Sesquiterpene mit α -Pinen und Caryophyllen als Hauptvertreter auf.

2.2 Indikationsbereiche

Als Heilmittel anerkannt und damit offizinal ist HYPERICI HERBA, der zur Vollblüte geerntete obere Teil der Johanniskrautpflanzen (*Hypericum perforatum* L.), auch Blühhorizont genannt. Die Rohdroge enthält deshalb neben den Knospen und Blüten auch Stängel, Blätter und unreife Kapseln.

Johanniskrauttee

In der Volksmedizin wird Johanniskrauttee aufgrund seines hohen Gerbstoffgehaltes als Anti-diarrhoikum genutzt. Daneben wird der Aufguß aus Johanniskrautdroge traditionell wegen seiner diuretischen Wirkung, die er dem hohen Gehalt an Flavonoiden verdankt, angewendet. Schließlich ist der Einsatz von Johanniskraut bei Bettnässen, Rheumatismus und Gicht erwähnt (WICHTL 1997).

Johanniskrautöl

Die Aufbereitungsmonographie der Kommission E des Bundesgesundheitsamtes Berlin gibt die Anwendung einer öligen Hypericumzubereitung zur Behandlung und Nachbehandlung von scharfen und stumpfen Verletzungen, Myalgien und Verbrennungen ersten Grades an (BUNDESANZEIGER 1984). Zur Herstellung von Johanniskrautöl, OLEUM HYPERICI, werden frische Johanniskrautblüten mit der vierfachen Menge an Olivenöl übergossen und an der Sonne extrahiert (KAUL 2000). Das leuchtend rot gefärbte Öl enthält neben den Naphthodianthronen

besonders Flavonoide und Hyperforin. Dadurch zeigt es eine gute antiphlogistische Wirkung (WICHTL 1997). Innerlich wird Johanniskrautöl bei dyspeptischen Beschwerden angewendet (BUNDESANZEIGER 1984).

Johanniskrautextrakt

Johanniskrautextrakten kommt durch ihre Wirksamkeit bei Depressionen der aktuellste und wichtigste Indikationsbereich zu. Die Monographie "HYPERICI HERBA (Johanniskraut)" der Kommission E beschrieb mit der Anwendung von Johanniskrautextrakten gegen "psychovegetative Störungen, depressive Verstimmungszustände, Angst und/oder nervöse Unruhe" noch einen relativ weiten Indikationsbereich (BUNDESANZEIGER 1984). Da Johanniskrautextrakte jedoch keine Akutwirkung besitzen und deshalb nicht als Beruhigungs- oder Schlafmittel geeignet sind, definierte das BfArM bei der Neuzulassung 1998 die Indikation auf "leichte (bis mittelschwere) vorübergehende depressive Störung" bzw. "leichte (und mittelschwere) depressive Episode". Begründet durch vorliegende Nachweise zur Wirksamkeit und Unbedenklichkeit werden Johanniskrautpräparate deshalb in dieser Teilindikation mit synthetischen Antidepressiva gleichgestellt (SCHULZ 2003). Schwere Depressionen sind keine Indikation für Johanniskrautextrakte und bleiben der Behandlung mit synthetischen Antidepressiva vorbehalten (SHELTON et al. 2001).

2.3 Wirksamkeit bei Depressionen

Aus heutiger Sicht der Wissenschaft werden Depressionen als krankhafte Störungen im Neurotransmitter-Stoffwechsel verstanden. Dabei wird ein Mangel an synaptischen Überträgerstoffen im Zentralnervensystem, nämlich der Monoamine Serotonin, Noradrenalin und Dopamin, für das Entstehen einer Depression verantwortlich gemacht. Das Krankheitsbild macht sich durch vielfältige Symptome auf psychischer, somatischer und psychosozialer Ebene bemerkbar. Dabei zählen Angstzustände, Freud- und Interesselosigkeit, Schlaf- und Kreislaufstörungen, Ruhelosigkeit, Leistungsabfall und Isolationsneigung bis hin zu Todes- und Selbstmordgedanken zu den typischen Anzeichen für eine Depression. Neben Störungen des Neurotransmitterstoffwechsels werden (stressbedingte) Fehlfunktionen des Hormonhaushaltes, eine genetische Disposition sowie traumatische Ereignisse im Lebenslauf der Patienten als weitere Risikofaktoren für eine Erkrankung an Depressionen diskutiert.

Es wird angenommen, dass Johanniskrautextrakte vergleichbar zu synthetischen Antidepressiva in den Stoffwechsel der Neurotransmitter eingreifen, indem sie den Abbau der oben genannten Monoamine hemmen. Dadurch kann sich deren Konzentration wieder auf ein normales Niveau einstellen und so das Gleichgewicht an synaptischen Botenstoffen stabilisiert werden. Das exakte Wirkprinzip und die daran beteiligten Substanzen konnten noch nicht vollständig aufgeklärt werden. Es werden aber zahlreiche Modelle für die Wirkungsweise von *Hypericum perforatum* bei Depressionen diskutiert (BUTTERWECK und NAHRSTEDT 2003).

Die aktuellen Forschungsarbeiten zur Aufklärung der antidepressiven Wirkung setzen auf den drei wesentlichen Ebenen des Geschehens einer depressiven Erkrankung an. Auf der molekularen bzw. neuronalen Ebene stehen *ex-vivo*- und *in-vitro*-Testsysteme im Mittelpunkt. Mit der Ebene einzelner für Depressionen typischer Symptome beschäftigen sich Verhaltensstudien im Tiermodell. Schließlich verfolgen klinische Studien mit depressiven Patienten einen ganzheitlichen Ansatz zur Beurteilung der therapeutischen Wirksamkeit von Johanniskrautextrakten.

Ansatzpunkte zur Erforschung der therapeutischen Wirksamkeit

① molekulare/neuronale Ebene	<i>ex-vivo</i> - und <i>in-vitro</i> -Testsysteme
② Ebene der Symptome	Verhaltenmodelle im Tierversuch
③ therapeutische Ebene	klinische Studien mit Patienten

***ex-vivo*- und *in-vitro*-Testsysteme**

Ausgehend von hypothetischen Wirkmechanismen auf molekularer bzw. neuronaler Ebene wurden zahlreiche *ex-vivo*- und *in-vitro*-Testsysteme entwickelt. *Ex-vivo*-Testsysteme betrachten mit Hilfe von Rezeptorbindungsstudien die Interaktionen pharmakologisch relevanter Inhaltsstoffe an neuronalen Geweben. So konnte zum Beispiel für das Biflavonoid Amentoflavon eine spezifische Bindung an Benzodiazepinrezeptoren des γ -Aminobuttersäure-Komplexes (GABA_A) aus Rattengehirn nachgewiesen werden (BAUREITHEL et al. 1997). Bisanthrachinonglykoside, die ebenfalls in Spuren in *H. perforatum* zu finden sind, sind in der Lage, an Rezeptoren des CRH-1 (Corticotropin releasing hormone-1) zu binden (WIRZ et al. 2000).

In-vitro-Testsysteme beschäftigen sich im ersten Schritt mit der Entwicklung biochemischer Modellreaktionen für das Geschehen im synaptischen Spalt. Im zweiten Schritt werden Auswirkungen von Johanniskrautextrakten und pharmakologisch relevante Einzelsubstanzen auf den Ablauf dieser physiologisch relevanten Modellreaktionen untersucht. Auf diese Weise konnte gezeigt werden, dass Hypericine einen hemmenden Einfluss auf die Aktivität des Enzyms Dopamin- β -Hydroxylase ausüben (DENKE et al. 2000).

Obwohl Rezeptorbindungsstudien und biochemische Testsysteme sehr zum Verständnis der Wirkmechanismen von Johanniskrautextrakten beitragen, liegt ihr Kritikpunkt in der oftmals einseitigen Beleuchtung eines einzelnen Inhaltsstoffes bzw. einer Stoffklasse und in der Beschränkung auf einen Zielmechanismus. In jüngerer Zeit verdichten sich die Hinweise darauf, dass die antidepressive Wirksamkeit von Johanniskrautextrakten auf einem komplexen Zusammenwirken mehrerer Inhaltsstoffgruppen und biochemischer Reaktionsmechanismen beruht. So ist es vorstellbar, dass sowohl der Hemmeffekt der Hypericine auf die Dopamin- β -Hydroxylase (DENKE et al. 2000) als auch die durch Hyperforine gehemmte Wiederaufnahme des Neurotransmitters Serotonin die antidepressive Wirkung begründen (SINGER et al. 1999).

Die hohen Konzentrationen an verschiedenen Flavonoiden schützen die zellulären Membranen vor oxidativer Schädigung und leisten so einen wichtigen Beitrag zum Heilungsprozess (HUNT et al. 2001).

Verhaltensmodelle im Tierversuch

Den Verhaltensstudien im Tiermodell liegen definierte symptomatische Verhaltensweisen von Tieren zugrunde, die einerseits im Zusammenhang zu Depressionen stehen und zum anderen durch Gabe synthetischer Antidepressiva abgeschwächt bzw. vermieden werden. Lassen sich durch die Gabe von Johanniskrautextrakten oder deren Bestandteilen vergleichbare Effekte erzielen, kann auf eine antidepressive Wirkung geschlossen werden. Auf diese Weise konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Johanniskrautextrakten die sogenannte Despair-Reaktion von Ratten im Forced-Swimming-Test nach PORSOLT genauso stark verzögert wie die Gabe synthetischer Antidepressiva (BUTTERWECK 1997).

Therapeutische Wirksamkeit

Obwohl die Mechanismen im Detail bis heute noch nicht abschließend geklärt werden konnten, belegen zahlreiche klinische Studien die antidepressive Wirksamkeit von Johanniskrautextrakten. Eine aktuelle Meta-Analyse von 37 klinischen Studien haben LINDE et al. (2005) erarbeitet. Dabei stößt der Nachweis der therapeutischen Wirksamkeit auf gravierende Schwierigkeiten, die vor allem im Wesen und Verlauf der Depression selbst begründet liegen. Denn unabhängig davon, ob pflanzliche oder synthetische Wirkstoffe bei der antidepressiven Therapie eingesetzt werden, ist etwa die Hälfte bis zwei Drittel des erzielbaren Behandlungserfolges den Selbstheilungskräften der Patienten und deren Förderung durch das therapeutische Umfeld ("Placebo-Effekt") zu verdanken (SCHULZ 2003). Dennoch gilt die Wirksamkeit von Johanniskrautextrakten bei der Therapie leichter bis mittlerer Depressionen als erwiesen.

2.4 Toxikologie und Interaktionen mit anderen Arzneimitteln

Obwohl Johanniskrautextrakte hinsichtlich ihrer Wirksamkeit mit synthetischen Antidepressiva vergleichbar sind, weisen sie ein deutlich günstigeres Nebenwirkungsprofil auf (GRIFFIN et al. 2001, JOHNE et al. 2003 und SCHULZ 2003). Dennoch sind Nebenwirkungen und Interaktionen mit anderen Arzneimitteln bekannt.

Toxikologie und Nebenwirkungen

Für Johanniskrautextrakte liegen keine Hinweise auf eine akute Toxizität vor. Auch bei Gabe über einen langen Zeitraum zeigten sich keine Hinweise auf reproduktionstoxische, mutagene oder kanzerogene Effekte. Es ist bekannt, dass die photodynamisch aktiven Naphthodianthrone bei Weidetieren zu mitunter starken Verbrennungen, den Symptomen des sogenannten Hypericismus, führen können. Obwohl in den Gebrauchs- und Fachinformationen zugelassener Johanniskrautpräparate auf dieses Risiko hingewiesen wird, sind in der Regel keine photo-

toxischen Reaktionen zu erwarten, da diese erst bei der 20fachen therapeutisch zugelassenen Dosis (900-1.500 mg) auftreten. Wird die zugelassene Tagesdosis eingehalten, liegt die Hypericin-Konzentration in der Haut nach experimentellen Befunden weit unterhalb der phototoxischen Schwelle (SCHEMPP CM et al. 1999b).

Somit gelten Johanniskrautpräparate als sichere und effektive Antidepressiva, da sie im Vergleich zu synthetischen Antidepressiva zwar eine vergleichbare Wirksamkeit zeigen, jedoch nur bei 1-3 % der Behandelten (entsprechend 10-30fach weniger) unerwünschte Nebenwirkungen auftreten. Unter diesen nimmt die beschriebene Photosensibilisierung der Haut gegenüber UV-Strahlung die erste Stelle ein (ERNST et al. 1998 und SCHULZ 2003).

Interaktionen mit anderen Arzneimitteln

In den letzten Jahren wurde den gelegentlich auftretenden Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln mehr Aufmerksamkeit geschenkt und die Zusammenhänge im Detail erforscht. Dabei wurde nachgewiesen, dass sich nach Einnahme von Johanniskrautpräparaten zum einen die metabolische Aktivität der Entgiftungsenzyme des Cytochrom-P₄₅₀-Komplexes, speziell des leber- und darmständigen CYP3A4, erhöht. Zum anderen führt eine Aktivitätssteigerung des Transportproteins P-Glykoprotein, das seine Substrate zurück in das Darmlumen pumpt, zu einer zusätzlichen Senkung des Plasmaspiegels von Wirkstoffen anderer Arzneimittel. Diese verringerte Aufnahme ins Blutplasma bei gleichzeitig beschleunigter Metabolisierung führt besonders bei Arzneimitteln mit einer geringen therapeutischen Breite (vgl. Tabelle 1) zu klinisch relevanten Wechselwirkungen (JOHNE et al. 2003). Für die Induktion der CYP-Enzyme ist Hyperforin verantwortlich (SCHMIDT 2002 und KOMOROSKI et al. 2004). Als Konsequenz wurden Johanniskrautpräparate im Dezember 2003 unter die Apothekenpflicht gestellt. Ausgenommen davon sind Präparate in einer Tagesdosis bis zu 1 g Drogenäquivalent und bis zu 1 mg Hyperforin sowie Tee, Frischpflanzensaft und ölige Zubereitungen zur äußerlichen Anwendung (BUNDESGESETZBLATT 2003).

Tabelle 1: Von Interaktionen mit Johanniskrautpräparaten betroffene Arzneimittel

<i>Kategorie</i>	<i>Typ</i>	<i>Präparate</i>
Immunsuppressiva		Ciclosporin, Tacrolimus
Virostatika (zur HIV-Therapie)	HIV-Protease-Inhibitoren Nicht-Nukleotid-Reverse-Transkriptase-Inhibitoren	Indinavir Nevirapin
Chemotherapeutika		Irinotecan
Antikoagulantien	Cumarin-Typ	Warfarin, Phenprocoumon
Antidepressiva	Selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibitoren	Buspiron, Fenfluramin, Fluoxetin, Paroxetin, Sertralin, Venlafaxin, Nefazodon, Trazodon, Loperamid
orale Kontrazeptiva		

nach JOHNE et al. (2003) und SCHULZ (2003)

3. Züchtung

3.1 Züchtungsbedarf

In den vergangenen Jahren entwickelte sich aufgrund einer Rückbesinnung auf traditionelle Behandlungsformen, einer Hinwendung zu pflanzlichen Produkten und der einhergehenden wissenschaftlichen Bestätigung der positiven Wirkungen zahlreicher traditionell angewandter Arzneipflanzen ein wachsender Markt für Phytopharmaka. Ein besonderes Interesse fanden dabei Johanniskrautpräparate als Alternative zu synthetischen Antidepressiva bei der Behandlung von leichten bis mittleren Depressionen.

Wildsammlungen von Johanniskraut konnten jedoch weder die erforderlichen Mengen abdecken, noch die gestiegenen Anforderungen der Arzneimittelgesetzgebung an eine gleichbleibend hohe Qualität der Droge erfüllen (vgl. Tabelle 2). Zur Sicherung der Drogenbeschaffung und zur Einhaltung der Qualitätskriterien war es deshalb notwendig, geeignete Kulturverfahren für den kontrollierten Anbau von Johanniskraut zu entwickeln. Der aktuelle Stand der Produktionstechnologie für diese junge Kulturpflanze findet sich bei BOMME (1997). Demnach wird Johanniskraut am zweckmäßigsten aus Samen herangezogen und dann auf das vorbereitete Feld ausgepflanzt. Bei guter Kulturführung kann der Feldbestand für bis zu drei Jahre ein- bis zweimal jährlich beerntet werden.

Nachdem der Johanniskrautanbau in den vergangenen Jahren einen regelrechten Boom erlebte und zwischenzeitlich auch minderwertige Droge regen Absatz fand, hat sich in jüngerer Zeit, ausgelöst vor allem durch die Nebenwirkungsdebatte in den USA, eine Konsolidierung des Marktes eingestellt. Davon unberührt blieb jedoch die Nachfrage nach qualitativ hochwertiger Rohware. Mit der Ausweitung des Anbaus von Johanniskraut genügten die bis dahin verwendeten Herkünfte und Sorten immer weniger den gewachsenden Ansprüchen seitens der Erzeuger und der verarbeitenden Industrie.

Durch züchterische Bearbeitung können Johanniskrautsorten entwickelt werden, die den vielfältigen Anforderungen an die Drogenqualität entsprechen und gleichzeitig den Erzeuger in die Lage versetzen, mit hoher Ertragssicherheit zu marktfähigen Preisen zu produzieren. Am deutlichsten wird der dringende Züchtungsbedarf angesichts der verschiedenen agronomischen und pharmakologischen Eigenschaften, die eine moderne Johanniskrautsorte idealerweise in sich vereinigen sollte.

Die Entwicklung beim Sortenschutz für die Arzneipflanze Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) dokumentiert die Relevanz des Themas. Zur Zeit besteht in Deutschland Sortenschutz für 10 registrierte Johanniskrautsorten, für eine weitere Sorte wurde der Sortenschutz beantragt (BUNDESSORTENAMT 2005). Für drei Johanniskrautsorten besteht EU-Sortenschutz beim gemeinschaftlichen Sortenamnt der Europäischen Union (CPVO 2005).

3.2 Zuchtziele

Eine gut durchdachte Strategie zur züchterischen Bearbeitung von Arzneipflanzen im Allgemeinen und Johanniskraut im Besonderen zeichnet sich dadurch aus, dass sie die teilweise divergierenden Vorstellungen von Produzenten und der verarbeitenden pharmazeutischen Industrie in gleichem Maße berücksichtigt. Gleichzeitig muss die Qualität der Droge zahlreiche gesetzliche Bestimmungen und Vorgaben erfüllen (vgl. Tabelle 2).

Sowohl die Quantität als auch die äußere und innere Qualität der produzierten Ausgangsdroge hängen entscheidend von der Anbaueignung einer Sorte und deren Reaktion auf die angewandten Kulturmaßnahmen ab. Deshalb darf die Bedeutung der agronomischen Leistungsfähigkeit einer Sorte nicht durch eine einseitige Fokussierung auf die Gehalte pharmakologisch relevanter Inhaltsstoffe unterschätzt werden.

Tabelle 2: Qualitätsanforderungen an Johanniskrautdroge

mind. 0,08 % Gesamthypericin in der Droge (blühendes Kraut) nach PH. EUR. (2005)
mind. 0,25 % Gesamthypericin in der Droge (maschinell erntbarer Blühhorizont) nach HANNIG (1995)
hoher Flavonoidgehalt, besonders Hyperosid, Rutin und I3,II8-Biapigenin (HANNIG et al. 1995)
max. 3 % Stängel mit einem Durchmesser über 5 mm (PH. EUR. 2005)
max. 2 % fremde Bestandteile (PH. EUR. 2005)
max. 10 % Trocknungsverlust bzw. Restfeuchte (PH. EUR. 2005)
max. 7 % Aschegehalt (PH. EUR. 2005)
25 % Gesamtextraktgehalt nach methanolischer Extraktion (HANNIG et al. 1995)
max. 0,5 mg/kg Cadmium (Cd) als Ausnahme für <i>Hypericum perforatum</i> L. (BMG, BfArM)
max. 5,0 mg/kg Blei (Pb), (BMG, BfArM)
max. 0,1 mg/kg Quecksilber (Hg), (BMG, BfArM)
mikrobiologische Anforderungen des PH. EUR. (2005) für Fertigarzneimittel
Pestizidrückstände nach PH. EUR. (2005) und Rückstandshöchstmengenverordnung
max. 2 µg/kg Aflatoxin B1, max. 4 µg/kg Summe der Aflatoxine B1, B2, G1 und G2 (BMG, BfArM)

3.2.1 Agronomische Zuchtziele

Technologische Eignung

Im Hinblick auf eine konkurrenzfähige Produktionstechnologie und die Erzeugung qualitativ hochwertiger Rohware lassen sich einige wichtige agronomische Merkmale bzw. Zuchtziele unter dem Begriff "technologische Eignung" zusammenfassen. Die technologische Eignung einer neuen Sorte ist dann als hoch zu bewerten, wenn ihre Eigenschaften dazu beitragen, den Aufwand für die Bestandespflege zu reduzieren, die Weiterentwicklung der Kulturtechnik zu unterstützen und die äußere und innere Qualität der Rohdroge günstig zu beeinflussen.

Bezüglich des Habitus ist ein straffer, aufrechter und nicht zu hoher Wuchs anzustreben, da solche Pflanzen eine wesentlich bessere Standfestigkeit aufweisen. Durch die geringere Nei-

gung zum Lagern wird die Gesunderhaltung des Pflanzenbestandes unterstützt, die mechanische Unkrautregulierung erleichtert und das Erntegut vor Verschmutzung geschützt.

Die innere Qualität der Rohware wird maßgeblich von einem hohen Blütenanteil bestimmt. Deshalb stellt die Erzeugung qualitativ hochwertiger Droge nicht nur eine Herausforderung für die Kultur- und Erntetechnik dar, sondern vor allem für die Selektion geeigneter Typen durch den Züchter. Für eine effiziente maschinelle Ernte ist neben dem aufrechten Wuchs eine homogene Bestandsentwicklung mit einheitlicher Höhe und einem gedrängten Blühhorizont von großem Vorteil. Eine möglichst gleichzeitige Blüte über den gesamten Feldbestand erlaubt es, die Ernte zum optimalen Schnitzeitpunkt durchzuführen (FAH 1998).

Hohe und stabile Erträge

Grundsätzlich nimmt bei allen Kulturpflanzen der Ertrag eine wichtige Stellung innerhalb der agronomischen Zuchtziele ein. Ein hoher und stabiler Ertrag versetzt zum einen den Produzenten in die Lage, erfolgreich zu wirtschaften. Zum anderen ist dadurch für den Abnehmer eine gesicherte Versorgung mit Drogenmaterial gewährleistet. Keinesfalls darf jedoch der Drogenertrag einseitig zu Lasten der pharmakologischen Qualität gehen.

Resistenz

Johanniskraut wird zwar je nach individueller Anfälligkeit der Herkünfte mitunter sehr stark von Mehltau (*Erysiphe hyperici* (WALLR.) S. BLUMER) befallen. Die größte Gefährdung für den Anbau, bis hin zu Totalausfällen, geht jedoch von der Johanniskrautwelke aus. Sie wird durch den wirtsspezifischen und hochgradig virulenten pilzlichen Erreger *Colletotrichum* cf.¹ *gloeosporioides* (PENZ.) SACC. [Teleomorph *Glomerella* cf. *cingulata* (STONEM.) SPAULDING & SCHRENK] (MORDUE 1971) verursacht (GÄRBER 1999). Da Johanniskraut mehrjährig angebaut wird, führt ein früher Befall mit Welke zu erheblichen Ertragseinbußen.

Infizierte Pflanzen weisen an der Stängelbasis braune, leicht eingesunkene Läsionen auf. Bei trockener Witterung zeigen die erkrankten Triebe zuerst Welkesymptome, dann treten Vergilbungen oder Rotverfärbungen des Krautes auf, bis schließlich einzelne Stängel vertrocknen (Abbildung 6) oder die ganze Pflanze abstirbt (BOMME 1997). An der Befallsstelle sind die mit dunklen Setae besetzten Acervuli zu finden. Diese geben die zahlreichen einzelligen hyalinen Konidien als schleimige lachsfarbene Masse frei (GÄRBER 1999). In der Hauptfruchtform bildet der Pilz Perithezien mit Ascosporen, die ein wesentlich geringeres Infektionspotential als die Konidien aufweisen und der Überdauerung des Erregers dienen (GÄRBER und SCHENK 2003). Obwohl eine bodenbürtige Übertragung des Pilzes nicht ausgeschlossen ist, geht von benachbarten Beständen eine wesentlich höhere Infektionsgefahr aus. Als wichtigste Infektionsquelle fungiert jedoch oberflächlich kontaminiertes oder auch infi-

¹ Der Ausdruck cf. (Abk. für confer [lat./engl.] = vergleiche) bedeutet, dass der Pilz dieser Art zwar ähnlich ist, ihr aber nicht exakt entspricht und deshalb taxonomisch noch zu bearbeiten ist.

ziertes Saatgut, das den Erreger in der Samenschale bzw. unter günstigen Bedingungen sogar im Embryo trägt. Die Keimlinge und Jungpflanzen sind besonders anfällig, sodass oftmals bereits das verwendete Pflanzmaterial einen hohen Anteil latent infizierter Pflanzen aufweist (GÄRBER und SCHENK 2002a). Da der extrem virulente Pilz in der Lage ist, die Wirtspflanze in allen Entwicklungsstadien zu infizieren, findet über die Konidien bei feuchtwarmer Witterung eine rasche epidemieartige Ausbreitung im Bestand statt, die schon im ersten Standjahr zu erheblichen Ausfällen führen kann (GÄRBER und SCHENK 2002b).

Das Auffinden von Typen mit einer möglichst breiten Resistenz ist für die Zukunft des kontrollierten Anbaus von Johanniskraut von entscheidender Bedeutung, da wirksame Pflanzenschutzmittel für die Zulassung im Verfahren der Lückenindikation auf absehbare Zeit nicht zur Verfügung stehen werden (SCHADWINKEL et al. 2000).



Abbildung 6: Schadbild der Johanniskrautwelke (*Colletotrichum cf. gloeosporioides*)

3.2.2 Pharmakologische Zuchtziele

Hoher Gehalt an Inhaltsstoffen

Der therapeutische Wert von Arzneipflanzenextrakten hängt maßgeblich von der Qualität der Ausgangsdroge ab. Deshalb zählt ein hoher Gehalt an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen zu den wichtigsten Zuchtzielen. Trotz des breiten Inhaltsstoffspektrums von Johanniskraut schreibt die zur Zeit gültige Monographie des Europäischen Arzneibuches (PH. EUR. 2005) lediglich einen Mindestwert von 0,08 % Gesamthypericin in der Droge vor. Unabhängig von den Vorgaben des Gesetzgebers fordert die pharmazeutische Industrie von ihren Lieferanten die Einhaltung höherer Qualitätsnormen, die in der Regel Bestandteil von Anbauverträgen sind (HANNIG et al. 1995, vgl. Tabelle 2).

Hohe pharmakologische Wirksamkeit

Mittlerweile gilt es als gesichert, dass die Hypericine nicht das alleinige Wirkprinzip gegen depressive Zustände darstellen. Dennoch wird in der pharmazeutischen Industrie nach wie vor der Gehalt an Naphthodianthronen, berechnet als Hypericin, für die qualitative Bewertung

einer Drogencharge herangezogen. Gleichzeitig ist auf eine hohe Extraktausbeute zu achten (HANNIG et al. 1995). Für die Züchtungsarbeit ist es notwendig, das gesamte Spektrum der verfügbaren Inhaltsstoffe, also Naphthodianthrone, Flavonoide und Phloroglucinderivate in geeigneter Weise zu berücksichtigen. Nur so kann eine leistungsfähige Sorte den aktuellen Anforderungen genügen und auf neue Erkenntnisse in der Wirkstofffindung vorbereitet sein.

Gleichbleibende Rohstoffqualität

Immer wichtiger wird die Erzeugung großer Drogenchargen mit einer konstant hohen Rohstoffqualität, da die Forderung nach einer lückenlosen Dokumentation des Anbaus und der anschließenden Verarbeitung einen zusätzlichen Aufwand mit sich bringt. Qualität, die erst nach aufwändigen Verarbeitungs- und Veredelungsschritten erreicht werden kann, ist einer gewachsenen Qualität auf allen Ebenen, besonders auf der wirtschaftlichen, unterlegen. Der Anbau von Sorten mit einer gleichbleibend hohen Rohstoffqualität liegt unter dem Aspekt der Ertrags- und Liefersicherheit sowohl im Interesse der Produzenten als auch der verarbeitenden Industrie.

Geringe Cadmium-Gehalte

Johanniskraut besitzt ein hohes Aneignungsvermögen für Cadmium und zählt deshalb zu den sogenannten Akkumulatorpflanzen für dieses Schwermetall. Um diesen Umstand zu berücksichtigen, wurde der allgemein für Arzneipflanzen gültige Cadmium-Grenzwert von 0,2 mg/kg für Johanniskraut auf 0,5 mg/kg Trockenmasse erhöht (PLESCHER et al. 1995). Die Einhaltung dieses Grenzwertes bereitet in der Praxis dennoch Probleme. Deshalb wird empfohlen, den Anbau auf Böden mit anthropogen verursachter Schwermetallbelastung oder einem hohen natürlichen Cadmiumgehalt, wie beispielsweise Schieferverwitterungsböden, zu vermeiden (BOMME 1997). SCHNEIDER und MARQUARD (1996) konnten zeigen, dass deutliche genotypische Unterschiede bezüglich der Cadmiumaufnahme vorliegen. Somit besteht die Möglichkeit, Johanniskrautlinien zu selektieren, die weniger Cadmium anreichern.

Die Gesamtheit aller Anforderungen unterstreicht die Notwendigkeit einer zielgerichteten züchterischen Bearbeitung von Johanniskraut. Die wichtigsten Zuchtziele können nur mit einer leistungsstarken Klonsorte erreicht werden, die eine ausgesprochene Stabilität und Vitalität im Verlauf der mehrjährigen Kultur gewährleistet.

Vorrangige Ziele bei der Züchtung von Johanniskraut

- ① Ertragssicherheit auf hohem Niveau durch Resistenz
- ② hohe technologische Eignung
- ③ hoher Gehalt an Inhaltsstoffen (Flavonoide, Hypericine, Hyperforine)
- ④ hohe pharmakologische Wirksamkeit des Extaktes

4. Fortpflanzungsbiologie

Bei der Züchtung von Kulturpflanzen ist die Entwicklung und Anwendung verschiedener Zuchtmethoden entscheidend von der Fortpflanzungsweise der jeweiligen Art abhängig (KUCKUCK et al. 1985). Daher muss sich der Züchter, will er seinen Erfolg nicht dem Zufall überlassen, mit der Reproduktionsbiologie seines Objektes auseinandersetzen und aufgrund der gewonnenen Erkenntnisse eine möglichst effiziente Strategie für seine Züchtungsarbeit entwickeln. Im vorliegenden Fall stellt sich jedoch nicht die Frage nach der Art der sexuellen Reproduktion im klassischen Feld zwischen Fremd- und Selbstbefruchtung, da sich Johanniskraut auf apomiktischem Wege fortpflanzt.

Apomixis

Findet bei der Fortpflanzung im Gegensatz zur Amphimixis keine Vereinigung zweier reduzierter Gameten mit gleichzeitiger Rekombination des genetischen Materials statt, spricht man von Apomixis. Dazu zählt zunächst jede Form vegetativer Vermehrung wie zum Beispiel durch Brutknollen, Bulbillen, Rhizome oder Viviparie. Als Apomixis im engeren Sinne wird allerdings nur die sogenannte Agamospermie, also die Samenbildung ohne die Vereinigung zweier reduzierter Gameten, bezeichnet (KUCKUCK et al. 1985). Für detailliertere Ausführungen zur Biologie der Fortpflanzung und zum Thema Apomixis sei auf HANNA and BASHAW (1987), KOLTUNOW (1994), ODENBACH (1997) und DRESSELHAUS (2000) verwiesen.

4.1 Apomixis bei Johanniskraut

Die Fortpflanzungsweise des Johanniskrautes erregte bereits früh das Interesse der Botaniker. Kreuzungen verschiedener Rassen von *Hypericum perforatum* ($2n = 4x = 32$), die sowohl aus verschiedenen Herkunftsgebieten stammten als auch von auffällig unterschiedlichem Habitus waren, ergaben stets muttergleiche Nachkommen. Dasselbe Phänomen trat auch in der F_2 -Generation und bei Rückkreuzungen mit dem Vater auf. Daraus schloss NOACK (1939) auf das Vorliegen von Apomixis (vgl. Abbildung 7). Da die Embryosackmutterzelle abstirbt und die neu entstehende unreduzierte Eizelle auf eine somatische Zelle zurückgeht, spricht man von Aposporie (MÁRTONFI et al. 1996b).

Die Untersuchungen von BRUTOVSKÁ et al. 1998 bestätigen, dass ca. 7 % normal reduzierte Eizellen gebildet werden. Deshalb ist der Grad an Apomixie als fakultativ zu charakterisieren. Unbestäubte Blüten bringen jedoch keinen Samenanatz, da die Eizelle zur Embryonalentwicklung auf die Befruchtung des sekundären Embryosackkerns und das daraus entstehende Endosperm angewiesen ist, also Pseudogamie vorliegt. Johanniskraut ist selbstkompatibel, setzt aber bei Fremdbestäubung wesentlich mehr Samen an. Zudem findet sich bei *Hypericum perforatum* L. der seltene Fall, dass die apospor entstandenen Eizellen selbst zwar keiner Befruchtung bedürfen, aber ihre Befruchtungsfähigkeit bewahrt haben. Allerdings treten aufgrund der geringen Vitalität nur wenige hexaploide Pflanzen unter den Nachkommen auf.

Die bei Johanniskraut vorliegende Form von fakultativer Apomixis ist deshalb generell als pseudogame Aposporie mit beibehaltener Befruchtungsfähigkeit der Eizellen zu beschreiben.

Ausgehend von diesem Grundmodell zeigt die Ausprägung der Apomixis eine hohe Plastizität. So konnten MATZK et al. (2001) insgesamt elf Wege der Samenbildung und das Auftreten verschiedener Ploidiegrade nachweisen. Gleichzeitig wurden Genotypen mit einer obligat sexuellen oder apomiktischen Samenbildung indentifiziert. Diese Befunde lassen auf eine komplexe genetische Kontrolle des Reproduktionsmodus von Johanniskraut schließen.

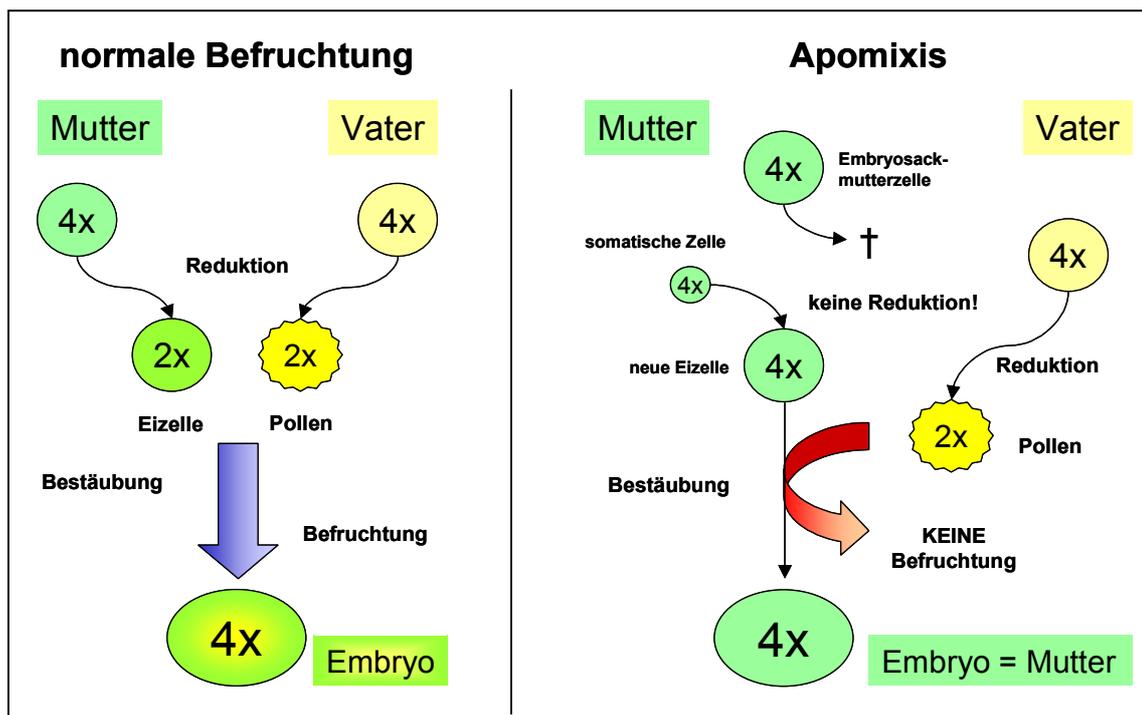


Abbildung 7: Schematische Darstellung zur Apomixis bei Johanniskraut

Cytologische Untersuchungen zur Pollenentwicklung ergaben, dass die Antheren von *H. perforatum* in der Lage sind, normal reduzierten Pollen hervorzubringen. Dabei kommt es aber zu einem erheblichen Anteil von Aberrationen in der Chromosomenzahl, die bei 30 bis 50 % der Pollenkörner Sterilität bedingen.

NOACK (1939) vermutet als Ursache für die apomiktische Fortpflanzungsweise und die niedrige Pollenfertilität von Johanniskraut dessen interspezifische Hybridnatur. Nach CAMPBELL and DELFOSSE (1984) geht die Art *Hypericum perforatum* L. auf eine Hybridisierung der beiden diploiden Arten *H. maculatum* CR. und *H. attenuatum* L. mit anschließender Chromosomenverdopplung zurück. Neuere cytogenetische Untersuchungen widersprechen dieser Hypothese, da keine Hinweise auf eine Beteiligung von *H. attenuatum* L. gefunden werden konnten. Vermutlich ist die Art *H. perforatum* L. durch Autotetraploidisierung aus einem gemeinsamen Vorfahren mit *H. maculatum* CR. hervorgegangen (BRUTOVSKÁ et al. 2000).

4.2 Konsequenzen für die Züchtungsarbeit

Angesichts der hohen Anforderungen, die an eine Johanniskrautsorte bezüglich ihrer Stabilität in der agronomischen Leistungsfähigkeit und der pharmakologischen Qualität gestellt werden (siehe I 3.2), kommt nur die Entwicklung einer Klonsorte in Frage. Deren wesentlicher Vorteil besteht darin, dass ein homogener Feldbestand erreicht wird und der gewünschte Genotyp über viele Anbauzyklen konstant vermehrt werden kann.

Fortpflanzungsbiologie von Johanniskraut:

- ① fakultative Apomixis
 - ⇒ ca. 93 % muttergleicher Nachkommen
- ② reduzierter Pollen mit 30 % bis 50 % Sterilität
- ③ Pseudogamie
 - ⇒ Bestäubung zum Samenansatz notwendig
- ④ Eizellen befruchtungsfähig, wenige reduzierte Eizellen
 - ⇒ Rekombination möglich

Die für Klonsorten notwendige vegetative Vermehrung ist allerdings mit dem großen Nachteil der leichten Übertragung von Krankheiten, insbesondere von Virose, verbunden. Daher gestaltet sich die Produktion von gesundem Pflanzgut sehr aufwändig. Bei der vegetativen Vermehrung über Samen, wie sie bei der apomiktischen Fortpflanzung der Fall ist, bleibt der gewünschte Genotyp in der nächsten Generation erhalten, ohne dass gleichzeitig Virose weitergegeben werden (BECKER 1993). Allerdings wird durch die Apomixis die Möglichkeit einer Neukombination verschiedener Merkmale und die damit verbundene Erzeugung neuer Variabilität sehr stark limitiert. Dementsprechend kann die Apomixis für den Pflanzenzüchter sowohl ein nützliches Werkzeug als auch ein Hindernis für den Züchtungsfortschritt darstellen (STOSKOPF et al. 1993).

Bei obligaten Apomikten sind Kontaminationen einer Sorte durch unerwünschte Selbstungen und Kreuzungen nahezu ausgeschlossen. So können einmal selektierte Genotypen trotz eines hohen Grades an Heterozygotie über viele Generationen konstant erhalten und in großer Zahl vermehrt werden. Da Johanniskraut zu den fakultativen Apomikten zählt, macht das geringe aber dennoch mögliche Auftreten von Selbstungen und Kreuzungen eine sorgfältige Erhaltungszüchtung notwendig, um die Sorten rein zu halten.

Bei der züchterischen Bearbeitung von Apomikten sind die Möglichkeiten zur Schaffung neuer Variabilität durch Kombinationszüchtung, besonders im Hinblick auf die gezielte Einkreuzung erwünschter Eigenschaften (z.B. Resistenz), sehr stark begrenzt. Die fakultative Natur der Apomixis bei Johanniskraut lässt allerdings einen geringen Anteil an Rekombinationen zu. In welchem Ausmaß jedoch bei einem fakultativen Apomikten Nachkommen

gefunden werden, die auf reduzierte Eizellen zurückgehen, hängt sehr stark vom jeweiligen Genotyp und verschiedensten Umwelteinflüssen ab (KOLTUNOW 1994).

4.3 Ansatzpunkte für die Entwicklung von Johanniskrautsorten

Aus der dargestellten Reproduktionsbiologie des Johanniskrautes und den daraus resultierenden Konsequenzen für die Züchtungsarbeit ergeben sich mehrere konkrete Ansatzpunkte für die Entwicklung neuer Johanniskrautsorten.

Ansatzpunkte für die Züchtung von Johanniskraut:

① **Ausgangsmaterial:**

Sammlung von Wildherkünften

Nutzung vorhandener Sorten

② **Zuchtmethoden:**

Rekombination

Mutation

Biotechnologische Methoden

Ausgangsmaterial

Johanniskraut ist eine ausgesprochen junge, erst wenig züchterisch bearbeitete Kulturpflanze, die noch einen ausgeprägten Wildcharakter aufweist. Es ist daher durchaus erfolgversprechend, die natürlichen genetischen Ressourcen in Form der zahlreichen Wildpflanzen an Wegrändern und auf Brachflächen als Ausgangsmaterial für die Züchtung heranzuziehen. Trotz der apomiktischen Fortpflanzungsweise belegten die Untersuchungen von BÜTER et al. (1998), BERGER-BÜTER et al. (1998) und FRANKE et al. (1999) eine hohe Variabilität zwischen verschiedenen Herkünften aus dem natürlichen Genpool von *Hypericum perforatum*. Mit der Sammlung von Wildherkünften kann somit Ausgangsmaterial mit einer breiten genetischen Diversität gewonnen werden. Bei der praktischen Durchführung von Sammlungen ist eine Entnahme der Pflanzen vom Naturstandort zu vermeiden. Stattdessen ist die Ernte von Samen vorzuziehen, da aus ihnen muttergleiche Nachkommen hervorgehen.

Schon bei der Auswahl der Pflanzen am Naturstandort ist eine erste Selektion anhand morphologischer Merkmale wie Habitus, Wüchsigkeit und Blütenreichtum möglich. Es hat sich jedoch als vorteilhaft erwiesen, in einem ersten Schritt möglichst unterschiedliche Typen zu erfassen. Denn der züchterische Wert einer Wildherkunft kann erst im Vergleichsanbau mit Standardsorten und nach der biochemischen Charakterisierung der Droge ermittelt werden.

Bereits vorhandene Sorten sind nicht nur als Referenzgröße zur Bewertung neuer Genotypen von großer Bedeutung, sondern stellen auch ihrerseits wertvolles Ausgangsmaterial für die Züchtungsarbeit dar. Als Vergleichssorten bieten sich 'Taubertal' und 'Topaz' an, die den

Anbau in Deutschland dominieren (BLUM 1999). Da die Sorte 'Taubertal' im Vergleich zur anfälligeren Sorte 'Topaz' eine gewisse Widerstandsfähigkeit gegenüber *Colletotrichum cf. gloeosporioides* erkennen lässt, ist sie als Referenz und als Kreuzungspartner von besonderem Interesse. Die Beobachtung, dass verschiedene Saatgutherkünfte der Sorte 'Topaz' inhomogene Bestände ergeben, lässt den Schluss zu, dass es sich bei Saatgut dieser Sorte im vorliegenden Fall nicht um genetisch einheitliches Material, sondern um ein Gemisch mehrerer Linien handelt (vgl. IV 1.1). Daher besteht die Möglichkeit, 'Topaz' und insbesondere heterogene Herkünfte von Handelssaatgut in einzelne Linien aufzutrennen und aus diesen weiter zu selektieren.

Zuchtmethoden

Wie bereits dargelegt, sind der züchterischen Bearbeitung von Johanniskraut durch die apomiktische Fortpflanzungsweise sehr enge Grenzen gesetzt. Im Idealfall lassen sich bereits aus dem zusammengetragenen Ausgangsmaterial sortentaugliche Herkünfte selektieren. In der Regel werden jedoch im ersten Selektionsschritt mehrere Herkünfte mit positiven Eigenschaften selektiert, die dann einer weiteren Überprüfung und Verbesserung bedürfen.

Die Tatsache, dass ca. 3 bis 7 % reduzierte Eizellen gebildet werden (NOACK 1939 und BRUTOVSKA et al. 1998), lässt zumindest theoretisch die Möglichkeit einer Rekombination positiver Merkmale auf sexuellem Wege offen. In der praktischen Durchführung ergeben sich jedoch Schwierigkeiten aus der erforderlichen hohen Pflanzenanzahl, da eine einfache Methode zur schnellen und sicheren Identifikation der wenigen Kreuzungsprodukte fehlt. Eine Perspektive für die Kombinationszüchtung von Johanniskraut liegt in der Identifizierung von apomiktischen Genotypen, die über einen höheren Anteil an normal reduzierten Eizellen verfügen, oder von Genotypen, die auf rein sexuelle Weise Samen bilden (MATZK et al. 2001).

Da *H. perforatum* reduzierten Pollen bildet, sind interspezifische Kreuzungen sexuell reproduzierender diploider *Hypericum*-Arten mit *H. perforatum* als Pollenspender erfolgversprechend (SCHULTE et al. 1999). Dem steht allerdings die alleinige Zulassung von *H. perforatum* L. als Ausgangsdroge für die Arzneimittelherstellung entgegen (PH. EUR. 2005). Andere Johanniskrautarten wie beispielsweise *H. maculatum* CR. und *H. montanum* L. werden nämlich als Verfälschungen der Droge HYPERICI HERBA betrachtet (WICHTL 1997).

Ein weiterer Ansatz zur Vergrößerung der genetischen Variabilität des Ausgangsmaterials ist die Erzeugung von Mutationen. Experimentell werden diese durch energiereiche ionisierende Strahlung wie Röntgen- und Gammastrahlen, oder durch Neutronen ausgelöst. Eine Reihe chemischer Verbindungen mit aktiven Alkylgruppen wie beispielsweise Ethylmethansulfonat (EMS) hat sich ebenfalls zur Induktion von Mutationen als brauchbar erwiesen (KUCKUCK et al. 1985). Bei der *in-vitro*-Regeneration von Johanniskrautpflanzen aus Kallus wurde eine Vielzahl somaklonaler Variationen beobachtet, die sich vor allem im Habitus und im Hypericingehalt von der Ausgangspflanze unterschieden (ČELLÁROVÁ et al. 1994 und BRUTOVSKÁ et

al. 1998). Um die Effekte der verschiedenen mutagenen Systeme im Experiment erfassen zu können, ist die Verwendung gut definierten Ausgangsmaterials von entscheidender Bedeutung. Erfolgreiche Ergebnisse sind besonders dann zu erwarten, wenn bereits sortentaugliche Herkünfte verwendet werden.

Zur züchterischen Bearbeitung von Johanniskraut stehen auch verschiedene biotechnologische Methoden zur Verfügung. Darunter wird die Antherenkultur zur Erzeugung dihaploider ($n = 2x = 16$) Individuen von *H. perforatum* als aussichtsreichste Technik bewertet (SCHULTE et al. 1996). Nach einer Selektion auf ihren agronomischen und pharmakologischen Zuchtwert können vielversprechende dihaploide Genotypen durch Protoplastenfusion miteinander kombiniert werden (ELLGEHAUSEN et al. 1998). Eine weitere Möglichkeit stellt die direkte Verwendung interessanter dihaploider Individuen nach Chromosomenverdopplung durch Colchizinierung dar. Schließlich können Kreuzungen dihaploider *H. perforatum*-Regenerate mit diploiden Arten der Gattung durchgeführt werden. Eine somatische Hybridisierung zwischen dihaploiden Regeneraten von *H. perforatum* und anderen diploiden *Hypericum*-Arten ist ebenfalls denkbar. Auf mögliche Konflikte mit den Zulassungsvorschriften für die Herstellung von Arzneimitteln wurde bereits hingewiesen.

5. Zielsetzung und Vorgehensweise der Arbeit

Ausgehend vom bestehenden Züchtungsbedarf und den Anforderungen, die seitens der Erzeuger und der pharmazeutischen Industrie an eine moderne Johanniskrautsorte gestellt werden, lassen sich wichtige agronomische und pharmakologische Zuchtziele formulieren. Ziel der vorliegenden Arbeit ist, durch die Entwicklung agronomischer und pharmakologischer Selektionskriterien einen Beitrag zum aktuellen Thema Züchtung von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) zu leisten.

Die praktische Vorgehensweise entspricht dabei im Grunde der eines jeden Zuchtprojektes. Nach der Definition der Zuchtziele folgt die Zusammenstellung und Gewinnung von Ausgangsmaterial, das sich im Idealfall durch eine hohe phänotypische Variabilität und genetische Diversität auszeichnet. Im vorliegenden Projekt werden Sorten, Saatgutherkünfte sowie zahlreiche Selektionen und Wildherkünfte untersucht. Die Überprüfung der insgesamt 139 Herkünfte erfolgt in Form von drei Versuchspflanzungen, wobei eine Selektion zusätzlich im Feldanbau unter Praxisbedingungen getestet wird.

Mit Hilfe geeigneter Methoden werden die morphologischen und physiologischen Merkmale der Herkünfte erfasst und bezüglich ihrer Relevanz für den feldmäßigen Anbau von Johanniskraut bewertet. Aus diesen Merkmalen werden jene ausgewählt, die sich als Selektionskriterien zur Erreichung der agronomischen Zuchtziele anwenden lassen.

Da bereits zu Beginn des Projektes bekannt war, dass sich GÄRBER und SCHENK (2003) intensiv mit der Epidemiologie von *Colletotrichum cf. gloeosporioides* und der Entwicklung einer Resistenzprüfmethode beschäftigen, waren zu diesem Thema in der vorliegenden Arbeit keine eigenen Untersuchungen geplant. Die Ergebnisse von GÄRBER und SCHENK werden in geeigneter Weise berücksichtigt.

Zur Entwicklung pharmakologischer Selektionskriterien war es zuerst notwendig, die Probenaufbereitung, Extraktion und HPLC-Analytik im Hinblick auf die speziellen Anforderungen, die seitens der Züchtung an die Inhaltsstoffanalytik gestellt werden, zu optimieren. Diese bestehen vor allem darin, eine große Anzahl von Proben mit überschaubarem Aufwand und gleichzeitig hoher Zuverlässigkeit zu analysieren und dabei eine hohe Selektionsschärfe zu garantieren. Vor allem in diesem Zusammenhang und bezüglich der Frage nach dem idealen Erntezeitpunkt der Proben erwiesen sich die Untersuchungen zur Ertragsphysiologie des Johanniskrautes als notwendig und richtungweisend.

Außerdem wird die Relevanz einzelner Inhaltsstoffe und Inhaltsstoffgruppen für die pharmakologische Wirksamkeit von Johanniskrautextrakten diskutiert. In diesem Zusammenhang sei auch auf die parallel gelaufenen Untersuchungen von MANN (2003) zur Selektion von Johanniskraut anhand biochemischer Testsysteme verwiesen.

Basierend auf den Anforderungen der Industrie, den Erkenntnissen über den Beitrag einzelner Inhaltsstoffe zur antidepressiven Wirkung des Extraktes und auf Basis der vorgefundenen Variabilität im untersuchten Pflanzenmaterial werden dann pharmakologische Selektionskriterien definiert.

Unter Berücksichtigung der apomiktischen Fortpflanzungsweise von Johanniskraut und den daraus resultierenden Konsequenzen für die Zuchtmethodik wird ein Selektionsschema entwickelt, das die vorgestellten agronomischen und pharmakologischen Selektionskriterien in einen zeitlich sinnvollen Bezug setzt. Dadurch werden die Voraussetzungen für die züchterische Entwicklung einer neuen Sorte geschaffen, die bei einer mehrjährigen Kulturpflanze wie dem Johanniskraut einen Zeitraum von ca. 8 bis 12 Jahren in Anspruch nehmen kann.

Schließlich wird eine Auswahl von Herkünften, die aus züchterischer Sicht von besonderem Interesse sind, vorgestellt und hinsichtlich ihres agronomischen und pharmakologischen Potentials bewertet.

II Material und Methoden

1. Ausgangssituation und Pflanzenmaterial

Die Ausgangssituation für das vorliegende Projekt ergibt sich aus vorangegangenen Arbeiten von DENKE, MANN und NEBELMEIR. Es wurde festgestellt, dass sich verschiedene Phänotypen auch in ihrer pharmakologischen Wirksamkeit unterscheiden (DENKE et al. 1999b). Weiter konnte gezeigt werden, dass für die züchterische Bearbeitung von Johanniskraut aufgrund seiner vorrangig apomiktischen Fortpflanzungsweise (vgl. I 4) nur wenige Strategien Erfolg versprechen (NEBELMEIR 2000). Ausgehend von diesen Vorkenntnissen wurden zuerst alle bereits im Projekt zusammengetragenen Sorten, Herkünfte und Wildsammlungen auf ihre Anbaueignung überprüft. Daneben wurde die Strategie verfolgt, durch Selektion aus Sorten und kommerziell vertriebenen Johanniskraut-Herkünften die genetische Variabilität des Ausgangsmaterials zu erweitern. Zusätzlich wurden in Form von Sammlungen verschiedener Herkünfte am Naturstandort neue genetischen Ressourcen der Gattung *Hypericum* in die vorliegende Arbeit eingebracht. Tabelle 3 gibt eine Übersicht zu den insgesamt 139 Sorten, Saatgutherkünften, Selektionen und Wildherkünften.

Sorten und Saatgutherkünfte

Als Referenzmaterial stand Saatgut der Sorten 'Taubertal' und 'Topaz' zur Verfügung. Die bewährte Sorte 'Topaz' aus dem INSTITUT FÜR HEILPFLANZENFORSCHUNG POZNAŃ (PL) ist bereits seit 1982 im Handel (BUNDESSORTENAMT 2002). Mittlerweile entfällt jedoch der größte Anteil der deutschen Anbaufläche auf die Sorte 'Taubertal' des Züchters ERNST RIEGER, die seit 2002 EU-Sortenschutz genießt (BUNDESSORTENAMT 2002).

Das Saatgut der Sorten 'Taubertal', 'Goldstern' und 'Topaz' I und der Herkünfte Nummer 429 und 430 wurde von der Firma STEIGERWALD ARZNEIMITTELWERK GMBH, Darmstadt zur Verfügung gestellt. Weitere Herkünfte stammen aus dem Saatguteinzelhandel, aus institutionellen Quellen und aus früheren Arbeiten von MANN (1998). Im Anhang (siehe VIII 1, Tabelle 71) sind die Bezugsquellen der Sorten und Saatgutherkünfte aufgelistet, die in der vorliegenden Arbeit direkt oder in Form von Einzelpflanzennachkommenschaften untersucht wurden.

Selektionen

Im Rahmen vorausgehender Versuche und der parallel laufenden Untersuchungen von MANN (2003) konnte festgestellt werden, dass sowohl die verschiedenen Saatgutherkünfte als auch ein Teil der angebauten Sorten eher Populationen bzw. Gemische verschiedener Johanniskraut-Typen darstellen. Aus diesen wurden Phänotypen selektiert, die vorteilhafte oder zumindest vom Haupttyp abweichende Merkmale aufwiesen. Im Verlauf der vorliegenden Arbeit konnten ebenfalls interessante Einzelpflanzen aus Saatgutherkünften, Selektionen und Wildherkünften selektiert und untersucht werden. Im Anhang (siehe VIII 1, Tabelle 72) sind

die 69 untersuchten Selektionen aus vorhergehenden und aktuellen Versuchen von MANN und NEBELMEIR zusammen mit der jeweiligen Ursprungsherkunft bzw. –sorte aufgelistet. Die Vermehrung erfolgte über Saatgut, das von den selektierten Einzelpflanzen geerntet wurde.

Herkünfte aus Wildsammlungen

In den Jahren 1999 bis 2001 wurden während der Sommermonate zahlreiche Exkursionen zur Sammlung von Wildherkünften unternommen. Dabei wurden einerseits Einzelpflanzen ausgewählt, die bereits am Naturstandort aufgrund ihrer Morphologie eine gewisse Eignung für den Feldanbau erkennen ließen. Andererseits wurden Herkünfte gesammelt, welche die am Standort vorgefundene natürliche Variabilität der Art am besten repräsentierten (z. B. PM-1 bis 22). Die in den Versuchsjahren 2000 bis 2002 untersuchten 58 Wildherkünfte sind zusammen mit ihrem Fundort im Anhang (siehe VIII 1, Tabelle 73) zu finden. Die Sammlung der Wildherkünfte erfolgte ausschließlich in Form von Ernte des bereits gebildeten Saatgutes.

Tabelle 3: Sorten, Saatgutherkünfte, Selektionen und Wildherkünfte

<i>4 Sorten</i>										
	'Taubertal'	'Goldstern'	'Topaz' I	'Topaz' II						
<i>8 Saatgutherkünfte</i>										
	Austro Saat Nummer 430	HP-G Stamm B	HP-J Stamm S	M. Bauer	Nummer 429					
<i>69 Selektionen</i>										
<i>1999</i>	BB-1	BB-2	BN-1	BN-2	SN-1	SR-1	SR-2	TT-1	TT-2	TT-3
	TT-4	TT-5	TT-6	TT-7	TT-8					
<i>2000</i>	AS-1	AS-2	AS-3	AS-4	AS-6	AS-7	AS-8	AS-9	AS-10	AS-11
	AS-12	AS-14	AS-15	AS-16	AS-18	AS-19	AS-20	AS-21	AS-22	AS-23
	AS-24	AS-25	AS-28	AS-29	AS-30	AS-31	AS-32	AS-33	SN-W	
<i>2001</i>	AS-6a	AS-6b	AS-8a	AS-8b	AS-10a	AS-L	AS-M	AS-N	AS-O	GZ-1
	GZ-4	GZ-6	GZ-8	GZ-9	GZ-10	H-2a	MB-AS	MB-B	MB-CS	MB-DS
	MB-F	MB-G	MB-H	PM-15a	PM-17a					
<i>58 Wildherkünfte</i>										
<i>1999</i>	H-2	H-3	H-4	M-1	M-3	P-1	P-2			
<i>2000</i>	BT-1	BT-2	KA-2	KA-3	KA-4	KA-5	KA-6	KA-7	NA-6	NA-8
	PM-1	PM-2	PM-3	PM-4	PM-6	PM-8	PM-9	PM-10	PM-11	PM-12
	PM-13	PM-14	PM-15	PM-16	PM-17	PM-18	PM-19	PM-20	PM-21	PM-22
	UN-1	UN-3	UN-4	UP-1	UP-2	US-1	US-2	US-4	WE-1	
<i>2001</i>	FS-1	FS-2	FS-3	FS-4	FS-5	FS-6	NF-1	PF-1	PF-2	PF-3
	PF-4	PF-5								

2. Feldversuche

Saatgutbehandlung und Aussaat

Vor der Aussaat Mitte Februar wurde das Saatgut für fünf Minuten einer Oberflächensterilisation mit NaOCl 1 % (mit Netzmittel Tween 20) unterzogen, anschließend zweimal mit Leitungswasser gespült und bei Raumtemperatur über Nacht getrocknet. Bei der Aussaat in 12 cm Töpfe mit Floraton 3 wurden die feinen Samen nur leicht übersiebt.

Jungpflanzenanzucht

Zur Keimung wurden die Töpfe mit Glasscheiben abgedeckt und im Kulturraum bei folgenden Bedingungen aufgestellt:

Tabelle 4: Klimabedingungen im Kulturraum

Temperatur	20 °C
rel. Luftfeuchte	70 %
Lichtangebot	~ 180 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$
Photoperiode	16 h Licht, 8 h dunkel

Nach erfolgter Keimung wurden die Glasplatten abgenommen und die Temperatur auf 18 °C abgesenkt. Etwa vier Wochen später wurden die Pflanzen einzeln in 77er Multitopfplatten mit Floraton 2 pikiert, im Gewächshaus bei ca. 20 °C aufgestellt und bei Bedarf mit den Fungiziden Previcur N® 1,5 ‰ oder Benomyl® 1,0 ‰ gegen Keimlingskrankheiten behandelt. Sobald die Pflanzen angewachsen waren, wurde die Temperatur auf 15 °C gesenkt und eine Düngung mit 0,5 ‰ Flory 3 über das Gießwasser verabreicht. Anfang April wurden die Pflanzen zur Abhärtung in die Kastenanlage oder das Drahthaus ausgeräumt.

Pflanzung

Die Pflanzung erfolgte witterungsabhängig Anfang Mai von Hand. Bei allen Feldversuchen wurde folgendes Schema (siehe Tabelle 5) zugrundegelegt:

Tabelle 5: Grundschema für Feldversuche

Reihenabstand	50 cm
Pflanzenabstand	40 cm
Pflanzdichte	5 Pfl./m ² entspricht 50.000 Pfl./ha
Pflanzen/Reihe	5 Pfl. + 2 Randpflanzen

Die Pflanzen in einer Reihe wurden mit Nummern von 1 bis 7 bezeichnet. Bestand die Versuchspazelle aus zwei Reihen des selben Genotyps, so wurden die Pflanzen der zweiten Reihe mit Nummern von 8 bis 14 belegt. Für die Randreihen wurden bei allen Feldversuchen Pflanzen der Herkunft Austro Saat verwendet.

Bewässerung und Düngung

Die erste Bewässerung der Versuche erfolgte direkt nach der Pflanzung mit Kreisregnern. Weitere Wassergaben wurden im Pflanzjahr ausschließlich bei Bedarf verabreicht. In den darauffolgenden Standjahren wurde keine Beregnung eingesetzt.

Bei der Kultur von Johanniskraut ist unter Annahme einer Abfuhr von 200 dt/ha Frischmasse mit einem jährlichen Stickstoffentzug von 105 kg N/ha zu rechnen (BOMME 1997). Da bei einer überoptimalen N-Versorgung die typische Merkmalsausprägung der Pflanzen zugunsten eines stark vegetativen Wachstums verschoben wird, wurde die Düngung im Hinblick auf eine gute Selektionsschärfe auf einem eher suboptimalen N_{\min} -Niveau vorgenommen. Die Ergebnisse der Bodenuntersuchungen sind im Anhang unter VIII 2 zu finden.

Kulturarbeiten

Die Freihaltung des Bestandes von Unkraut gehörte besonders im ersten Standjahr zu den wichtigsten Kulturarbeiten. Ab dem zweiten Standjahr erleichterte der Bestandsschluss die Pflege. Die Arbeiten wurden im Bestand von Hand und auf den Wegen mit einer Einachsfräse durchgeführt. Als Problemunkräuter erwiesen sich der Gemeine Beinwell (*Symphytum officinale* L.) und die Ackerkratzdistel (*Cirsium arvense* (L.) SCOP.).

Das Entfernen der Bodenausläufer, die von den Johanniskrautpflanzen in die Wege wachsen, gehörte ab dem zweiten Jahr ebenfalls zu den anfallenden Kulturarbeiten. Im Verlauf der Vegetationsruhe wurden die abgestorbenen oberirdischen Pflanzenteile abgeschnitten und von der Fläche entfernt.

Material

NaOCl	Natriumhypochlorit 12 % (Merck, Darmstadt)
Tween 20®	Polysorbat 20 (Poly(oxyethylen) 20 –Sorbitanmonolaureat), Merck, Darmstadt
Floraton 2 + 3	Weißtorfsubstrate mit Tonzuschlag (Floragard, Oldenburg)
Previcur N®	Fungizid (Bayer CropScience, Langenfeld)
Benomyl®	Fungizid (DuPont, Wilmington/USA)
Flory 3	Dünger mit 15 % N (4,5 % als NH_4^+ , 10,5 % als NO_3^-), 10 % P_2O_5 , 15 % K_2O , 2 % MgO + Spurenelemente (Euflo, München)
$(\text{NH}_4^+)_2\text{SO}_4^{2-}$	Ammoniumsulfat mit 21 % NH_4^+ -Stickstoff + 24 % Schwefel (NPK van Eck, Nieuwegein/NL)

2.1 Blockanlage

Das Pflanzgut für die Blockanlage (BA) stammte zum größten Teil aus *in-vitro*-Kultur. Details zur *in-vitro*-Kultur von Johanniskraut finden sich bei NEBELMEIR (2000). Die Sorten 'Taubertal', 'Goldstern' und 'Topaz' sowie die Herkunft Stamm B und M. Bauer wurden am Institut für Phytopathologie, Dürnast aus Saatgut angezogen (Details bei MANN 2003).

Tabelle 6: Kulturdaten Blockanlage

<i>Maßnahme</i>	<i>Datum</i>	<i>Details</i>
Abhärtung	18. Mai 00	Drahthaus
Pflanzung	25. Mai 00	Versuchsfeld Zierpflanzenbau
Düngung	16. Mai 01	20 g/m ² Ammoniumsulfat (NH ₄ ⁺) ₂ SO ₄ ²⁻ entspricht 42 kg N/ha
Ende	September 02	

Der Pflanzplan für die Blockanlage wurde nach SCHUSTER und LOCHOW (1979) entwickelt. Die vier Blöcke umfassten jeweils ein Beet und wurden von Osten nach Westen mit den römischen Ziffern I bis IV belegt. Ein schematischer Pflanzplan für die Blockanlage befindet sich im Anhang unter VIII 3.1.

Tabelle 7: Versuchsaufbau Blockanlage

<i>Blockanlage mit 4 Wiederholungen</i>	
28 Genotypen	14 bzw. 7 Pflanzen/Parzelle
6 Sorten und Herkunft (Saatgut)	'Taubertal', 'Goldstern', 'Topaz' I + II, Stamm B, M. Bauer
7 Wildherkünfte (<i>in-vitro</i> -Kultur)	M-1, M-3, P-1, P-2, H-2, H-3, H-4
15 Selektionen (<i>in-vitro</i> -Kultur)	BN-1, BN-2, BB-1, BB-2, SN-1, SR-1, SR-2, TT-1, TT-2, TT-3, TT-4, TT-5, TT-6, TT-7, TT-8
Ziel	Überprüfung der Homogenität, Untersuchungen zur Ertragsphysiologie

Die Auswertung der Blockanlage erfolgte nach SCHUSTER und LOCHOW (1979) mit MICROSOFT® EXCEL 2000. In die Auswertung wurden die Ergebnisse der Sorten 'Taubertal' und 'Topaz' I + II, der Einzelpflanzenselektionen SN-1, TT-3 und SR-2 sowie der Wildherkunft P-1 einbezogen. Dabei wurden die Merkmale Pflanzhöhe, Triebzahl, Erntehorizont, Frischgewicht und Drogengewicht im zweiten Anbaujahr (2001) berücksichtigt. Die selben Merkmale wurden im dritten Anbaujahr (2002) bei der Sorte 'Taubertal' und den Einzelpflanzenselektionen SN-1 und TT-3 erfasst. Der Blühbeginn wurde in beiden Versuchsjahren für alle gepflanzten Linien festgehalten.

2.2 Zweisatzgitter

Mit dem Versuchsanbau 2001 in Form eines Zweisatzgitters (ZG) wurde das Ziel verfolgt, Wildherkünfte und Selektionen im Vergleich zum externen Standard 'Taubertal' und dem internen Standard SN-1 bezüglich ihrer Kultureignung zu überprüfen. Das Pflanzgut wurde am Institut für Zierpflanzenbau, Dürnast angezogen (vgl. Tabelle 8).

Tabelle 8: Kulturdaten Zweisatzgitter

<i>Maßnahme</i>	<i>Datum</i>	<i>Details</i>
Aussaat	13. Februar 01	Pflanzenanzuchtraum 3
Pikieren	14. März 01	Gewächshaus 3
Abhärtung	18. April 01	Kastenanlage
Pflanzung	03. Mai 01 04. Mai 01	Versuchsfeld Zierpflanzenbau Versuchsfeld Gemüsebau
Düngung	28. Mai 01	20 g/m ² Ammoniumsulfat (NH ₄ ⁺) ₂ SO ₄ ²⁻ entspricht 42 kg N/ha
Ende	Mai 02 September 02	Standort Gemüsebau Standort Zierpflanzenbau

Der Pflanzplan für das Zweisatzgitter wurde nach SCHUSTER und LOCHOW (1979) für 64 Varianten in zwei Wiederholungen entwickelt (vgl. Tabelle 9). Dabei besteht ein Satz aus acht Blöcken zu acht Parzellen. Insgesamt werden bei einem Zweisatzgitter in zwei Wiederholungen vier Sätze angelegt. Diese werden mit römischen Ziffern von I bis IV belegt. Details zum Pflanzplan befinden sich im Anhang unter Tabelle 76.

Tabelle 9: Versuchsaufbau Zweisatzgitter

<i>Zweisatzgitter in je 2 Wiederholungen an 2 Standorten</i>	
64 Genotypen	7 Pflanzen/Parzelle
2 Standards	'Taubertal', SN-1
36 Wildherkünfte	BT-1, BT-2, H-2, H-3, H-4, KA-2, KA-3, KA-4, KA-5, KA-6, KA-7, NA-6, P-1, P-2, PM-1, PM-2, PM-3, PM-4, PM-6, PM-8, PM-10, PM-11, PM-12, PM-13, PM-14, PM-15, PM-16, PM-17, PM-18, PM-19, PM-20, PM-21, PM-22, UN-3, UN-4, WE-1
26 Selektionen	AS-1, AS-2, AS-3, AS-4, AS-6, AS-7, AS-8, AS-9, AS-10, AS-11, AS-12, AS-14, AS-15, AS-16, AS-18, AS-19, AS-20, AS-21, AS-22, AS-25, AS-28, AS-29, AS-30, AS-31, AS-32, AS-33
Ziel	Überprüfung der Variabilität und Kultureignung

Parallel zum Versuchsfeld Zierpflanzenbau wurde ein zweiter Versuch auf den Flächen des Institutes für Gemüsebau in Dürnast angelegt. Infolge der Beregnung von Salat auf der Nachbarparzelle wurde die Ausbreitung von *Colletotrichum cf. gloeosporioides* jedoch stark begünstigt. Deshalb wurde der Versuch zwar intensiv beobachtet aber nicht in die Auswertung einbezogen. Im Mai 2002 wurde der Versuch schließlich noch vor der Blüte aufgegeben.

2.3 Versuchsanbau unter Praxisbedingungen

Der Anbauversuch wurde 2001 in Zusammenarbeit mit der Firma STEIGERWALD ARZNEIMITTEL GMBH, Darmstadt und Frau DR. ERIKA SCHUBERT, AGRIMED HESSEN E.V. bei Herrn CARL GERD GRAF, Hofgut Georgenhausen (64354 Reinheim, Hessen) durchgeführt. Dazu wurden 60 g Saatgut der Selektion SN-1 (Keimfähigkeit von 82 %) unter der Bezeichnung "Selektion Weihenstephan I" für die Anzucht der Jungpflanzen bei der Firma EISEMANN GBR, Ludwigshafen zur Verfügung gestellt (vgl. Tabelle 10). Das Feld hat eine Größe von 0,5 ha und liegt nahe Georgenhausen im Schlag "am Saugraben" 170 m über NN auf lockerem Lößlehm Boden (sandiger Lehm (sL) ohne Steine, Ackerzahl 65). Als Vorfrucht waren Zuckerrüben angebaut. Die Wettersituation wird durch die windoffene Hügellage, ein langjähriges Niederschlagsmittel von 650 mm und eine mittlere Jahrestemperatur von 9,2 °C bestimmt. Aufgrund anhaltenden Regens konnte die Pflanzung erst nach zweiwöchiger Verzögerung erfolgen. Im selben Jahr wurde eine Herbstpflanzung von SN-1 und 'Taubertal' in je sechs Reihen im Anschluss an die bestehende Pflanzung vorgenommen. Für den Herbstanbau wurden 15 g Saatgut der Selektion SN-1 an die AGRIMED HESSEN E.V. gegeben.

Tabelle 10: Kulturdaten Versuchsanbau unter Praxisbedingungen

<i>Maßnahme</i>	<i>Datum</i>	<i>Details</i>
Aussaat	09. Februar 01	Saatgutbehandlung mit Benomyl®, Aussaat in "quick pots" (Ø 20 x 35 mm) mit Einzelkornsägerät, Keimung bei 20 °C
Abhärtung	23. Februar 01 12. März 01	Temperaturabsenkung auf 18 °C Gewächshaus Tag 15 °C / Nacht 10 °C
Pflanzung	19. Mai 01 22. Mai 01	Versuchsfeld Graf, Georgenhausen Bewässerung ca. 8 mm (mit Tankwagen)
Düngung	Februar 01 15. Mai 01 April 02	60 kg P ₂ O ₅ /ha und 120 kg K ₂ O/ha 40 kg N/ha 40 kg N/ha
2. Pflanzung	13. September 01	'Taubertal' und SN-1

Am 7. Juni 2002 fand unmittelbar vor der Blüte eine Feldbegehung statt. Dabei wurden bei jeder Variante an sechs gleichmäßig über das Feld verteilten Stellen bei je 4 Pflanzen die Höhe und die Triebzahl bestimmt. Eine weitere Beurteilung des Anbauversuches von SN-1 aus der Frühjahrspflanzung wurde zur Zeit der Ernte am 26./27. Juni 2002 vorgenommen.

Tabelle 11: Versuchsaufbau Feldversuch

<i>Feldanbau unter Praxisbedingungen</i>	
2 Genotypen	Pflanzabstand: 34 x 45 cm, entspricht ca. 65.000 Pfl./ha
Frühjahrspflanzung	Selektion SN-1
Herbstpflanzung	Selektion SN-1, Sorte 'Taubertal'
Ziel	Überprüfung der Anbaueignung von SN-1 unter Praxisbedingungen

2.4 Linienanlage

Für die Pflanzung der Linienanlage (LA) im Jahr 2002 wurden 47 Herkünfte und Sorten angebaut. Darunter waren 27 Einzelpflanzenselektionen und 4 positive Nummernselektionen aus dem Anbaujahr 2001. 12 Herkünfte aus Wildsammlung und zwei Saatgutherkünfte wurden zum ersten Mal angepflanzt. Die Sorte 'Taubertal' wurde als externer und die Selektion SN-1 als interner Standard gewählt. Die Anzucht der Jungpflanzen erfolgte am Institut für Zierpflanzenbau Dürnast. Tabelle 12 gibt Auskunft über die wichtigsten Kulturdaten.

Tabelle 12: Kulturdaten Linienanlage

<i>Maßnahme</i>	<i>Datum</i>	<i>Details</i>
Aussaat	13. Februar 02	Kühllager 1
Pikieren	07.-14. März 02	Gewächshaus 3
Abhärtung	08. April 02	Kastenanlage
Düngung	06. Mai 02	20 g/m ² Ammoniumsulfat (NH ₄ ⁺) ₂ SO ₄ ²⁻ entspricht 42 kg N/ha
Pflanzung	07. Mai 02	mittleres Terrassenfeld neben dem Institut für Gemüsebau
Ende	Juli 2003	

Auf den Randparzellen wurden Pflanzen der Herkunft Austroaat gepflanzt. Die beiden Standards 'Taubertal' und SN-1 wurden zu Beginn des Beetes gepflanzt und anschließend nach jeweils fünf Testnummern wiederholt. Der Versuchsaufbau ist in Tabelle 13 skizziert. Der Pflanzplan für die Linienanlage befindet sich im Anhang unter VIII 3.3.

Tabelle 13: Versuchsaufbau Linienanlage

<i>Linienanlage mit 2 Standardsorten</i>	
47 Genotypen	7 Pflanzen/Parzelle
2 Standards	'Taubertal', SN-1
2 Saatgutherkünfte	HP-G, HP-J
12 Wildherkünfte	FS-1, FS-2, FS-3, FS-4, FS-5, FS-6, NF-1, PF-1, PF-2, PF-3, PF-4, PF-5
31 Selektionen	AS-2, AS-6a, AS-6b, AS-8, AS-8a, AS-8b, AS-10a, AS-28, AS-L, AS-M, AS-N, AS-O, GZ-1, GZ-4, GZ-6, GZ-8, GZ-9, GZ-10, H-2a, MB-AS, MB-B, MB-CS, MB-DS, MB-F, MB-G, MB-H, PM-8, PM-10, PM-15a, PM-17a, SN-W
Ziel	Sichtung von neuem Material, Selektion

Aufgrund der örtlichen Gegebenheiten des Versuchsfeldes konnten 24 Herkünfte in einer zweiten Wiederholung angebaut werden. Für die Untersuchungen der pharmakologischen Eigenschaften wurden Drogenproben, Blütenproben ($n = 50$) und Blütenproben N₂ geerntet.

3. Erfassung der agronomischen Merkmale

Die Gruppe der agronomischen Merkmale umfasst verschiedene morphologische und physiologische Merkmale, die in mehr oder weniger direktem Zusammenhang zur Produktionstechnologie stehen. So bestimmen beispielsweise die morphologischen Merkmale Pflanzenhöhe, Standfestigkeit und Blühhorizont direkt über die technologische Eignung einer Herkunft, während das Blütengewicht indirekt über die Anzahl der Blüten in den Ertrag eingeht. Als direkt relevantes, physiologisches Merkmal ist der Blühbeginn zu nennen. Die Ausprägungen der agronomischen Merkmale werden in der Regel direkt auf dem Versuchsfeld entweder metrisch oder durch Bonituren erfasst. In Bezug auf die betroffenen Pflanzenteile lassen sich die agronomischen Merkmale in vegetative und generative einteilen.

3.1 Vegetative Merkmale

Pflanzenhöhe

Die Pflanzenhöhe wird vor der Ernte im blühenden Bestand ermittelt. Dabei wird mit dem Meterstab die Höhe in der Mitte der Pflanze vom Boden bis zur obersten Blüte gemessen.

Anzahl der Triebe

Die Anzahl der Triebe umfasst alle blühenden und knospentragenden Triebe einer Pflanze. Triebe, die nicht aus der fortschreitenden Bestockung sondern aus Seitenausläufern hervorgehen, werden ebenso nicht berücksichtigt wie rein vegetative Triebe ohne Blüten. Bei der Erfassung der Anzahl der Triebe werden auch die liegenden Triebe gezählt. Triebe gelten dann als liegend, wenn sie entweder direkt auf dem Boden liegen oder die Blüten deutlich unter der halben Bestandshöhe liegen.

Standfestigkeit

Die Boniturnote für Standfestigkeit gibt Auskunft über den Habitus der Pflanzen, die Widerstandsfähigkeit gegenüber Witterungseinflüssen und die maschinelle Beerntbarkeit der jeweiligen Herkunft (vgl. Tabelle 14). Bei der parzellenweisen Bonitur sind Zwischenstufen nicht sinnvoll und deshalb nicht erlaubt.

Tabelle 14: Boniturskala für die Standfestigkeit

<i>Boniturnote</i>	<i>Ausprägung</i>
1	niederliegend, extrem windanfällig, nicht zu beernten
3	größtenteils liegend, windanfällig, noch zu beernten
5	teilweise liegend, leicht windanfällig, erntefähig
7	kaum liegend, aufrecht, kaum windanfällig, gut erntefähig
9	straff aufrecht, nicht windanfällig, sehr gut zu beernten

Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides*

In allen Feldversuchen war ein natürlicher Infektionsdruck vorhanden. Die Erfassung der Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* wird am zweckmäßigsten an einem sonnigen und warmen Tag durchgeführt. Da die Infektion im Frühling je nach Witterungslage unterschiedlich rasch fortschreitet, hat es sich als sinnvoll erwiesen, die Bonitur erst während der Blütezeit vorzunehmen. Als befallen gelten Pflanzen bereits dann, wenn sie deutliche Symptome in Form von welken oder abgestorbenen Trieben zeigen. Dabei wurden die Parzellen stets einschließlich der Randpflanzen bewertet.

3.2 Generative Merkmale

Blühbeginn

Der Blühbeginn einer Parzelle ist dann erreicht, wenn mindestens 5 von 7 Pflanzen an mindestens 2 verschiedenen Trieben mindestens eine offene Blüte tragen. Der Blühbeginn wird einmal absolut als Datum angegeben und dann bei Neupflanzungen in Relation zum Pflanztermin gesetzt. Zur besseren Vergleichbarkeit wird der Blühbeginn der weiteren Versuchsjahre ebenfalls auf das Pflanzdatum bezogen.

Blütengröße

Die Blütengröße einer Herkunft wird ermittelt, indem pro Parzelle von 5 Pflanzen je 2 typisch ausgebildete Blüten geerntet werden. Anschließend wird der Durchmesser der 10 Einzelblüten durch Auflegen auf ein Papier mit Kreisen von 12 bis 40 mm in Abstufungen von 2 mm gemessen. Die Blütengröße stellt den Durchschnitt der 10 Messungen dar.

Blütengewicht

Das Trockengewicht der einzelnen Blüten einer Herkunft wird aus der für die Inhaltsstoffanalyse vorgesehenen Blütenprobe N₂ (siehe II 4.3.1 Probenaufbereitung) ermittelt. Der gewonnene Wert stellt einen Mittelwert aus 10 Blüten dar.

Hypericinbehälter auf den Blüten

Die Anzahl der Hypericinpunkte und -streifen auf der Außenseite der Petalen ist ein charakteristisches morphologisches Merkmal der einzelnen Herkünfte. Da die Ausprägung des Merkmals innerhalb einer Pflanze von Blüte zu Blüte variiert, wird die Bonitur an 10 repräsentativen Blüten vorgenommen. Die Boniturnote wird so gewählt, dass sie die typische Merkmalsausprägung der jeweiligen Herkunft möglichst treffend beschreibt (vgl. Tabelle 15). Dabei haben sich ganzzahlige Zwischenstufen als sinnvoll erwiesen.

Tabelle 15: Boniturskala für die Ausprägung der Hypericinbehälter auf den Petalen

<i>Boniturnote</i>	<i>Ausprägung</i>
1	nur punktförmige Hypericinbehälter am Petalenrand
3	vereinzelte Punkte auf den Petalen
5	Punkte und vereinzelte Streifen auf den Petalen
7	zahlreiche Punkte und bis 3 Streifen auf den Petalen
9	sehr viele Punkte und mind. 4 Streifen auf den Petalen

Abbildung 8 zeigt Blüten mit typischer Ausprägung der in Tabelle 15 beschriebenen Boniturstufen. Die Darstellung zeigt die Innen- und Außenseite der Petalen offener Blüten und die Knospen der jeweiligen Herkunft.

**Abbildung 8: Ausprägung der Hypericinbehälter auf den Petalen**

Blühhorizont

Die Ausdehnung des Blühhorizontes wird festgelegt als die Distanz zwischen oberster und unterster Blüte einer Johanniskrautpflanze. Dabei kann der Blühhorizont unabhängig von seiner Ausdehnung verschiedene Ausprägungen annehmen. Für den praktischen Anbau ist dabei im Hinblick auf eine maschinelle Ernte von Bedeutung, dass der Blühhorizont einheitlich und klar vom vegetativen Pflanzenteil abgegrenzt ist (vgl. Tabelle 16). Bei der Bonitur, die parzellenweise erfolgt, sind Zwischenstufen nicht sinnvoll.

Tabelle 16: Boniturskala für den Blühhorizont

<i>Boniturnote</i>	<i>Ausprägung</i>
1	Blüten stark über die Pflanzenhöhe verteilt, kein Blühhorizont erkennbar
3	Blüten über die Pflanzenhöhe verteilt, kein Blühhorizont erkennbar
5	Blüten locker im oberen Bereich verteilt, erkennbarer Blühhorizont
7	Blüten vorwiegend im oberen Bereich, deutlicher Blühhorizont
9	Blüten im oberen Bereich konzentriert, klar abgegrenzter Blühhorizont

Erntehorizont

Die Ausdehnung des Erntehorizontes wird für jede einzelne Pflanze als die Differenz aus Pflanzenhöhe vor und Schnitthöhe nach der Beerntung errechnet. Im Unterschied zum Blühhorizont gibt der Erntehorizont nicht die Verteilung der Blüten wieder, sondern gibt Auskunft über den tatsächlich geernteten Pflanzenteil.

Ertrag

Bei der Ernte wurde der Blühhorizont der Einzelpflanzen mit einer Gartenschere abgeschnitten. Der so gewonnene Ertrag wurde als Frischgewicht in g/Pfl. und nach dem Trocknungsvorgang als Drogengewicht in g/Pfl. gemessen. Zur Berechnung des Trockengewichtes aus dem Drogenertrag kann von einem Restfeuchtegehalt von ca. 10 % ausgegangen werden.

3.3 Verwendung und Verrechnung von Boniturnoten

Um die Verrechnung von Boniturnoten zu erleichtern und innerhalb der Arbeit eine einheitliche und nachvollziehbare Darstellungsweise von Boniturdaten zu ermöglichen, werden an dieser Stelle einige Grundsätze zur Verwendung und Verrechnung der Boniturnoten erläutert.

Festlegung von Boniturnoten

Vor der Bonitur werden die jeweiligen Noten anhand der vorgefundenen Variabilität des zu bewertenden Merkmals definiert. Im Sinne einer optimalen Selektionsschärfe ist dabei der Rahmen von 9 Boniturnoten auszuschöpfen und mit den vorhandenen Merkmalsausprägungen in Deckung zu bringen. Das heißt, es muss zumindest möglich bzw. wahrscheinlich sein, dass ein Merkmal in der extremen Ausprägung entsprechend den Boniturnoten 1 und 9 auftritt.

Zwischengrößen

Umfasst eine Boniturskala neun Stufen, sind grundsätzlich keine Zwischenwerte erlaubt. Sind statt der neun Stufen nur fünf in sinnvoller Weise auf die vorgefundenen Merkmalsausprägungen anwendbar, werden sie mit den Noten 1, 3, 5, 7 und 9 belegt. Ob Zwischengrößen sinnvoll und erlaubt bzw. bei der praktischen Durchführung der Bonitur notwendig sind, wird für jedes Merkmal individuell entschieden (siehe oben).

Verrechnung von Boniturnoten

Bei der weiteren Verarbeitung von Boniturnoten, wie beispielsweise der Bildung von Mittelwerten über mehrere Parzellen, werden Rechenoperationen notwendig. In deren Folge treten statt der bisher diskret verteilten Werte des ordinalen Merkmals Boniturnote stetig verteilte Werte auf. Besonders in Hinblick auf die graphische Darstellung der Ergebnisse kann die Unterteilung in Merkmalsgruppen nach folgenden Regeln wiederhergestellt werden. Dabei ist zu beachten, dass die Werte zwischen zwei Boniturstufen in der unteren Hälfte der Skala der jeweils niedrigeren Note und dementsprechend in der oberen Hälfte der jeweils höheren Note zugerechnet werden:

a) Boniturskala mit fünf Noten

Note	1	3	5	7	9
Intervall	1,00 – 2,00	2,01 – 4,00	4,01 – 5,99	6,00 – 7,99	8,00 – 9,00
Umfang	1.0	2.0	2.0	2.0	1.0

b) Boniturskala mit neun Noten

Note	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Intervall	1,00 – 1,50	1,51 – 2,50	2,51 – 3,50	3,51 – 4,50	4,51 – 5,49	5,50 – 6,49	6,50 – 7,49	7,50 – 8,49	8,50 – 9,00
Umfang	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5

Dadurch wird vermieden, dass Unterschiede zwischen den Herkünften, die anhand der einzelnen Boniturwerte gut sichtbar werden, nach der Verrechnung nicht mehr ausreichend stark genug zu Tage treten, um als Selektionskriterien dienen zu können.

4. Inhaltsstoffanalytik

4.1 Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterial

Geräte

Analysenwaage	Analytic AC 210S (Sartorius, Göttingen)
Feinwaage	Sartorius Modell 2474 (Sartorius, Göttingen)
HPLC-Apparatur	Beckman HPLC System Gold, Details siehe II 4.4.1 (Beckman Coulter, Fullerton/USA)
Lyophilen	VirTis Genesis 12 LL und Genesis 25 LE (The VirTis Company, Gardiner/USA) Finn-Aqua Lyovac GT2 (Finn-Aqua Santasalo-Sohlberg, Hürth)
Schrotmühle	Typ 880 404 (Brabender, Duisburg)
Schüttelmaschine	Typ SS-W (Adolf Kühner, Basel/CH) Typ LC-6 (Adolf Kühner, Basel/CH)
Trockenschränke	verschiedene Trockenschränke an den Instituten für Zierpflanzenbau, Phytopathologie und Gemüsebau mit automatischer Temperaturregelung und regulierbarer Frischluftzufuhr
Zentrifuge	Eppendorf Centrifuge 5810 R (Eppendorf, Hamburg)

Chemikalien

CH ₃ CN	Acetonitril LichroSolv gradient grade, Art.-Nr. 1.00030.2500 (Merck, Darmstadt)
CH ₃ OH	Methanol LichroSolv gradient grade, Art.-Nr. 1.06007.2500 (Merck, Darmstadt) ab 18.12.02: gradient grade, Art.-Nr. UN 1648 (J. T. Baker, Deventer/NL)
C ₅ H ₅ N	Pyridin pro analysi, Art.-Nr. 1.09728.2500 (Merck, Darmstadt)
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat pro analysi, 137,99 g/mol, Art.-Nr. 1.06346.1000 (Merck, Darmstadt)
H ₃ PO ₄	ortho-Phosphorsäure 99 % kristallin pro analysi, 98,00 g/mol, Art.-Nr. 1.00565.0500 (Merck, Darmstadt)
Reinsubstanzen	zur Quantifizierung der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe: s. II 4.4.2, Tabelle 18

Lösungen

Phosphatpuffer	50 mM pH 2: 4,9 g H ₃ PO ₄ und 6,9 g NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O in 2 l H ₂ O bidest. lösen.
Anmerkung	Prozentangaben von Lösungen (z.B. Methanol 80 %) beziehen sich immer auf das Volumenverhältnis (V/V).

Verbrauchsmaterial

Erlenmeyerkolben	100 ml (Glas) mit Schraubverschluss, Art.-Nr. 21 803 24 51 (Schott Glas, Mainz)
Faltenbeutel	braun (Kartonpapier Recycling), verschiedene Größen (Karmann & Droll, Karlsfeld)
Messflaschen	für Szintillationszähler 20 ml (PE) mit Schraubverschluss, Art.-Nr. 0794.1 (Carl Roth, Karlsruhe); Methanol-beständig laut tel. Service-Auskunft vom 30.08.02 (Fr. Bastian)
Papiertüten	weiss (Papier Recycling), verschiedene Größen (Karmann & Droll, Karlsfeld)
Probengläser	aus braunem und klarem Glas 32 x 11,6 mm weite Öffnung, crimp-caps aus Alu mit Gummi-Septum (Clean Pack, Tumball/USA)
Verschlussbeutel	Polyethylen, transparent 50 µm, Gr. 120 x 170 mm (Waldemar Bergmann, Freising)

4.2 Optimierung der Inhaltsstoffanalytik

4.2.1 Aufbereitungsgrad und Extraktionsdauer

Dieser Versuch dient dazu, den notwendigen Aufbereitungsgrad der Proben und die jeweils optimale Extraktionsdauer festzustellen. Es soll ein Verfahren entwickelt werden, bei dem die Zuverlässigkeit der Ergebnisse aus der Inhaltsstoffanalyse in einem günstigen Verhältnis zum Arbeitsaufwand steht. Dazu wurde das Extraktionsverhalten von Rohdroge und pulverisierter Droge vergleichend untersucht. Als Lösungsmittel wird stets Methanol 80 % verwendet, da alle pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe gut extrahiert werden (GAEDCKE 1997).

Material

Ausgangsmaterial	Blüten und Knospen von Droge der Sorte 'Taubertal', Ernte 2000
Probenaufbereitung	eine Hälfte der Probe wird von Hand im Mörser pulverisiert, die andere Hälfte bleibt unbehandelt (= Rohdroge)
Einwaage	500 ± 1 mg
Extraktionsmittel	50 ml Methanol 80 %
Wiederholungen	n = 5

Methoden

Extraktion	120 m ⁻¹ bei 26 °C im Zellkulturraum, Schüttelmaschine Typ SS-W
Extraktionsdauer	Beprobungsschema:

pulverisierte Droge	½ h	1 h	2 h	4 h	12 h	24 h	4 d	8 d	16 d		
Rohdroge			2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	2 d	4 d	8 d	16 d
Dauer/h	0,5	1	2	4	8	12	24	48	96	192	384

Probenahme	vorher ca. 1 min lang Partikel absinken lassen
Probenvolumen	500 µl in Eppendorf-Gefäße
Zentrifuge	10.000 m ⁻¹ (rcf = 10.621 g) bei 20 °C für 5 min Überstand abziehen und in braune Probengläser abfüllen
Analyse	nach Standardmethode (siehe II 4.4.1)

4.2.2 Verhältnis von Einwaage zu Extraktionsmittelvolumen

Das Probengewicht von Blütenproben unterliegt starken Schwankungen, wenn von jeder Herkunft eine vorgegebene Anzahl von Blüten geerntet wird. Deshalb soll geklärt werden, inwieweit das Verhältnis von Droge zu Extraktionsmittel einen Einfluss auf die Genauigkeit des Messergebnisses hat.

Material

Ausgangsmaterial	Droge der Sorte 'Taubertal', Zweisatzgitter Ernte 2001
------------------	--

Probenaufbereitung	Schrotmühle mit Siebgröße 1,0 mm
Einwaage	50, 100, 250, 400, 500, 600, 750, 1.000 mg \pm 1 %
Extraktionsmittel	50 ml Methanol 80 %
Wiederholungen	$n = 5$

Methoden

Extraktion	100 m ⁻¹ bei 26 °C im Zellkulturraum, Schüttelmaschine Typ LC-6
Extraktionsdauer	24 h
Probenahme	vorher ca. 1 min lang Partikel absinken lassen.
Probenvolumen	1.500 μ l in Eppendorf-Gefäße
Zentrifuge	10.000 m ⁻¹ (rcf = 10.621 g) bei 10 °C für 10 min 1.000 μ l Überstand abziehen und in braune Probengläser abfüllen
Analyse	nach Standardmethode (siehe II 4.4.1)

4.3 Probenaufbereitung und Extraktion

4.3.1 Probenaufbereitung

Drogenproben

Drogenproben wurden entweder durch teilweise oder komplette Ernte des Blühhorizontes gewonnen. Das Pflanzenmaterial wurde locker im Trockenschrank ausgelegt und bei 40 °C mit Frischluftzufuhr bis zur positiven Raschelprobe getrocknet. Bei der regelmäßigen Kontrolle auf Schimmelpilze wurde kein Befall festgestellt. Anschließend wurden die Drogenproben in Faltenbeuteln dunkel bei Umgebungstemperatur (Maschinenhalle Dürnast) gelagert. Aufgrund der gemeinsamen Lagerung der Proben liegt die Restfeuchte bei einem gleichmäßigen Wassergehalt von ca. 10 %.

Für die Analyse wurden stets die kompletten Proben in der Schrotmühle mit Siebgröße 1,0 mm zerkleinert und in PE-Verschlussbeutel abgefüllt. Die Proben wurden dunkel gelagert.

Blütenproben

Blütenproben wurden wie die Drogenproben im Trockenschrank bei 40 °C mit Frischluftzufuhr getrocknet und anschließend in Papiertüten dunkel bei Zimmertemperatur gelagert. Vor Bestimmung des Trockengewichtes wurden die Proben lyophilisiert und anschließend ohne weitere Vorbehandlung extrahiert.

Blütenproben N₂

Für eine zweite Kategorie von Blütenproben, die als "Blütenproben N₂" bezeichnet werden, wurden 10 Blüten geerntet, in Messflaschen gefüllt und unverzüglich in flüssigem Stickstoff gefrostet. Die anschließende Lagerung erfolgte bei -80 °C. Zur Bestimmung des Trockengewichtes wurden die Proben lyophilisiert und dann ohne weitere Vorbehandlung extrahiert.

4.3.2 Standardprotokoll für die Extraktion

Je nach Art der Probe und deren Aufbereitung wurden unterschiedliche Extraktionsansätze vorbereitet. Die jeweiligen Kombinationen von Einwaage (m_{Ein}) und Extraktionsvolumen (V_{Ex}) sind in folgender Tabelle 17 dargestellt. Die Vorbereitung der Extrakte für die anschließende HPLC-Analyse erfolgte für alle Probenarten in gleicher Weise.

Tabelle 17: Übersicht zur Extraktion der verschiedenen Probenarten

	<i>Drogenproben</i>	<i>Blütenproben</i>		<i>Blütenproben N₂</i>
m_{Ein} bzw. Blüten	500 ± 1 mg	$n = 20$	$n = 50$	$n = 10$
V_{Ex}	50 ml	20 ml	50 ml	20 ml
Gefäß	100 ml Kolben	100 ml Kolben	100 ml Kolben	20 ml Messflasche
Extraktionsdauer	24 h	7 d	7 d	7 d

Extraktionsmittel	Methanol 80 %
Extraktion	100 m^{-1} bei 26 °C im Zellkulturraum, Schüttelmaschine Typ LC-6
Probenahme	vorher ca. 1 min lang Partikel absinken lassen
Probenvolumen	1.500 μl in Eppendorf-Gefäße
Zentrifuge	10.000 m^{-1} (rcf = 10.621 g) für 10 min bei 10 °C 1.000 μl Überstand abziehen und in braune Probengläser abfüllen

Die Extraktion erfolgte im Zellkulturraum K 04 des Lehrstuhls für Phytopathologie bei 26 °C und Dunkelheit. Die fertigen Proben wurden bis zur Analyse im Kühlschrank bei 4 °C zwischengelagert.

4.4 Quantifizierung der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe

4.4.1 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Apparatur	Beckman HPLC System Gold Triathlon Autosampler 126 NM Solvent Module 168 NM PDA-Detector ($\lambda = 190 - 600 \text{ nm}$)
Software	Gold Nouveau Version 1.6
Trennsäule	LiChroCART [®] HPLC Cartridge Superspher [®] 60 RP-Select B (250 × 4,6 mm) 1.50973 (Lot L425186 No 134967) mit Vorsäulenkartusche (Merck, Darmstadt)
Mobile Phase	Laufmittel A: Phosphatpuffer pH 2 (50 mM) Laufmittel B: 59 % Acetonitril, 40 % Methanol und 1 % H ₂ O bidest. Die Laufmittel wurden vor dem Einsatz auf der HPLC entgast.

Programm	Zeit/min	% Laufmittel A	% Laufmittel B
	0	81	19
	8	81	19
	30	50	50
	45	0	100
	75	0	100
	78	81	19
	90	81	19

Alle Gradienten verlaufen linear.

Flussrate 1,0 ml/min

Injektionsvolumen 20 μ l

Detektion UV $\lambda = 254$ nm und 585 nm

Proben temperiert auf 15 °C, Säule bei Raumtemperatur (ca. 25 °C)

Die Standardmethode zur HPLC-Analyse wurde in Anlehnung an HÖLZL und OSTROWSKI (1987) in zahlreichen Versuchen optimiert. Das gewählte Elutionsprogramm eignet sich dafür, alle pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe innerhalb relativ kurzer Zeit zu erfassen. Allerdings können die Quercetin-Glykoside Hyperosid und Isoquercitrin nicht bei jedem Lauf zuverlässig voneinander getrennt werden. Deshalb sind die Gehalte stets als deren Summe unter der Bezeichnung "Hyperosid+Isoquercitrin" angegeben.

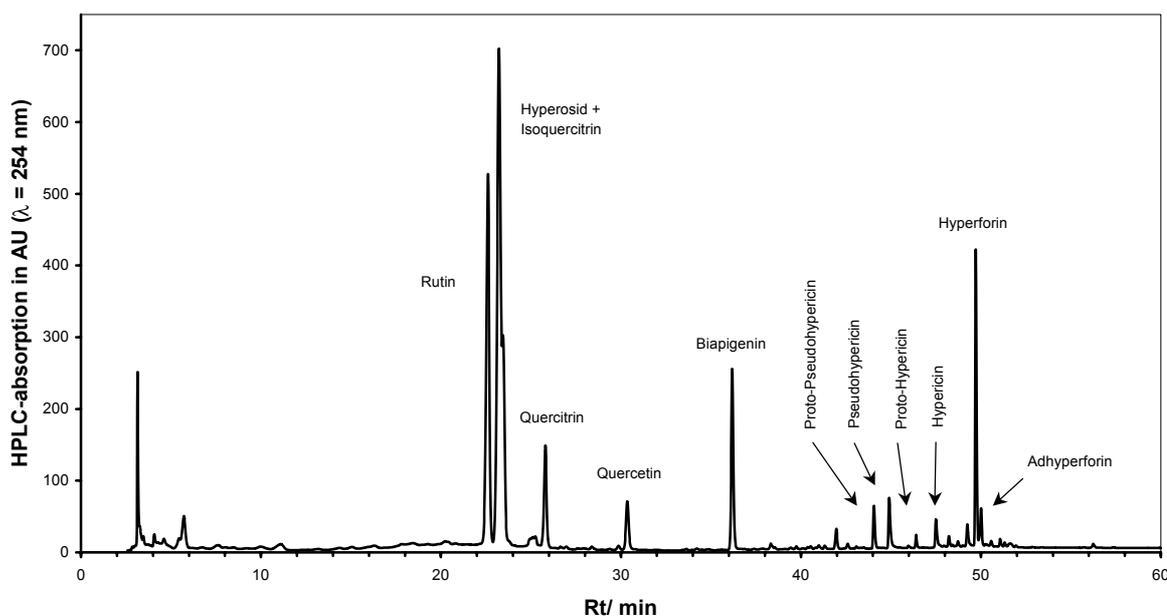


Abbildung 9: HPLC-Chromatogramm eines Johanniskrautextraktes bei $\lambda = 254$ nm

Die Identität der Inhaltsstoffe wurde durch die Retentionszeiten von Vergleichssubstanzen geklärt (siehe II 4.4.2, Tabelle 18). Die Protoformen der Hypericine und Adhyperforin sind nicht als Reinsubstanzen erhältlich. Sie konnten aber durch Vergleich ihrer charakteristischen Absorptionsspektren mit publizierten UV/VIS-Spektren (HÖLZL und OSTROWSKI 1987) im Chromatogramm lokalisiert werden.

4.4.2 Quantifizierung der Inhaltsstoffe auf Basis von Reinsubstanzen

Für die meisten pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe erfolgte die Quantifizierung mit Hilfe von Eichgeraden auf der Basis von Reinsubstanzen. Die Protohypericine konnten nur indirekt über deren Umwandlung in Pseudohypericin bzw. Hypericin quantifiziert werden (siehe unten II 4.4.3). Da auch Adhyperforin nicht als Reinsubstanz erhältlich war, musste die Eichgerade für Hyperforin zur Berechnung der Adhyperforingehalte herangezogen werden.

Reinsubstanzen

Die Flavonoide wurden in Methanol 80 %, die Hypericine in Pyridin und Hyperforin in reinem Methanol angelöst. Zur Herstellung der Verdünnungsreihe von 5, 10, 50 und 100 μM wurde bei den Flavonoiden Methanol 80 % und bei den übrigen Substanzen reines Methanol eingesetzt. Für Hyperforin und Hyperosid wurden zusätzlich Messungen mit 250 bzw. 250 und 500 μM durchgeführt.

Tabelle 18: Aufstellung der Reinsubstanzen

<i>Substanz</i>	<i>M_W</i> in g/mol	<i>Artikel</i>	<i>Charge</i>	<i>Bezugsquelle</i>
Rutin · 3 H ₂ O	664,58	7422.1	42629294	Carl Roth, Karlsruhe
Hyperosid	464,39	7932.1	0204549	Carl Roth, Karlsruhe
Isoquercitrin	464,38	7586.1	47942687	Carl Roth, Karlsruhe
Quercitrin	448,39	9417.1	51943145	Carl Roth, Karlsruhe
Quercetin · 2 H ₂ O	338,27	7417.1	23939574	Carl Roth, Karlsruhe
Biapigenin	538,47	002015	00296	PhytoLab Addipharma, Hamburg
Pseudohypericin (97,9 %)	520,45	55954-61-5	15-003-301	Phytos, Neu-Ulm
Hypericin (97,58 %)	504,43	0468 S	01102608	Extrasynthese, Genay Cedex/F
Hyperforin (95,6 %)	536,00	RHF 007 99	VHF 007 067	PhytoLab Addipharma, Hamburg

Konzentrationsberechnungen

Für die HPLC-Standards gilt bei linearem Zusammenhang folgende Regressionsgleichung:

(1) $y = a \cdot x + b$ und daraus folglich:

$$(2) \quad x = (y - b) / a$$

$$(3) \quad c_D = \frac{f_R \cdot (y - b) \cdot M_W \cdot V_{Ex}}{a \cdot m_{Ein} \cdot 1.000}$$

c_D	Konzentration in der Droge in g/kg
f_R	Korrekturfaktor für die Reinheit der Standardsubstanz
y	HPLC-Messwert als Peakfläche in AU
b	Achsenabschnitt der Eichgeraden in AU
M_W	Molekulargewicht in g/mol
V_{Ex}	Volumen Extraktionsmittel in ml
a	Steigung der Eichgeraden in AU·l/mol
m_{Ein}	Masse Einwaage (Trockengewicht) in mg

Zur Quantifizierung des Summenwertes der Flavonoid-Glykoside Hyperosid und Isoquercitrin wird die Regressionsgleichung für Hyperosid herangezogen, da diese über einen größeren Bereich (10 – 500 μM) ermittelt wurde.

Für die Naphthodianthrone Pseudohypericin und Hypericin sind neben den Werten für Messungen im UV-Bereich ($\lambda = 254 \text{ nm}$) auch die Parameter für Messungen beim spezifischen Absorptionsmaximum ($\lambda = 585 \text{ nm}$) angegeben (vgl. Tabelle 19).

Die Berechnung der Adhyperforingehalte erfolgt über die Eichgerade für Hyperforin. Das Molekulargewicht wird aus der Summenformel für Adhyperforin ermittelt.

Tabelle 19: Aufstellung der Parameter zu den jeweiligen Eichgeraden

<i>Substanz</i>	M_W	f_R	a	b	R^2	<i>Bereich</i>
	in g/mol		in AU·l/mol	in AU		
Rutin · 3 H ₂ O	664,58	-	31,274	-71,386	0,99998	10 – 100 μM
Hyperosid	464,39	-	34,354	-54,275	0,99995	10 – 500 μM
Isoquercitrin	464,38	-	32,417	-74,980	1	10 – 100 μM
Quercitrin	448,39	-	31,421	-56,664	0,99994	10 – 100 μM
Quercetin · 2 H ₂ O	338,27	-	34,470	-45,495	1	10 – 100 μM
Biapigenin	538,47	-	48,203	-41,737	0,99954	5 – 100 μM
Pseudohypericin ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	520,45	0,979	20,683	80,171	0,98864	5 – 100 μM
Pseudohypericin ($\lambda = 585 \text{ nm}$)	520,45	0,979	18,236	66,383	0,98795	5 – 100 μM
Hypericin ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	504,43	0,9758	53,735	79,766	0,99690	5 – 100 μM
Hypericin ($\lambda = 585 \text{ nm}$)	504,43	0,9758	49,381	67,551	0,99639	5 – 100 μM
Hyperforin	536,00	0,956	11,760	-5,999	0,98929	10 – 250 μM
Adhyperforin	550,00	0,956	11,760	-5,999	0,98929	-

4.4.3 Quantifizierung der Protohypericine

Da sich Protoseudohypericin und Protohypericin bei Belichtung durch Zyklisierung in Pseudohypericin bzw. Hypericin umsetzen, können sie ebenfalls quantifiziert werden. Dazu wurden 1.000 mg hypericinreiche Droge der Sorte 'Taubertal' in 50 ml Methanol 80 % nach Standardprotokoll für Drogenproben (siehe II 4.3.2) extrahiert.

Aus dieser Stammlösung wurden drei Verdünnungsreihen mit Konzentrationen hergestellt, die 100, 250, 500, 750 und 1.000 mg Droge pro 50 ml Methanol 80 % entsprechen. Die Verdünnungen wurden in Probengläser aus klarem Glas abgefüllt und analysiert.

Anschließend wurden sie im Phytotron des Institutes für Phytopathologie für 5 Stunden einer kontrollierten Belichtung unter Tageslichtverhältnissen unterzogen und ein zweites Mal analysiert. Die Umwandlung von Protohypericinen in deren Endstufen erfolgte vollständig. Der Zuwachs an Pseudohypericin bzw. Hypericin kann dann über die entsprechenden Eichgeraden quantifiziert werden:

$$(4) \quad \Delta y = y_{\text{belichtet}} - y_{\text{nativ}} = a' \cdot x_{\text{nativ}} + b'$$

Δy Zugewinn an Pseudohypericin bzw. Hypericin nach Belichtung in AU

$y_{\text{belichtet}}$ Messwert für Pseudohypericin bzw. Hypericin nach Belichtung in AU

y_{nativ} Messwert für Pseudohypericin bzw. Hypericin im Extrakt in AU

a' Steigung der Regressionsgeraden

x_{nativ} Messwert für Protoseudohypericin bzw. Protohypericin im Extrakt in AU

b' Achsenabschnitt der Regressionsgeraden in AU

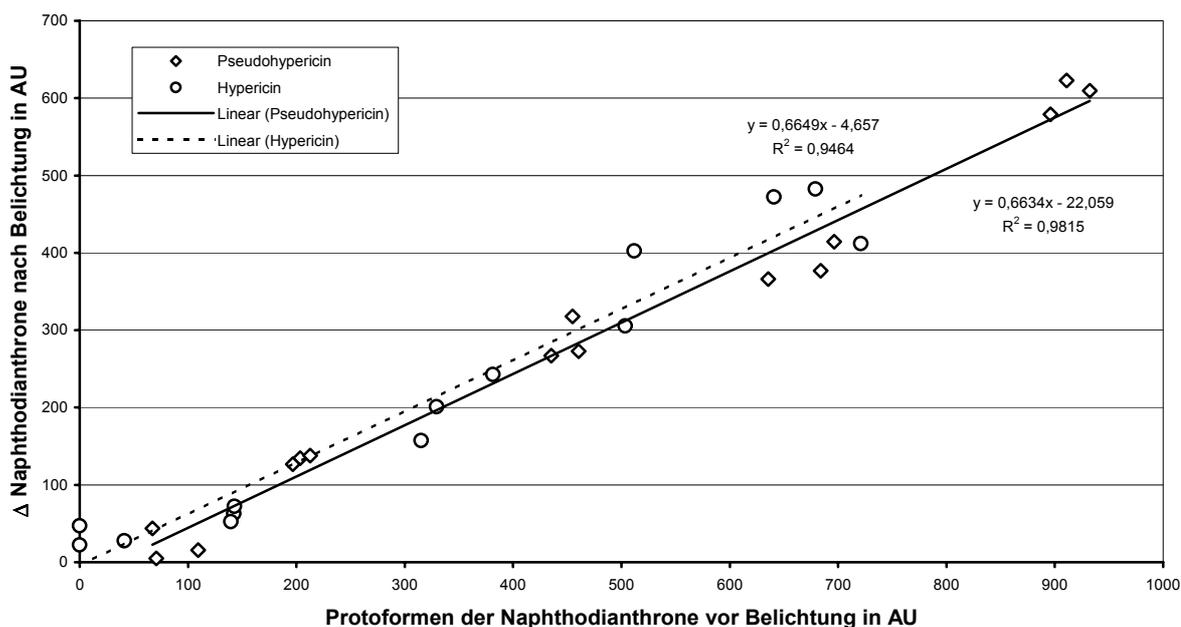


Abbildung 10: Umwandlung von Protoseudohypericin und Protohypericin ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

In Abbildung 10 sind die HPLC-Messwerte (bei $\lambda = 254$ nm) für die Protoformen der Hypericine vor Belichtung den Zuwächsen bei den Endstufen der Hypericine nach Belichtung gegenübergestellt. Abbildung 11 zeigt die Ergebnisse der Messung bei $\lambda = 585$ nm.

Die gemessenen Werte zeigen einen deutlichen linearen Zusammenhang, der durch das hohe Bestimmtheitsmaß (R^2) der jeweiligen Regressionsgeraden zum Ausdruck gebracht wird.

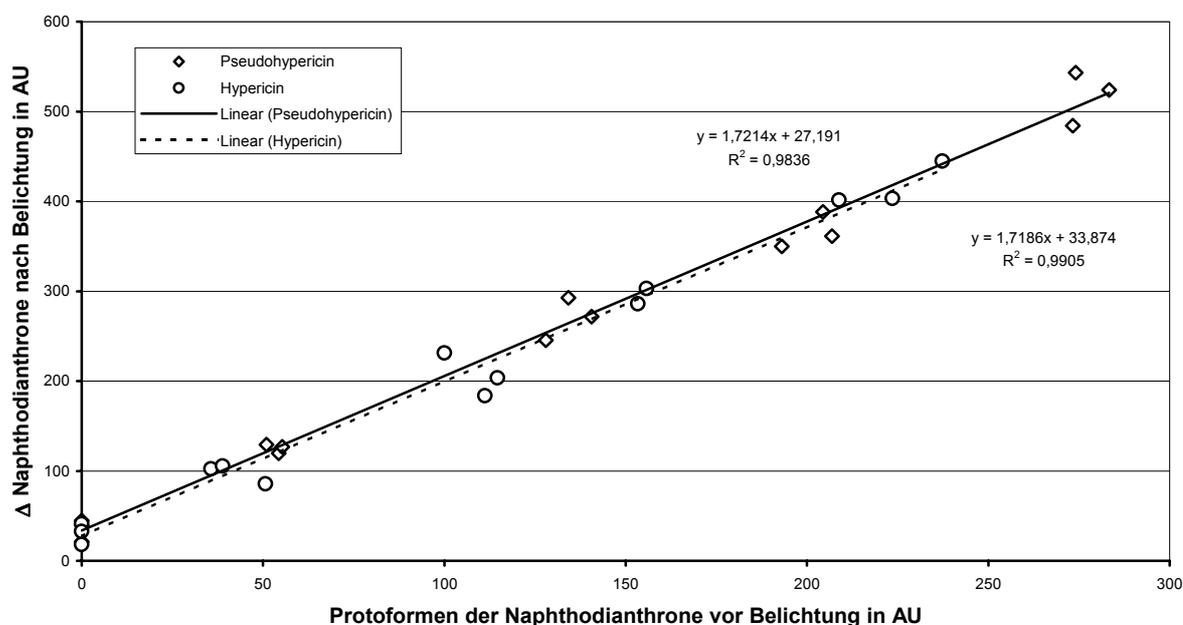


Abbildung 11: Umwandlung von Protopseudohypericin und Protohypericin ($\lambda = 585$ nm)

Anhand von Tabelle 20 können die Messwerte für Protopseudohypericin und Protohypericin in Äquivalente (Einheit AU) der jeweiligen Endstufe umgerechnet werden.

Tabelle 20: Parameter zur Umrechnung der Protohypericine in Hypericin-Äquivalente

Substanz	a'	b' in AU	R ²	Bereich
Protopseudohypericin ($\lambda = 254$ nm)	0,6634	-22,059	0,9815	bis 1.000 AU
Protohypericin ($\lambda = 254$ nm)	0,6649	-4,657	0,9464	bis 750 AU
Protopseudohypericin ($\lambda = 585$ nm)	1,7186	33,874	0,9905	bis 300 AU
Protohypericin ($\lambda = 585$ nm)	1,7214	27,191	0,9836	bis 250 AU

Zur Quantifizierung der Hypericin-Äquivalente können theoretisch die Eichgeraden aus II 4.4.2, Tabelle 19 herangezogen werden. Die umzurechnenden Werte sind allerdings sehr klein und liegen zum größten Teil im sensiblen Bereich zwischen Ursprung und kleinstem Messpunkt der Eichgerade. Deshalb wurden die Regressionsgleichungen der Naphthodianthrone unter der Bedingung, den Nullpunkt zu schneiden, neu berechnet.

Tabelle 21: Parameter der Eichgeraden zur Quantifizierung der Hypericin-Äquivalente

<i>Substanz</i>	M_W	f_R	a''	R^2	<i>Bereich</i>
	in g/mol		in AU·l/mol		
Pseudohypericin ($\lambda = 254$ nm)	520,45	0,979	21,731	0,98393	5 – 100 μ M
Hypericin ($\lambda = 254$ nm)	504,43	0,9758	55,710	0,99439	5 – 100 μ M
Pseudohypericin ($\lambda = 585$ nm)	520,45	0,979	19,104	0,98380	5 – 100 μ M
Hypericin ($\lambda = 585$ nm)	504,43	0,9758	51,054	0,99426	5 – 100 μ M

Unter Berücksichtigung der Gleichungen (3) und (4) wurden die Protohypericine nach folgender Gleichung (5) quantifiziert:

$$(5) \quad c_D = \frac{f_R \cdot (a' \cdot x_{\text{nativ}} + b') \cdot M_W \cdot V_{\text{Ex}}}{a'' \cdot m_{\text{Ein}} \cdot 1.000}$$

c_D	Konzentration in der Droge in g/kg
f_R	Korrekturfaktor für die Reinheit der Standardsubstanz
a'	Steigung der Regressionsgerade (4) (aus Tabelle 20)
x_{nativ}	Messwert für Protopseudohypericin bzw. Protohypericin im Extrakt in AU
b'	Achsenabschnitt der Regressionsgerade (4) (aus Tabelle 20) in AU
M_W	Molekulargewicht in g/mol
V_{Ex}	Volumen Extraktionsmittel in ml
a''	Steigung Eichgerade (aus Tabelle 21) in AU·l/mol
m_{Ein}	Masse Einwaage (Trockengewicht) in mg

5. Physiologie der Ertragsbildung

5.1 Blühverhalten

Ziel des Versuches ist es, das unterschiedliche Blühverhalten ausgewählter Herkünfte zu untersuchen. Da sich die Anthese einer Einzelblüte bei Johanniskraut innerhalb eines Tages ereignet, kann über die Anzahl der täglich gebildeten Blüten eine Aussage über das Blühverhalten der verschiedenen Genotypen getroffen werden. Gegenstand des Versuches waren jeweils zwei Pflanzen der Sorten 'Taubertal' und der Selektion SN-1, sowie drei Pflanzen der Sorte 'Topaz' II aus dem Versuchsfeld Blockanlage 2000 (siehe Tabelle 22).

Tabelle 22: Standorte der zum Blühverhalten untersuchten Pflanzen

	<i>Pflanzen</i>	<i>Standort im Versuchsfeld Blockanlage 2000</i>
'Taubertal'	2	Block IV Pflanzen 2 (a), Block IV Pflanze 9 (b)
SN-1	2	Block IV Pflanze 1 (a), Block III Pflanze 7 (b)
'Topaz' II	3	Block IV Pflanze 13 (a), Block I Pflanze 14 (b), Block II Pflanze 8 (c)

Bei den betreffenden Pflanzen wurden die Bodenausläufer noch vor der Blüte entfernt und somit nur die Triebe aus Bestockung berücksichtigt. Um keine Eingriffe in das natürliche Abblühverhalten vorzunehmen, wurden die Pflanzen keinerlei sonstiger Behandlung unterzogen und auch keine Blüten geerntet. Es wurden täglich die am betreffenden Tag geöffneten Blüten gezählt.

In der Regel ereignet sich die Anthese einer einzelnen Johanniskrautblüte innerhalb eines Tages. Bei kühlem Wetter kann die Turgeszenz der Blüten zwar bis in den nächsten Tag hinein erhalten bleiben, allerdings lässt sich anhand der Entwicklung der Antheren eine klare Zuordnung zum jeweiligen Tag der Anthese treffen. Frische Blüten weisen turgeszente Filamente mit geplatzen und teilweise noch geschlossenen Antheren auf, während Blüten vom vorhergehenden Tag welke Filamente mit leeren Pollensäcken zeigen.

5.2 Entwicklung der Inhaltsstoffe in der Droge

Zur Untersuchung der Inhaltsstoffentwicklung in der Droge wurden die identischen Klone TT-1 und TT-2 der Sorte 'Taubertal' in der Blockanlage 2000 ausgewählt. Der Versuch ist in zwei Teile gegliedert. Der erste Teil umfasst sieben relativ eng gestaffelte Probetermine, die innerhalb der zwei Wochen mit der intensivsten Blüte gewählt wurden (im Weiteren: Blühperiode). Im zweiten Teil wurden sieben Probetermine gewählt, welche markante Punkte in der physiologischen Entwicklung der Pflanze von der Knospe bis zur reifen Kapsel repräsentieren (im Weiteren: generative Phase). Zu jedem Erntetermin wurden in einem versetzten

Muster zwei Pflanzen pro Block beerntet. Insgesamt standen also zwei Varianten zu je sieben Terminen mit jeweils 4 x 2 Proben zur Auswertung bereit. Geerntet wurde stets der vollständige Blühhorizont der betreffenden Pflanzen.

5.2.1 Blühperiode

Für die Erfassung der Inhaltsstoffentwicklung während der Blühperiode wurden zuerst in der Woche der augenscheinlich intensivsten Blüte an vier aufeinanderfolgenden Tagen Proben des 'Taubertal'-Klons TT-1 (Blockanlage) geerntet. In der folgenden Woche wurden drei Ernten im 2tägigen Abstand durchgeführt (siehe Tabelle 23). Die Probenahme umfasst den Zeitraum, der auch im kommerziellen Feldanbau für die Ernte in Frage kommt.

Tabelle 23: Erntezeitpunkt und korrespondierendes physiologisches Stadium, Blühperiode

<i>Datum</i>	<i>Physiologisches Stadium</i>	<i>Beerntete Pflanzen</i>
18. Juni 2002	Vollblüte	Pflanzen 1 + 11
19. Juni 2002		Pflanzen 2 + 12
20. Juni 2002		Pflanzen 3 + 13
21. Juni 2002		Pflanzen 4 + 14
24. Juni 2002	abklingende Blüte	Pflanzen 5 + 8
26. Juni 2002		Pflanzen 6 + 9
28. Juni 2002		Pflanzen 7 + 10

5.2.2 Generative Phase

Für die Erfassung der Inhaltsstoffentwicklung über die gesamte generative Phase wurden an sieben verschiedenen Terminen 4 x 2 Pflanzen des 'Taubertal'-Klons TT-2 (Blockanlage) beerntet. Die Erntetermine wurden parallel zu den sichtbaren physiologischen Entwicklungsstadien der Pflanzen gewählt (siehe Tabelle 24).

Tabelle 24: Erntezeitpunkt und korrespondierendes physiologisches Stadium, generative Phase

<i>Datum</i>	<i>Physiologisches Stadium</i>	<i>Beerntete Pflanzen</i>
14. Juni 2002	Blühbeginn	Pflanzen 1 + 11
19. Juni 2002	Vollblüte	Pflanzen 2 + 12
24. Juni 2002	abklingende Blüte	Pflanzen 3 + 13
01. Juli 2002	Ende Blüte	Pflanzen 4 + 14
08. Juli 2002	grüne Kapseln	Pflanzen 5 + 8
23. Juli 2002	erste reife Samen	Pflanzen 6 + 9
08. August 2002	reife Kapseln	Pflanzen 7 + 10

5.3 Entwicklung der Inhaltsstoffe in Einzelblüten

5.3.1 Blühverlauf

Von jeweils zwei Pflanzen der Sorte 'Taubertal' (Block IV Pflanzen 1 und 8) und der Selektion SN-1 (Block II Pflanze 1 und Block III Pflanze 1) wurden nach Möglichkeit täglich 20 frisch geöffnete und intakte Blüten geerntet. Die Blüten wurden im Trockenschrank bei 40 °C getrocknet. Für die weitere Aufbereitung und Analyse der Proben wurde nach dem Standardprotokoll für "Blütenproben" ($n = 20$ Blüten) verfahren (vgl. II 4.2).

5.3.2 Tagesverlauf

Für die Untersuchung der Inhaltsstoffentwicklung im Tagesverlauf wurden von zwei phänotypisch gleichen Pflanzen der Sorte 'Topaz' (Pfl. a auf Position I-8, Pfl. b auf Position I-9) beginnend um 8.15 Uhr im Abstand von zwei Stunden jeweils 20 intakte Blüten geerntet. Gleichzeitig erfolgte die Ernte bereits verblühter Blüten vom Vortag. Der betreffende Tag war ein sonniger Sommertag, also ein typischer Tag in der Blühperiode des Johanniskrautes, der sich auch für eine Ernte des Bestandes angeboten hätte. Die Anthese selbst verlief normal und ohne Beeinträchtigung durch Witterungseinflüsse (vgl. Tabelle 25). Die Verarbeitung und Analyse der Blütenproben ($n = 20$) erfolgte nach Standardprotokoll (vgl. II 4.2).

Tabelle 25: Beschreibung der Blüten zu den Erntezeitpunkten

8.15 Uhr	aktuell: Blüte voll turgeszent, ca. $\frac{1}{2}$ der Antheren offen und normal aufgespreizt Vortag: Petalen eingerollt, leichte Verbräunungen, Antheren eingekrümmt
10.15 Uhr	aktuell: Blüte voll turgeszent, fast alle Antheren offen und normal aufgespreizt Vortag: Petalen werden allmählich trocken
12.15 Uhr	aktuell: Blüte noch turgeszent, alle Antheren offen und zur Mitte hingebogen Vortag: Petalen schon trocken
14.15 Uhr	aktuell: Blüte nicht mehr voll turgeszent, alle Antheren zur Mitte geklappt Vortag: Petalen trocken, nicht mehr gut von noch älteren Blüten unterscheidbar
16.15 Uhr	aktuell: sichtbarer Turgorverlust der Blüte, auch die Filamente beginnen zu welken
18.15 Uhr	aktuell: Petalen und Filamente werden trocken, leichtes Ausblässen der Farbe

5.3.3 Positionseffekte

Die Einteilung der Positionen von Einzelblüten innerhalb eines Blütenstandes von Johanniskraut wird anhand des Aufblühens der terminalen Teilinfloreszenz vorgenommen (vgl. Abbildung 12). Dabei wird im Verlauf der Blüte ausgehend von der terminalen Blüte A auf die beiden seitlich angeordneten Blüten B, C und D übergegangen. Die terminale Teilinfloreszenz wird mit der Ziffer 1 belegt. Die Teilinfloreszenz, die vom Nodium unterhalb des Nodiums mit der terminalen Blüte abzweigt, wird mit der Ziffer 2 belegt und so weiter.

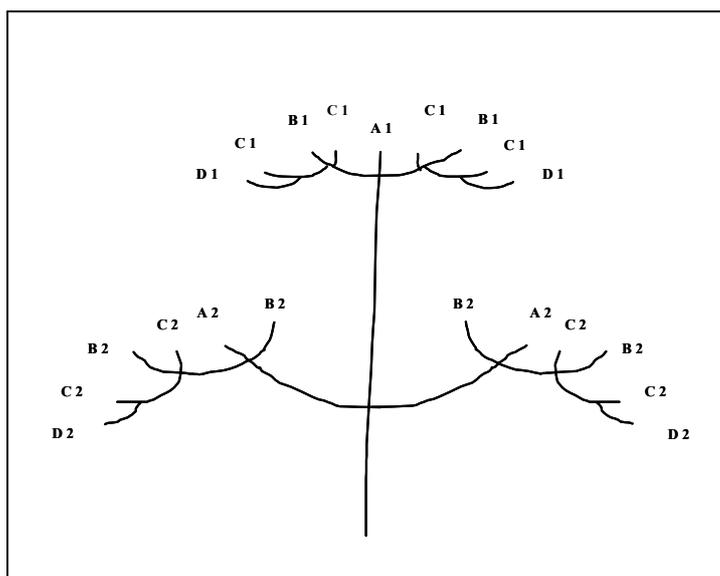


Abbildung 12: Schematische Darstellung einer Infloreszenz von Johanniskraut

Für die Analyse der Inhaltsstoffe wurden je 20 Blüten der Ordnungen A, B, C und D aus den Teilinfloreszenzen 1, 2, 3 und 4 geerntet, so dass insgesamt 16 Proben der Selektion SN-1 zur Verfügung standen. Die weitere Aufbereitung und Analyse der Proben erfolgte als Blütenproben wie unter II 4.2 beschrieben.

5.3.4 Lokalisation in den Blütenorganen

Als Ausgangsmaterial zur Bestimmung der Inhaltsstoffgehalte in den verschiedenen Blütenorganen wurden 50 frische Blüten der Herkunft NF-1 geerntet. Anschließend wurden die Blüten sorgfältig in Sepalen, Petalen, Stamina und Pistill getrennt, in Messflaschen gefüllt und in flüssigem Stickstoff gefroren. Die Petalen wurden dabei in 2 Teilproben von je 25 Blüten aufgeteilt. Die weitere Aufbereitung und Analyse erfolgte als "Blütenproben N₂" wie unter II 4.2 beschrieben.

5.3.5 Knospentwicklung

Die Entwicklung von einer jungen Knospe bis zur offenen Blüte kann bei Johanniskraut in sechs charakteristische Stadien eingeteilt werden. Diese lassen sich äußerlich anhand der Färbung der Kronblätter und ihrer Länge im Verhältnis zu den Kelchblättern definieren. Jedes Stadium geht mit einer bestimmten Phase in der Entwicklung der inneren Blütenorgane, also der Staubblätter und des Fruchtknotens einher. Dieser Zusammenhang zwischen äußerer und innerer Entwicklung zeigt die praktische Relevanz dieser Einteilung in sechs Stadien (siehe Tabelle 26 und Abbildung 13).

Tabelle 26: Beschreibung der Knospentstadien von Johanniskraut (vgl. Abbildung 13)

Stadium I	Petalen grünlichgelb gefärbt, noch kürzer als die Sepalen (5 mm < 6 mm); Griffel und Filamente kürzer als die Kelchblätter
Stadium II	Petalen noch grünlichgelb, etwa so lang wie die Sepalen (~ 7 mm); Griffel etwa so lang wie die Sepalen, Filamente kürzer
Stadium III	Petalenspitzen werden gelb, überragen die Sepalen deutlich (8 mm > 7 mm); Filamente beginnen mit der Streckung, Antheren sind noch leicht grün
Stadium IV	Petalen gelb, nur noch an der Basis grünlich, Länge ca. 10 mm, Petalenspitzen lockern sich; Filamente in Streckung, Antheren gelb gefärbt
Stadium V	Petalen vollständig ausgefärbt und etwa 11-12 mm lang, Petalenspitzen leicht geöffnet, ca. ein Tag vor der Anthese; Filamente und Antheren voll ausgebildet, Griffel spreizen sich leicht
Stadium VI	Stadium der Anthese: Blüte geöffnet, voll turgeszent, Antheren öffnen sich sukzessive, die drei Griffeläste sind auseinander gespreizt

**Abbildung 13: Knospentstadien I bis VI (oben vollständig, mitte Petalen entfernt, unten kastriert)**

Zur Bestimmung der Inhaltsstoffgehalte im Verlauf der Knospentwicklung bis zur Anthese wurden je Stadium ca. 200 mg frische Knospen bzw. Blüten der Herkunft UN-4 geerntet. Die Proben wurden in Messflaschen gefüllt und unverzüglich in flüssigem Stickstoff gefrostet. Die weitere Aufbereitung und Analyse der Knospen bzw. Blüten erfolgte als "Blütenproben N₂" wie unter II 4.2 beschrieben.

III Ergebnisse

1. Feldversuche

Im Verlauf der Kultur war auf allen Versuchsflächen und in allen Versuchsjahren das Auftreten mehrerer tierischer Schädlinge zu beobachten. Bereits Anfang Mai spinnen sich die Larven des Johanniskraut-Blattwicklers (*Lathronympha strigana* FABR. [Lepidoptera: Tortricidae]) in den Triebspitzen ein und fraßen am Vegetationspunkt. Der Schaden hielt sich jedoch in Grenzen, da die später entstandenen Seitentriebe die zerstörten Hauptblütentriebe ersetzen.

In den Monaten Juni und Juli kam es in allen Jahren, besonders aber im Jahr 2002, zu einem starken Auftreten von Imagines und Larven der Johanniskraut-Blattkäfer (*Chrysolina hyperici* FORST., *Chr. quadrigemia* SUFFR. und *Chr. varians* SCHALLER [Coleoptera: Chrysomelidae]). Sie verursachten durch Blattfraß bis hin zum Kahlfraß einzelner Triebe nennenswerte Schäden. Ebenfalls in den Monaten Juni und Juli waren Schäden durch Larven der Johanniskraut-Blattwespe (verm. *Pristiphora geniculata* HARTIG [Hymenoptera: Tenthredinidae]) zu verzeichnen.

In allen Versuchsjahren wurden erhebliche Schäden durch die Johanniskrautwelke (*Colletotrichum cf. gloeosporioides*) verursacht. Je nach individueller Anfälligkeit der betreffenden Herkünfte führte die Infektion zu massiven Ausfällen bis hin zum Verlust aller Pflanzen.

1.1 Blockanlage

1.1.1 Pflanzenentwicklung

Homogenität der Herkünfte

Bereits im Verlauf des ersten Standjahres waren zwischen den samenvermehrten Herkünften deutliche Unterschiede bezüglich ihrer Homogenität festzustellen. Während sich die Sorten 'Taubertal' und 'Goldstern' durch einen homogenen Pflanzenbestand auszeichneten, war bei den zwei unterschiedlichen Provenienzen der Sorte 'Topaz' eine Mischung ähnlicher aber hinreichend unterschiedlicher Phänotypen vorhanden. Die Pflanzen der Herkunft Stamm B zeigten ein relativ inhomogenes Bild, ließen sich jedoch der Gruppe breitblättriger Phänotypen zuordnen. Die Saatgutherkunft M. Bauer erwies sich als buntes Gemisch zahlreicher Phänotypen mit sehr unterschiedlicher physiologischer Entwicklung.

Alle Herkünfte aus *in-vitro*-Vermehrung zeigten eine sehr homogene Entwicklung. Bei den Klonen TT-1 bis TT-8 waren weder morphologische Unterschiede festzustellen noch konnten Unterschiede in der physiologischen Entwicklung beobachtet werden.

Pflanzenentwicklung

Im Pflanzjahr (2000) entwickelten sich die Herkünfte aus *in-vitro*-Kultur und die samenvermehrten Stämme sehr unterschiedlich. Während die Sämlinge normal bestockten, entwickelten die meisten Pflanzen aus *in-vitro*-Kultur einen liegenden Haupttrieb. Dieser kam bald zur Blüte und garnierte sich dann mit zahlreichen Seitentrieben, die in einer zweiten Welle aufblühten. Dadurch war eine Reihe von geplanten Bewertungen nicht möglich.

Im zweiten Standjahr (2001) war bei allen Pflanzen eine normale Entwicklung zu verzeichnen. Obwohl sich die Sorte 'Goldstern' im ersten Standjahr gut entwickelte, führte eine natürliche Infektion mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* im zweiten Jahr zu einem raschen Absterben aller Pflanzen im Versuch.

Während des dritten Standjahres (2002) konnten bei allen Herkünften leichte Abbauerscheinungen und Vitalitätsverluste festgestellt werden. Es war zu beobachten, dass sich bis dahin nur tendenziell vorhandene Unterschiede in der Entwicklung der Pflanzen verstärkten.

Blühbeginn im 2. und 3. Standjahr

Der Blühbeginn der einzelnen Parzellen war mit Ausnahme der beiden Herkünfte der Sorte 'Topaz' im zweiten und dritten Versuchsjahr sehr einheitlich. In Tabelle 27 sind die Daten für den Blühbeginn der untersuchten Herkünfte in den Jahren 2001 und 2002 gegenübergestellt.

Tabelle 27: Blühbeginn Blockanlage in den Versuchsjahren 2001 und 2002

Jahr	Block	'Taubertal'	'Topaz' I+II	TT-3	SN-1	SR-2	P-1
2001	I	15. Juni	23. - 30. Juni	14. Juni	21. Juni	20. Juni	17. Juni
	II	13. Juni	20. Juni - 1. Juli	15. Juni	21. Juni	21. Juni	17. Juni
	III	14. Juni	17. Juni - 1. Juli	14. Juni	22. Juni	20. Juni	17. Juni
	IV	14. Juni	25. Juni - 2. Juli	14. Juni	22. Juni	21. Juni	17. Juni
2002	I	11. Juni	18. - 23. Juni	10. Juni	17. Juni	-	17. Juni
	II	10. Juni	19. - 26. Juni	11. Juni	16. Juni	17. Juni	14. Juni
	III	12. Juni	15. - 26. Juni	12. Juni	16. Juni	17. Juni	-
	IV	11. Juni	19. - 24. Juni	13. Juni	17. Juni	17. Juni	15. Juni

Die Sorte 'Taubertal' und TT-3 begannen in beiden Versuchsjahren als erste zu blühen, gefolgt von der Wildherkunft P-1. Etwa eine Woche später öffneten sich die Blüten der Selektionen SN-1 und SR-2. Im gleichen Zeitraum setzte die Blüte bei den ersten Pflanzen der Herkünfte von 'Topaz' ein. Die letzten Pflanzen blühten jedoch erst über eine Woche später auf.

Im Vergleich der beiden Versuchsjahre lag der Blühbeginn bei 'Taubertal', TT-3, SR-2 und P-1 im dritten Standjahr 2002 etwa zwei bis drei Tage früher als im zweiten Standjahr 2001. Die Selektion SN-1 begann im dritten Standjahr fünf Tage früher zu blühen. In dieser Größenordnung bewegte sich auch die Verschiebung bei 'Topaz'.

1.1.2 Agronomische Merkmale (Versuchsjahr 2001)

Im Folgenden sind die Ergebnisse des zweiten Standjahres (2001) für die ausgewählten Sorten und Herkünfte tabellarisch in Form von Mittelwerten der einzelnen Blöcke ($n = 10$) und über alle Blöcke ($n = 40$) dargestellt. Mittelwerte mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant auf Basis der kleinsten gesicherten Differenz bzw. Grenzdifferenz (GD) auf einem statistisch abgesichertem Wahrscheinlichkeitsniveau von 1 % ($GD_{1\%}$).

Pflanzenhöhe

Tabelle 28: Pflanzenhöhe in cm, Blockanlage 2001

	'Taubertal'	'Topaz'I+II	TT-3	SN-1	SR-2	P-1
Block I	78,1 ± 3,7	97,8 ± 4,9	78,5 ± 4,0	73,8 ± 2,4	76,9 ± 2,5	79,5 ± 3,2
Block II	82,9 ± 2,2	98,7 ± 5,6	83,7 ± 4,0	77,0 ± 2,2	77,0 ± 2,6	82,4 ± 5,9
Block III	78,0 ± 3,1	95,4 ± 5,9	84,1 ± 2,2	77,7 ± 3,5	83,7 ± 3,0	92,6 ± 3,9
Block IV	87,7 ± 2,4	107,5 ± 5,8	80,3 ± 3,9	80,1 ± 3,4	81,1 ± 2,8	90,0 ± 2,3
Mittelwert	81,6 ± 5,0 ^{ab}	99,9 ± 7,1 ^c	81,7 ± 4,2 ^{ab}	77,2 ± 3,6 ^a	79,9 ± 4,0 ^{ab}	86,0 ± 6,6 ^b

Varianztabelle

	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>s²(MQ)</i>
Gesamt	1664,0	23	
Blöcke	156,2	3	
Herkünfte	1326,4	5	265,3
Fehler (Rest)	181,4	15	12,1

kleinste gesicherte Differenz (1 %): $GD_{1\%} = 7,3$ cm

Mit durchschnittlich 77,2 cm war SN-1 die niedrigste Herkunft und damit signifikant kleiner als P-1 mit 86,0 cm. Dazwischen lagen SR-2, 'Taubertal' und TT-3, während sich die Sorte 'Topaz' mit dem höchsten Wert von 99,9 cm sehr deutlich von allen anderen Herkünften unterschied (vgl. Tabelle 28).

Triebzahl

Tabelle 29: Triebzahl in Triebe/Pfl., Blockanlage 2001

	'Taubertal'	'Topaz'I+II	TT-3	SN-1	SR-2	P-1
Block I	26,0 ± 6,3	23,0 ± 4,9	31,3 ± 4,7	38,3 ± 4,5	23,0 ± 3,7	19,2 ± 2,7
Block II	32,8 ± 7,6	21,2 ± 8,1	31,9 ± 6,3	48,7 ± 8,4	18,7 ± 4,3	17,0 ± 3,1
Block III	25,0 ± 5,1	21,4 ± 8,5	35,7 ± 7,7	52,6 ± 8,8	26,6 ± 7,8	24,7 ± 4,8
Block IV	38,8 ± 6,7	20,8 ± 5,6	37,9 ± 6,5	55,4 ± 10,3	26,3 ± 7,8	26,3 ± 6,1
Mittelwert	30,6 ± 8,4 ^{bc}	21,6 ± 6,7 ^a	34,2 ± 6,7 ^c	48,8 ± 10,3 ^d	23,6 ± 6,9 ^{ab}	21,7 ± 5,7 ^a

Varianztabelle

	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>s²(MQ)</i>
Gesamt	2616,52	23	
Blöcke	192,17	3	
Herkünfte	2192,51	5	438,50
Fehler (Rest)	231,84	15	15,456

kleinste gesicherte Differenz (1 %): $GD_{1\%} = 8,2$ Triebe/Pfl.

'Topaz' und P-1 wiesen mit 21,6 und 21,7 Trieben pro Pflanze die niedrigsten Werte innerhalb der untersuchten Herkünfte auf. Mit Abstand die meisten Triebe bildete SN-1 mit 48,8 pro Pflanze. Dazwischen lagen SR-2, 'Taubertal' und TT-3, wobei sich SR-2 und 'Taubertal' bzw. 'Taubertal' und TT-3 nicht signifikant voneinander unterschieden.

Erntehorizont**Tabelle 30: Erntehorizont in cm, Blockanlage 2001**

	'Taubertal'	'Topaz'I+II	TT-3	SN-1	SR-2	P-1
Block I	15,2 ± 2,3	12,6 ± 1,8	18,0 ± 3,1	10,2 ± 2,4	9,8 ± 6,9	14,0 ± 2,8
Block II	14,9 ± 5,6	13,3 ± 1,9	16,8 ± 3,4	11,6 ± 2,7	14,8 ± 2,2	12,5 ± 0,9
Block III	16,9 ± 1,8	15,4 ± 3,9	17,2 ± 1,8	13,4 ± 1,8	14,8 ± 2,9	11,2 ± 4,2
Block IV	17,8 ± 1,6	15,1 ± 4,0	17,1 ± 3,1	12,3 ± 1,9	15,4 ± 6,2	14,1 ± 1,9
Mittelwert	16,2 ± 3,4 ^{bc}	14,1 ± 3,2 ^{ab}	17,3 ± 2,9 ^c	11,9 ± 2,4 ^a	13,7 ± 5,3 ^{ab}	13,0 ± 2,9 ^a

Varianztabelle

	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>s²(MQ)</i>
Gesamt	125,9	23	
Blöcke	14,1	3	
Herkünfte	82,2	5	16,4
Fehler (Rest)	29,6	15	1,97

kleinste gesicherte Differenz (1 %): $GD_{1\%} = 2,9$ cm

Bezüglich des Erntehorizontes erreichen SN-1 und P-1 mit durchschnittlich 11,9 cm und 13,0 cm die niedrigsten Werte. Einen signifikant größeren Erntehorizont weisen die Sorte 'Taubertal' und TT-3 auf, die ihrerseits eine Gruppe bilden. Dazwischen liegen die Herkunft SR-2 und die Sorte 'Topaz', die sich weder von der Gruppe mit dem kleinsten Erntehorizont noch von 'Taubertal' unterscheiden lassen, jedoch signifikante Unterschiede zu TT-3 mit dem höchsten Wert von 17,3 cm zeigen.

Ertrag**Tabelle 31: Frischgewicht in g/Pfl., Blockanlage 2001**

	'Taubertal'	'Topaz'I+II	TT-3	SN-1	SR-2	P-1
Block I	136,1 ± 41,3	150,0 ± 43,9	143,1 ± 31,2	140,9 ± 30,6	155,6 ± 36,1	134,5 ± 28,6
Block II	162,9 ± 50,3	129,1 ± 22,6	118,0 ± 30,0	145,4 ± 24,6	123,2 ± 28,3	117,1 ± 26,6
Block III	149,9 ± 29,0	149,1 ± 73,3	135,6 ± 32,7	150,2 ± 27,4	148,6 ± 35,0	142,9 ± 34,7
Block IV	196,5 ± 60,2	172,1 ± 60,1	152,2 ± 40,1	147,4 ± 31,0	148,7 ± 25,8	133,8 ± 25,0
Mittelwert	161,3 ± 50,2 ^b	150,1 ± 53,6 ^{ab}	137,2 ± 34,8 ^{ab}	146,0 ± 27,6 ^{ab}	142,9 ± 32,5 ^{ab}	132,8 ± 29,2 ^a

Varianztabelle

	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>s²(MQ)</i>
Gesamt	6658,7	23	
Blöcke	2027,4	3	
Herkünfte	2089,7	5	417,9
Fehler (Rest)	2541,8	15	169,5

kleinste gesicherte Differenz (1 %): $GD_{1\%} = 27,2$ g/Pfl.

Bezüglich ihres Frischgewichtes unterscheiden sich nur die Herkunft P-1 mit dem niedrigsten Wert von 132,8 g/Pfl. und die Sorte 'Taubertal' mit dem höchsten Wert von 161,3 g/Pfl. auf signifikantem Niveau. Die anderen Durchschnittswerte für das Frischgewicht pro Pflanze liegen dazwischen.

Tabelle 32: Drogengewicht in g/Pfl., Blockanlage 2001

	'Taubertal'	'Topaz'I+II	TT-3	SN-1	SR-2	P-1
Block I	33,7 ± 10,5	38,0 ± 10,9	35,6 ± 8,2	35,1 ± 6,6	45,1 ± 10,6	34,9 ± 7,7
Block II	41,2 ± 13,6	32,1 ± 6,1	29,0 ± 7,8	34,6 ± 6,1	35,8 ± 9,6	30,1 ± 7,6
Block III	38,5 ± 7,3	37,4 ± 20,0	34,0 ± 8,2	35,9 ± 6,6	41,2 ± 10,2	34,8 ± 8,7
Block IV	47,4 ± 15,1	42,0 ± 15,1	37,8 ± 10,7	36,0 ± 7,9	40,0 ± 7,4	33,8 ± 6,7
Mittelwert	40,2 ± 12,5 ^b	37,4 ± 13,9 ^{ab}	34,1 ± 9,1 ^{ab}	35,4 ± 6,6 ^{ab}	40,2 ± 9,6 ^b	33,4 ± 7,7 ^a

Varianztabelle

	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>s²(MQ)</i>
Gesamt	435,8	23	
Blöcke	98,6	3	
Herkünfte	186,1	5	37,2
Fehler (Rest)	151,2	15	10,1

kleinste gesicherte Differenz (1 %): $GD_{1\%} = 6,6$ g/Pfl.

Das Drogengewicht pro Pflanze betreffend ergibt sich eine vergleichbare Situation wie beim Frischgewicht. Mit dem Unterschied, dass die Herkunft SR-2 wie die Sorte 'Taubertal' den höchsten Wert von 40,2 g/Pfl. erreicht und sich ebenfalls signifikant von der Herkunft P-1 unterscheidet, die mit 33,4 g/Pfl. wieder den niedrigsten Wert aufweist. Die Herkünfte TT-3, SN-1 und die Sorte 'Topaz' lassen sich weder vom Maximum noch vom Minimum der untersuchten Herkünfte unterscheiden.

Aus den Mittelwerten für das Frisch- und Drogengewicht lassen sich die Eintrocknungsverhältnisse für die einzelnen Herkünfte berechnen, die in Tabelle 33 dargestellt sind.

Tabelle 33: Eintrocknungsverhältnis, Blockanlage 2001

	<i>'Taubertal'</i>	<i>'Topaz'I+II</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>	<i>SR-2</i>	<i>P-1</i>
Mittelwert	4,01 : 1	4,01 : 1	4,02 : 1	4,12 : 1	3,55 : 1	3,95 : 1

Die Ergebnisse zeigen, dass sich das Eintrocknungsverhältnis im Wesentlichen um einen Wert von 4 : 1 bewegt. Dieses Verhältnis wird von den Sorten 'Taubertal', 'Topaz' und der Herkunft TT-3 exakt erreicht, während die Werte für SN-1 und P-1 darüber bzw. leicht darunter liegen. Ein deutlich niedrigeres Verhältnis von Frischgewicht zu Drogengewicht lässt sich für SR-2 feststellen.

Ertrag der zweiten Ernte

Da nur die Sorte 'Taubertal' und die Herkünfte TT-3 und SN-1 eine nennenswerte zweite Blüte bildeten, fehlen die Werte der Sorte 'Topaz' und der Herkünfte SR-2 und P-1 hier. Aufgrund der geringen Datenmenge ist keine sinnvolle Beurteilung der Ergebnisse nach statistischen Maßstäben möglich (vgl. Tabelle 34).

Tabelle 34: Zweite Ernte: Frischgewicht und Drogengewicht in g/Pfl., Blockanlage 2001

	<i>Frischgewicht</i>			<i>Drogengewicht</i>		
	<i>'Taubertal'</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>	<i>'Taubertal'</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>
Block I	41,5 ± 9,6	52,8 ± 9,7	45,5 ± 11,6	9,5 ± 2,5	12,4 ± 2,8	11,5 ± 3,5
Block II	52,1 ± 9,4	44,0 ± 15,8	49,1 ± 8,5	12,4 ± 2,4	11,2 ± 2,0	13,0 ± 2,4
Block III	44,5 ± 7,2	57,3 ± 11,7	25,1 ± 12,8	10,50 ± 2,0	14,1 ± 3,1	5,5 ± 3,3
Block IV	62,1 ± 14,3	54,9 ± 13,5	37,9 ± 8,6	15,0 ± 4,0	13,0 ± 3,2	9,0 ± 2,6
Mittelwert	50,0 ± 13,0	52,2 ± 13,4	39,4 ± 13,8	11,8 ± 3,5	12,7 ± 2,9	9,8 ± 4,1

Das Frischgewicht der zweiten Ernte erreicht bei 'Taubertal' und TT-3 etwa ein Drittel der ersten Ernte. Etwas geringer fällt der Frischmasseertrag bei SN-1 aus. Bei den Werten für das Drogengewicht der zweiten Ernte liegen 'Taubertal' und TT-3 in der selben Größenordnung,

während SN-1 mit einem geringeren Ertrag aufwartet. Allerdings lassen sich auch hier aufgrund der geringen Datentiefe keine statistisch abgesicherten Aussagen treffen.

1.1.3 Agronomische Merkmale (Versuchsjahr 2002)

Im dritten Standjahr wurden nur für die Sorte 'Taubertal' und die Einzelpflanzenselektionen TT-3 und SN-1 Daten erhoben. Im Folgenden sind die Ergebnisse des Versuchsjahres 2002 tabellarisch in Form von Mittelwerten der einzelnen Blöcke ($n = 10$) und über alle Blöcke ($n = 40$) dargestellt. Aufgrund der geringen Datenmenge konnte keine nach statistischen Maßstäben aussagekräftige Auswertung durchgeführt werden.

Pflanzenhöhe

Tabelle 35: Pflanzenhöhe in cm, Blockanlage 2002

	<i>'Taubertal'</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>
Block I	80,3 ± 4,1	78,9 ± 4,9	63,7 ± 5,9
Block II	78,0 ± 5,5	76,2 ± 4,7	72,4 ± 4,0
Block III	68,9 ± 2,5	77,1 ± 6,1	74,1 ± 2,5
Block IV	79,0 ± 4,3	73,9 ± 5,8	66,0 ± 4,1
Mittelwert	76,7 ± 6,1	76,5 ± 5,5	69,0 ± 6,0

'Taubertal' und TT-3 erreichten die gleiche Pflanzenhöhe und waren deutlich höher als SN-1 (Tabelle 35). Im Vergleich zum Versuchsjahr 2001 waren 'Taubertal' und TT-3 etwa 5 cm und SN-1 etwa 8 cm niedriger (vgl. Tabelle 28).

Triebzahl

Tabelle 36: Triebzahl in Triebe/Pfl., Blockanlage 2002

	<i>'Taubertal'</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>
Block I	30,9 ± 6,7	33,0 ± 6,9	27,7 ± 4,4
Block II	35,1 ± 9,0	32,4 ± 6,1	41,7 ± 6,6
Block III	27,4 ± 9,0	37,0 ± 9,7	50,9 ± 7,3
Block IV	37,6 ± 17,5	31,6 ± 6,0	37,3 ± 13,6
Mittelwert	32,8 ± 11,7	33,5 ± 7,4	39,2 ± 11,7

Die Pflanzen der Selektion SN-1 bildeten tendenziell mehr Triebe als die Sorte 'Taubertal' und TT-3, die ähnlich viele Triebe aufwiesen (Tabelle 36). Im Versuchsjahr 2002 entwickelten 'Taubertal' und TT-3 etwa gleich viele Triebe wie im vorherigen Jahr, während die Triebzahl von SN-1 im Vergleich zum Vorjahr zurückging (vgl. Tabelle 29).

Erntehorizont

Der Erntehorizont der Sorte 'Taubertal' und der Herkunft TT-3 erreichte eine Größenordnung von 20 cm. Dagegen wies die Selektion SN-1 wie im Versuchsjahr 2001 einen deutlich schmäleren Erntehorizont als die beiden anderen Herkünfte auf (Tabelle 37). Insgesamt war der Erntehorizont bei allen drei Typen eindeutig breiter als im Vorjahr (vgl. Tabelle 30).

Tabelle 37: Erntehorizont in cm, Blockanlage 2002

	<i>'Taubertal'</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>
Block I	18,8 ± 1,5	19,6 ± 3,2	16,9 ± 2,3
Block II	20,6 ± 2,7	20,5 ± 4,6	14,3 ± 2,7
Block III	20,1 ± 2,6	19,7 ± 5,4	18,0 ± 2,7
Block IV	20,0 ± 3,5	22,7 ± 3,2	16,9 ± 2,9
Mittelwert	19,8 ± 2,6	20,6 ± 4,2	16,5 ± 2,9

Ertrag

Tabelle 38: Frischgewicht und Drogengewicht in g/Pfl., Blockanlage 2002

	<i>Frischgewicht</i>			<i>Drogengewicht</i>		
	<i>'Taubertal'</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>	<i>'Taubertal'</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>
Block I	101,5 ± 30,4	94,9 ± 36,8	58,3 ± 38,9	24,3 ± 8,2	21,9 ± 9,8	12,8 ± 9,4
Block II	145,4 ± 41,8	92,7 ± 17,3	137,1 ± 33,8	35,6 ± 10,8	21,0 ± 4,1	30,9 ± 8,2
Block III	80,7 ± 25,9	105,8 ± 33,8	121,8 ± 33,8	19,2 ± 6,6	23,7 ± 8,9	28,1 ± 8,3
Block IV	107,7 ± 55,9	84,9 ± 23,3	135,7 ± 60,7	24,6 ± 14,0	18,7 ± 5,7	31,9 ± 15,3
Mittelwert	108,6 ± 45,2	94,6 ± 28,8	112,4 ± 52,9	25,8 ± 11,6	21,3 ± 7,4	25,7 ± 12,9

In Anbetracht der hohen Standardabweichungen ist der Frisch- bzw. Drogengewichtertrag der drei untersuchten Herkünfte sinnvollerweise als gleich hoch einzuordnen (Tabelle 38). Dadurch ergibt sich im Vergleich der drei Herkünfte die selbe Situation wie im Vorjahr. Allerdings kann ein Ertragsrückgang verzeichnet werden, der bei 'Taubertal' und TT-3 etwa ein Drittel und bei SN-1 etwa ein Viertel gegenüber dem Vorjahr beträgt (vgl. Tabelle 31).

Die Eintrocknungsverhältnisse der drei untersuchten Herkünfte berechnet aus den Mittelwerten für Frischgewicht und Drogengewicht liegen zwar in einer vergleichbaren Größenordnung (Tabelle 39). Sie liegen aber deutlich höher als im Vorjahr (vgl. Tabelle 33).

Tabelle 39: Eintrocknungsverhältnis, Blockanlage 2002

	<i>'Taubertal'</i>	<i>TT-3</i>	<i>SN-1</i>
Mittelwert	4,21 : 1	4,44 : 1	4,37 : 1

1.2 Zweisatzgitter

1.2.1 Pflanzenentwicklung

Im ersten Jahr entwickelten sich die Pflanzen zunächst auf beiden Versuchsflächen normal. Allerdings traten im Juni 2001 bereits erste Symptome der Johanniskrautwelke auf. Begünstigt durch die heiße und trockene Witterung in den letzten beiden Juliwochen waren je nach individueller Anfälligkeit der einzelnen Herkünfte zahlreiche Verluste bis hin zum Totalausfall zu verzeichnen.

Aufgrund der lückenhaften Datenstruktur ist eine statistische Auswertung für die beiden Zweisatzgitter nicht möglich. Deshalb werden die Herkünfte auf der Basis von Mittelwerten über alle Parzellen verglichen. Da die Ausfälle am Standort Gemüsebau noch deutlich höher waren als auf dem Versuchsfeld Zierpflanzenbau, wurde auf eine Darstellung der Daten dieses Standortes, mit Ausnahme der Ausfälle durch *Colletotrichum cf. gloeosporioides*, vollständig verzichtet.

Im Frühjahr des zweiten Standjahres (2002) schien sich die Situation zunächst aufgrund einer guten vegetativen Entwicklung der verbliebenen Pflanzen zu entspannen. Mit dem Übergang in die generative Phase und der einhergehenden wärmeren und trockeneren Witterung waren jedoch auf beiden Versuchsfeldern weitere Ausfälle zu beobachten, so dass das Feld am Standort Gemüsebau im Mai 2002 aufgegeben werden mußte. Trotz einer besseren Ausgangslage auf dem Versuchsfeld Zierpflanzenbau, starben je nach Anfälligkeit der verschiedenen Herkünften besonders während der Blütezeit viele weitere Pflanzen ab. Deshalb konnten im Sommer 2002 nur noch wenige aussagekräftige Daten gewonnen werden.

1.2.2 Agronomische Merkmale (Versuchsjahre 2001 und 2002)

Im Pflanzjahr 2001 wurden zahlreiche agronomische Merkmale durch Zählungen, Messungen und Bonituren erfasst. Die Tabelle 78 im Anhang unter VIII 3.2 gibt die gewonnenen Daten in verdichteter Form wieder. Die angegebene Anzahl an Messungen gilt im Falle der Triebe nur bei Vorhandensein aller Versuchspflanzen. Alle Messungen und Bonituren wurden auf dem Versuchsfeld Zierpflanzenbau durchgeführt. Die Anzahl der Ausfälle durch *Colletotrichum cf. gloeosporioides* im ersten Standjahr wurde für beide Versuchsfelder zu Beginn der zweiten Vegetationsperiode festgehalten. Wichtige Minimum- und Maximumwerte, sowie Ausfälle von 50 % und mehr sind fett hervorgehoben.

Die erfassten Merkmale zeigen in ihrer Ausprägung eine sehr breite Variabilität. Zur Verdeutlichung sind in Tabelle 40 die Eckdaten Minimum, Mittelwert und Maximum aus den 64 Genotypen zusammengefasst und den Werten für die Standardsorte 'Taubertal' gegenüber gestellt.

Tabelle 40: Eckdaten zu den agronomischen Merkmalen ($n = 64$), Zweisatzgitter

Einheit	vegetative Merkmale			generative Merkmale					Ausfälle <i>C. gloeosporioides</i>			
	Triebe	liegend	Standfestigkeit	Blühbeginn	Blütengröße	Blütengewicht	Hypericinpunkte	Blühbeginn	Juli 2001		Mai 2002	
	Anzahl/Pfl.	%	Note	2001	mm	mg/Blüte	Note	2002	Zier.	Gem.	Zier.	Gem.
Messungen an	($n = 20$) Pflanzen		($n = 4$) Sätze	($n = 4$) Sätze	($n = 10$) Blüten	($n = 2$) 10 Blüten	($n = 1$) 10 Blüten	($n = 1-4$) Sätze	($n = 28$) Pflanzen	($n = 28$) Pflanzen	($n = 28$) Pflanzen	($n = 28$) Pflanzen
Min	10,2 ± 3,5	0,5	1,0 ± 0,0	63,5 ± 0,6	24,7	6,4	1	38,3 ± 0,5	0	0	0	0
\bar{x} ($n = 64$)	16,5	29,5	4,0	79,7	28,0	9,3	4,6	43,2	2,1	4,0	5,4	11,5
Max	28,9 ± 7,4	68,1	8,5 ± 1,0	93,8 ± 6,2 ¹	35,0	14,7	9	48,0 ± 0,0	20	27	25	28
'Taubertal'	19,2 ± 4,6	35,0	2,0 ± 2,0	75,8 ± 4,8	27,3	10,6	6	38,3 ± 0,5	0	0	0	0

¹ bzw. Herkunft AS-9, die nicht zur Blüte kam.

vegetative Merkmale

Bei der Anzahl der Triebe erreichte die Herkunft PM-6 mit 28,9 nahezu das Dreifache des kleinsten Wertes von 10,2 bei H-2. Die Sorte 'Taubertal' lag mit 19,2 Trieben über dem Mittelwert aller Genotypen von 16,5 Trieben pro Pflanze. Der Anteil liegender Triebe reichte von 0,5 % (AS-2) bis 68,1 % (AS-16). Etwa ein Drittel der Triebe von 'Taubertal' wurden als liegend bewertet, wodurch die Sorte schlechter als der Durchschnitt aller Genotypen abschnitt. Dasselbe gilt für die Bonitur der Standfestigkeit. Die Variabilität des Merkmals erstreckte sich von 1,0 (AS-6 und AS-16) bis 8,5 (P-2) über alle möglichen Ausprägungsstufen.

generative Merkmale

Im ersten Standjahr konnten innerhalb der geprüften 64 Herkünfte gravierende Unterschiede im Blühbeginn festgestellt werden. So blühte AS-4 als früheste Herkunft bereits neun Wochen (63,5 Tage) nach Pflanzung, während der Durchschnitt bei 79,7 Tagen und damit zwei Wochen später lag. Wiederum zwei Wochen später blühte NA-6 als letzte Herkunft auf. AS-9 kam im ersten Jahr gar nicht zur Blüte. Die Sorte 'Taubertal' blühte etwa 4 Tage früher als der Durchschnitt aller Herkünfte.

Die Blütengröße variiert zwischen 24,7 mm (PM-10) und 35,0 mm (BT-2). Die Blüten von 'Taubertal' haben mit 27,3 mm einen etwas kleineren Durchmesser als das Versuchsmittel (28,0 mm). Ähnlich große Unterschiede zeigen sich beim Trockengewicht der Blüten. Hier ist der größte Wert von 14,7 mg/Blüte (BT-2) mehr als das Doppelte des kleinsten Wertes, der bei AS-33 nur 6,4 mg/Blüte erreicht. 'Taubertal' liegt dabei mit 10,6 mg/Blüte deutlich über dem Mittelwert von 9,3 mg/Blüte.

Bei der Bonitur der Hypericinbehälter auf den Petalen wurde 16 mal die Note 1 vergeben, die Note 9 für sehr viele Behälter hingegen nur in 2 Fällen (AS-2 und H-4). Der Mittelwert über alle Herkünfte erreichte dennoch 4,6 Bewertungseinheiten. Einen deutlich höheren Wert konnte die Sorte 'Taubertal' mit der Note 6 erreichen.

Das Merkmal Blühbeginn zeigte im zweiten Standjahr eine deutlich geringere Variabilität als im ersten Versuchsjahr. Als früheste Herkunft blühte die Sorte 'Taubertal' bezogen auf den 3. Mai 2002 nach 38,3 Tagen. Bereits zehn Tage später blühte als letzte der geprüften 64 Herkünfte die Selektion AS-32 (48,0 Tage) auf. Das Versuchsmittel lag mit 43,2 Tagen genau zwischen den Herkünften mit der frühesten und der spätesten Büte. Von insgesamt elf Herkünften konnten aufgrund des starken Befalls mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* keine Daten zum Blühbeginn gewonnen werden.

Ausfälle durch *Colletotrichum cf. gloeosporioides*

Bereits im dritten Monat nach der Pflanzung waren die ersten Ausfälle in Folge von Infektionen mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* zu verzeichnen. Obwohl auf beiden Versuchsfeldern zahlreiche Herkünfte gesund blieben, waren auf dem Feld Zierpflanzenbau durchschnittlich 2,1 Pflanzen und auf dem Feld Gemüsebau bereits 4,0 Pflanzen je Herkunft abgestorben. Besonders stark betroffen waren dabei die Herkünfte AS-6, AS-19 und AS-14, bei denen nach drei Monaten nur noch einzelne Pflanzen überlebten.

Nach einer Standzeit von etwa einem Jahr mussten auf beiden Versuchsfeldern gravierende Pflanzenverluste hingenommen werden. Bei sechs Herkünften, darunter 'Taubertal', waren zwar keine Ausfälle zu verzeichnen, bei AS-14 mit 25 Ausfällen starben jedoch beinahe alle Pflanzen auf der Versuchsfeld Zierpflanzenbau ab. Während hier im Durchschnitt 5,4 Pflanzen je Herkunft eingingen, fielen auf der Fläche Gemüsebau mit 11,5 von 28 Pflanzen mehr als doppelt so viele wie auf dem Feld Zierpflanzenbau der Johanniskrautwelke zum Opfer. Die Herkunft AS-14 zeigte einen Totalausfall. Lediglich PM-4 und 'Taubertal' überstanden das erste Standjahr unbeschadet.

1.3 Versuchsanbau unter Praxisbedingungen

Entwicklung im ersten Standjahr

Aufgrund einer Schlechtwetterperiode im Mai 2001 konnte die Pflanzung erst am 19. Mai und damit relativ spät erfolgen. Da die Jungpflanzen bereits Anfang Mai angeliefert wurden, waren sie zu diesem Zeitpunkt bereits etwas überständig.

Nach der Pflanzung waren die Wachstumsbedingungen ideal und der Bestand entwickelte sich gut, allerdings führte die Trockenheit des Sommers zu Wachstumsstockungen. Infolgedessen wurden im ersten Standjahr zwar einzelne Blüten gebildet, die jedoch keinen agronomisch relevanten Ertrag lieferten.

Die Herbstpflanzung der Selektion SN-1 und der Sorte 'Taubertal' konnte im September bei günstigen Bedingungen durchgeführt werden.

Entwicklung im zweiten Standjahr

Sowohl die Pflanzen aus der Frühjahrspflanzung als auch die aus der Herbstpflanzung konnten im Verlauf des Winters sehr gut für die neue Vegetationsperiode bestocken. Ende Mai trat ein so massiver Befall durch die verschiedenen Johanniskrautkäfer (*Chrysolina spec.* vgl. III 1) und Johanniskrautblattwespen auf, dass eine Insektizidbehandlung erforderlich wurde.

Der Bestand von SN-1 aus der Frühjahrspflanzung hatte sich bis zur Feldbegehung Anfang Juni 2002 gut entwickelt. Er zeichnete sich durch eine sehr hohe Homogenität aus. Aufgrund der praxisüblichen Stickstoffdüngung war der Bestand deutlich höher als die Versuchspflanzungen am Standort Weihenstephan (vgl. Tabelle 41). Der Bestand blühte relativ gleichmäßig vom 16. bis 18. Juni auf. Der Blühhorizont wurde als einheitliche und deutlich abgegrenzte Zone ausgebildet (vgl. Abbildung 14). Die Ernte erfolgte vom 26. bis 28. Juni 2002.



Abbildung 14: Feldbestand der Frühjahrspflanzung von SN-1 zur Ernte: Blühhorizont

Im Bestand ließen sich Stellen mit Befall durch *Colletotrichum cf. gloeosporioides* im fortgeschrittenen Stadium ausmachen. Während die Pflanzen im Zentrum der meist kreisförmigen Zonen bereits abgestorben waren, zeigten die Pflanzen am Rand der Zonen nur eine hellere Grünfärbung und eine leichte, aber erkennbare Wuchsdepression (vgl. Abbildung 15). Diese Pflanzen lagen in der Ausbreitungszone der Johanniskrautwelke und waren bereits mit der Pilzkrankheit infiziert.

Die Pflanzen der Selektion SN-1, die aus der Herbstpflanzung stammen, hatten sich ebenfalls gut entwickelt, erreichten aber bei weitem nicht die Qualität und Masse des Bestandes aus der Frühjahrspflanzung (siehe Tabelle 41). Auch in diesem Bestand waren einige Pflanzen beider Herkünfte mit der Johanniskrautwelke infiziert und abgestorben.

Tabelle 41: Pflanzenhöhe in cm und Triebzahl am 7. Juni 2002 ($n = 24$), Anbauversuch

	<i>SN-1 Frühjahr</i>	<i>SN-1 Herbst</i>	<i>'Taubertal' Herbst</i>
Pflanzenhöhe/cm	84,0 ± 2,3	40,4 ± 3,4	46,0 ± 5,7
Triebzahl/Pfl.	50,1 ± 8,8	14,0 ± 2,3	5,5 ± 2,2

Die Herbstpflanzung der Sorte 'Taubertal' hatte sich auch nur schwach entwickelt. Im Vergleich zur Herbstpflanzung der Selektion SN-1 waren die Pflanzen zwar etwas höher, zeigten aber gleichzeitig eine wesentlich geringere Bestockung (vgl. Tabelle 41). Bei 'Taubertal' waren noch keine Ausfälle durch Befall mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* zu verzeichnen.



Abbildung 15: Feldbestand der Frühjahrspflanzung von SN-1 zur Ernte: Johanniskrautwelke

Die Inhaltsstoffanalyse wurde von der STEIGERWALD ARZNEIMITTEL GMBH, Darmstadt durchgeführt. Die Droge enthielt 7,69 % Gesamtflavonoide, 0,37 % Gesamthypericine und 1,19 % Hyperforine. Die Drogenqualität entsprach in allen Anforderungen der Monographie HYPERICI HERBA nach PH. EUR. (2005), enthielt jedoch kein Rutin.

1.4 Linienanlage

1.4.1 Pflanzenentwicklung

Obwohl sich die Pflanzen unter günstigen Bedingungen entwickeln konnten, zeigten sich bald die ersten Infektionen mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides*. Bereits nach wenigen Wochen fielen sämtliche Pflanzen der Herkunft MB-DS der Krankheit zum Opfer. Auch die Herkünfte AS-L, AS-M, AS-N und AS-O erwiesen sich nach einer zunächst guten vegetativen Entwicklung als anfällig für die Johanniskrautwelke und kamen mit Ausnahme von AS-O nicht mehr zur Blüte. Die Herkünfte MB-B, MB-CS und MB-H zeigten ebenfalls eine hohe Ausfallrate.

Die Herkünfte GZ-6, GZ-8, GZ-9 sowie die Einzelpflanzenselektionen H-2a, AS-6a, AS-8a, AS-8b und PM-17a entwickelten inhomogene Bestände. Deshalb konnten hier nur Daten mit beschränkter Aussagekraft gewonnen werden.

1.4.2 Agronomische Merkmale (Versuchsjahr 2002)

In Tabelle 80, die sich im Anhang unter VIII 4.2 befindet, sind die Ergebnisse der einzelnen Parzellen der Linienanlage im ersten Standjahr zusammengefasst. Da das Projekt im April 2002 endete, konnten die Pflanzen in ihrem zweiten Standjahr nicht mehr bewertet werden.

Zur Verdeutlichung der vorgefundenen Variabilität wurden das Minimum, der Mittelwert und das Maximum der angebauten Herkünfte ermittelt. Zur Berechnung des Mittelwertes werden bei Herkünften mit zwei Wiederholungen ebenfalls deren Mittelwert herangezogen. In der folgenden Tabelle 42 sind die charakteristischen Eckdaten der geprüften Herkünfte den Mittelwerten der beiden Standards 'Taubertal' und SN-1 gegenübergestellt.

Tabelle 42: Eckdaten zu den agronomischen Merkmalen ($n = 44$), Linienanlage

Einheit Messung an	<i>vegetative Merkmale</i>					<i>generative Merkmale</i>				
	<i>Höhe</i>	<i>Triebe</i>	<i>liegend</i>	<i>Standfestigkeit</i>	<i>Ausfälle</i>	<i>Blühbeginn</i>	<i>Blühhorizont</i>	<i>Blütengröße</i>	<i>Blütengewicht</i>	<i>Hypericinpunkte</i>
	cm	Anzahl/Pfl.	%	Note	Anzahl	Tage	Note	mm	mg/Blüte	Note
	7 Pflanzen	7 Pflanzen		Parzelle	Parzelle	Parzelle	Parzelle	10 Blüten	50 Blüten	10 Blüten
Min	29,0 ± 4,9	2,6 ± 0,5	0,0	1	0	49	1	25,0	6,2	1
\bar{x} ($n = 44$)	38,0	13,1	27,2	5,8	1,3	69,6	5,1	30,8	8,8	5,4
Max	51,5 ± 5,1	25,3 ± 11,3	74,5	9	7	87	9	36,0	12,8	9
SN-1 ($n = 14$)	36,1 ± 2,7	15,5 ± 2,9	1,9	6,9	0,2	75,1 ± 4,9	6,7	24,8	6,5 ± 0,4	5,9
'Taubertal' ($n = 14$)	37,0 ± 2,8	16,4 ± 3,1	58,7	4,6	0,2	65,7 ± 2,8	3,4	25,1	8,3 ± 0,4	5,9

vegetative Merkmale

Die Bestandshöhe erreichte im Pflanzjahr ein Maximum von 51,5 cm (FS-6). Durchschnittlich wurden die Herkünfte 38,0 cm hoch und auch die Standards 'Taubertal' und SN-1 bewegten sich in dieser Größenordnung. Der Wert von 29,0 cm bei PM-15a repräsentiert die untere Grenze der gefundenen Variabilität. Die Anzahl der Triebe zeigte eine starke Streubreite zwischen 2,6 (NF-1) und 25,3 (PF-3) Trieben pro Pflanze. Die beiden Standards bildeten mehr Triebe als der Durchschnitt aller Herkünfte (13,1 Triebe/Pfl.). Beim Anteil liegender Triebe wurde ein großer Unterschied zwischen 'Taubertal' (58,7 %) und SN-1 (1,9 %) deutlich. Obwohl einige Herkünfte keine liegenden Triebe aufwiesen, lag der Mittelwert bei 27,2 % und das Maximum bei 74,5 % (MB-H).

Das Merkmal Standfestigkeit trat bei einem Mittelwert von 5,8 in allen möglichen Ausprägungsstufen in Erscheinung, wobei die Selektion SN-1 mit 6,9 deutlich besser bewertet wurde als 'Taubertal' mit 4,6. Die Zahl der Ausfälle variierte im Verlauf des ersten Standjahres von keinem Ausfall bei einigen Herkünften bis hin zum baldigen Totalausfall bei MB-DS. Durchschnittlich fielen 1,3 Pflanzen pro Parzelle der Johanniskrautwelke zum Opfer, während die Ausfälle bei den Standards auf 0,2 Pflanzen pro Parzelle beziffert werden konnten.

generative Merkmale

Bezüglich des Blühbeginns im ersten Pflanzjahr konnten deutliche Unterschiede beobachtet werden. Als erste Herkunft kam GZ-10 bereits 49 Tage nach Pflanzung zur Blüte. Während 'Taubertal' (65,7 Tage) schon vier Tage vor dem Mittelwert der Herkünfte (69,6 Tage) blühte, setzte die Blühperiode bei SN-1 mit 75,1 Tagen nach Pflanzung erst fünf Tage später ein. Mit GZ-4 begann nach 87 Tagen auch die letzte Herkunft zu blühen, so dass für alle Herkünfte eine Blüte im ersten Standjahr zu verzeichnen war. Die Variabilität des Merkmals Blühhorizont erstreckte sich um einen Mittelwert von 5,1 über alle möglichen Ausprägungsstufen. Dabei wurde SN-1 (6,7) deutlich besser bewertet als 'Taubertal' (3,4).

Die größten Blüten mit einem Durchmesser von 36,0 mm bildete die Herkunft FS-5. Der Mittelwert der Herkünfte erreichte einen Blütendurchmesser von 30,8 mm. Die beiden Standards zeichneten sich durch vergleichsweise kleine Blüten aus, die mit Durchmessern von 24,8 mm (SN-1) und 25,1 mm ('Taubertal') um das Minimum von 25,0 mm (PM-10) angesiedelt waren. Bezüglich des Blütengewichtes erreichte die Herkunft FS-5 mit 12,8 mg/Blüte mehr als den doppelten Wert der Herkünfte MB-AS und AS-28, die mit 6,2 mg/Blüte das geringste Blütengewicht aufwiesen. Der Standard SN-1 lag mit einem Blütengewicht von 6,5 mg nur wenig über diesem Minimum, während 'Taubertal' mit 8,3 mg/Blüte schon fast an den Mittelwert der untersuchten Herkünfte heranreichte, der bei 8,8 mg/Blüte lag. Bei der Bonitur der Hypericinbehälter auf den Petalen wurden fünf Herkünfte mit der Höchstnote 9 bewertet. Die Note 1 für wenige Behälter nur am Petalenrand wurde sechs mal vergeben. Die Standards 'Taubertal' und SN-1 lagen mit ihrer gemittelten Boniturnote von 5,9 leicht über dem Mittelwert der restlichen Herkünfte, der bei einer Boniturnote von 5,4 lag.

2. Optimierung der Inhaltsstoffanalytik

2.1 Aufbereitungsgrad und Extraktionsdauer

In den folgenden Darstellungen ist das Extraktionsverhalten von Rohdroge und pulverisierter Droge für die einzelnen Inhaltsstoffe wiedergegeben. Der Vergleich der unterschiedlichen Aufbereitungsstufen erfolgt auf Basis der HPLC-Absorptionseinheiten ohne Quantifizierung der Inhaltsstoffe. Generell zeigen die Messwerte für die Extraktion aus Rohdroge eine deutlich größere Standardabweichung als die Werte für die pulverisierte Droge.

Für Hyperosid+Isoquercitrin ist bei der Extraktion von pulverisierter Droge ein rascher Anstieg bis 12 Stunden mit einer anschließenden Abnahme zu beobachten (vgl. Abbildung 16). Aus der Rohdroge kann Hyperosid+Isoquercitrin wesentlich langsamer extrahiert werden. Nach 192 Stunden stellt sich die stationäre Phase auf einem Niveau ein, das nicht ganz an den Gehalt der pulverisierten Droge heranreicht.

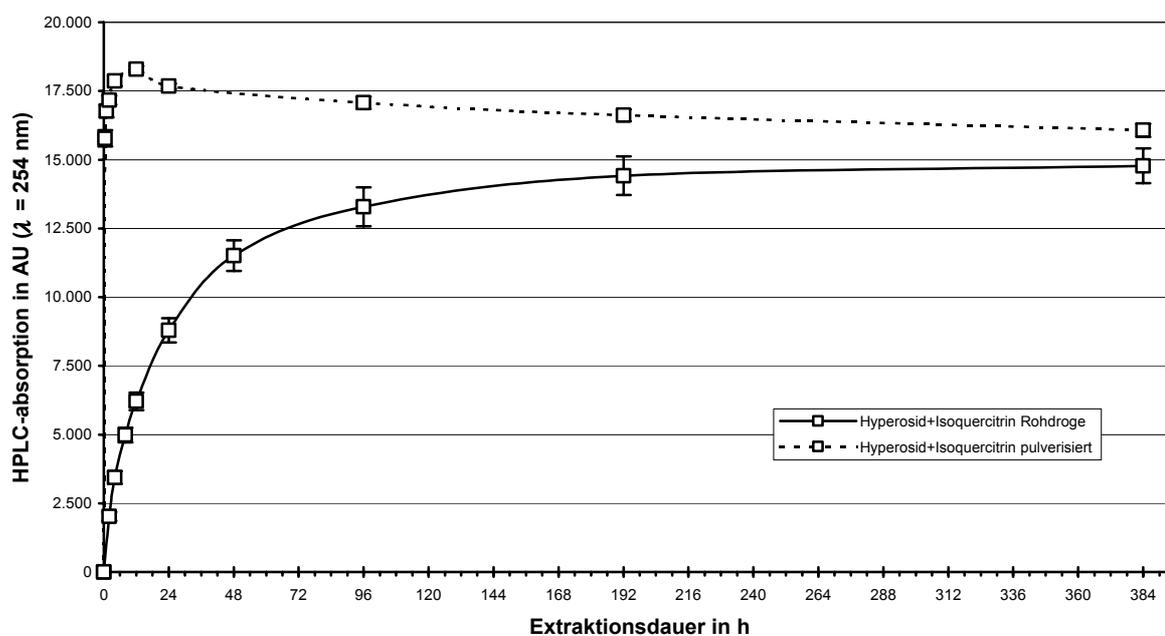


Abbildung 16: Kinetik von Hyperosid+Isoquercitrin, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)

Bei den Quercetinglykosiden Rutin und Quercitrin (Abbildung 17) ist eine vergleichbare Entwicklung wie bei Hyperosid+Isoquercitrin zu beobachten. Aus der Rohdroge lösen sich die Glykoside wesentlich langsamer als aus der pulverisierten Droge. Da die Gehalte aus der pulverisierten Droge jedoch langsam abfallen, werden nach 384 Stunden annähernd gleiche Mengen an Rutin und Quercitrin gemessen.

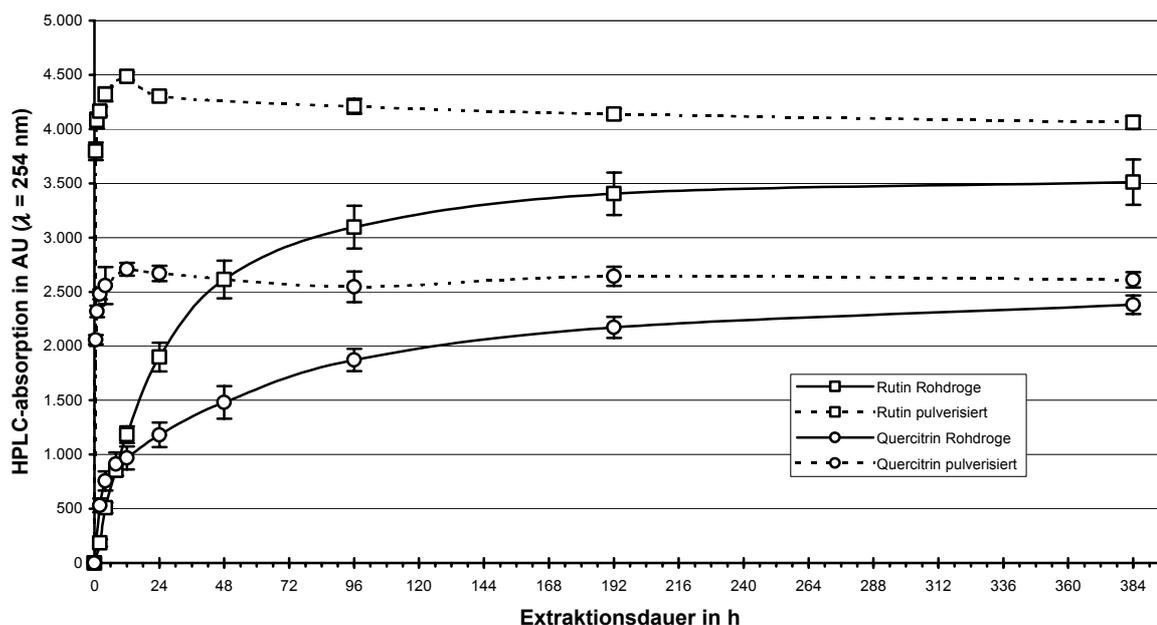


Abbildung 17: Kinetik von Rutin und Quercitrin, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)

Quercetin und Biapigenin zeigen ein Lösungsverhalten (vgl. Abbildung 18) aus der Rohdroge und pulverisierten Droge, das mit dem der Flavonoidglykoside vergleichbar ist. Die Art der Probenaufbereitung führt allerdings zu gravierenden Unterschieden in den maximal erreichten Gehalten. Während die Konzentration von Biapigenin aus der Rohdroge auch nach 384 Stunden weit hinter der pulverisierten Droge zurückbleibt, liegt die Konzentration von Quercetin aus der Rohdroge bereits nach 96 Stunden deutlich über der Konzentration aus der pulverisierten Droge.

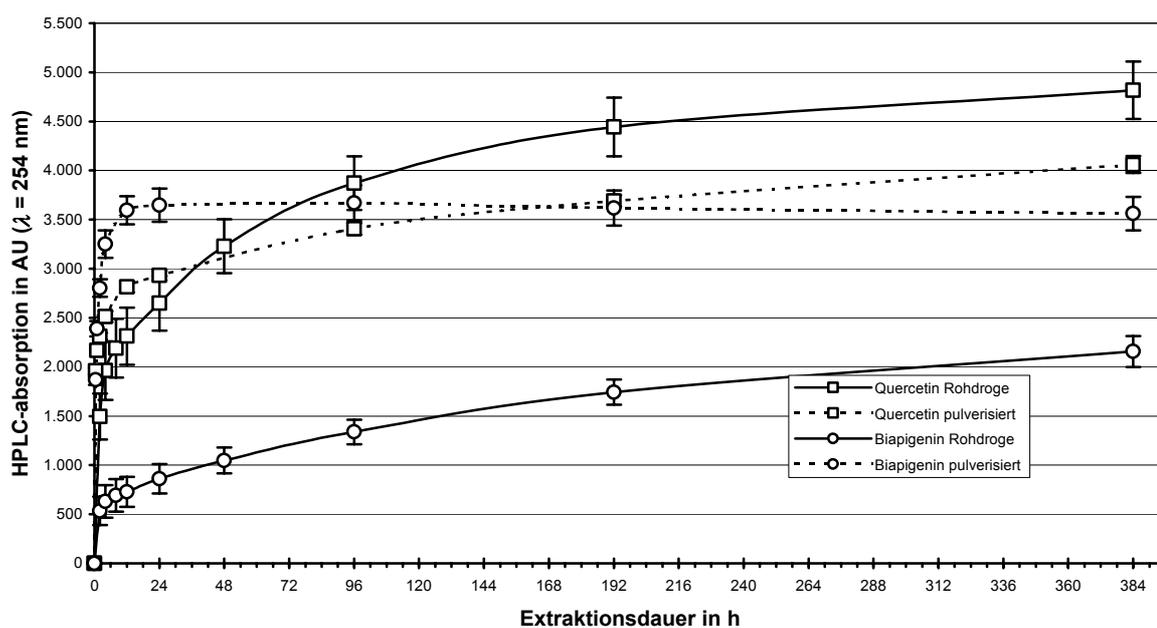


Abbildung 18: Kinetik von Quercetin und Biapigenin, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)

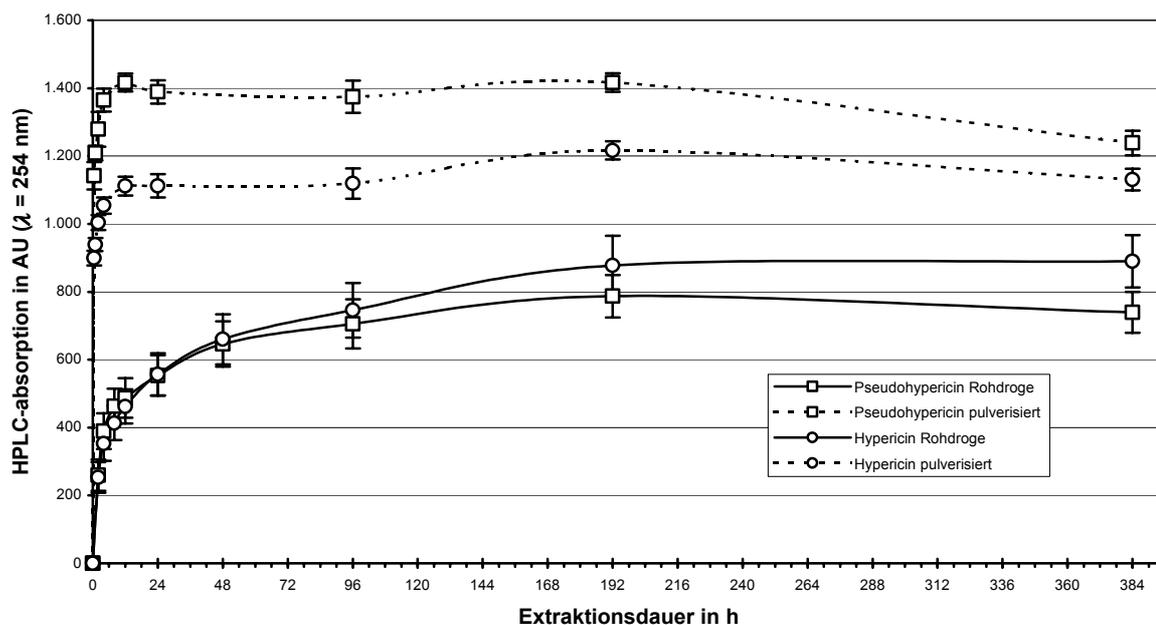


Abbildung 19: Kinetik der Naphthodianthrone, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)

Pseudohypericin und Hypericin werden bereits nach 12 Stunden in maximaler Konzentration aus der pulverisierten Droge gelöst (Abbildung 19). Im Anschluss erfolgt ein tendenzieller Rückgang, der durch leicht erhöhte Werte nach 192 Stunden Extraktion unterbrochen wird. Aus der Rohdroge lösen sich die Naphthodianthrone wesentlich langsamer. Ihr Gehalt erreicht nach 192 Stunden ein Maximum, das deutlich unter dem der pulverisierten Droge zurückbleibt.

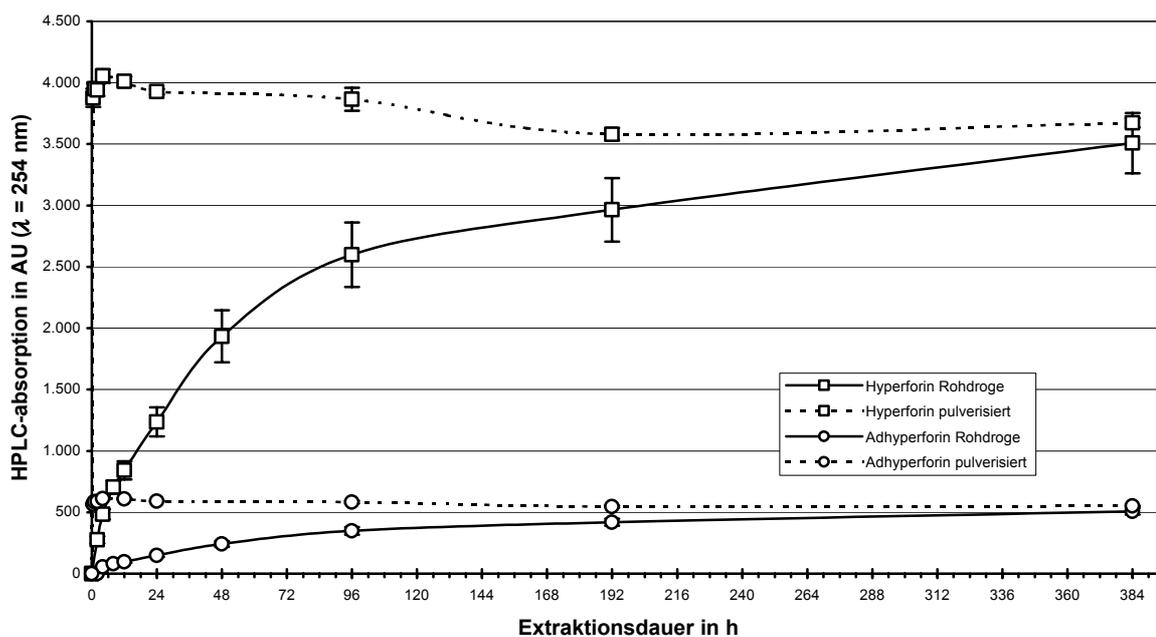


Abbildung 20: Kinetik der Phloroglucinderivate, pulverisierte Droge und Rohdroge ($n = 5$)

Die Phloroglucinderivate lassen sich sehr rasch aus der pulverisierten Droge lösen und erreichen schon nach 4 Stunden ihre maximale Konzentration, um dann deutlich zurückzugehen. Bei der Extraktion aus Rohdroge zeigt sich eine langsamere Zunahme der Konzentration, die jedoch nach 384 Stunden an die abfallenden Gehalte aus der pulverisierten Droge heranreicht.

2.2 Verhältnis von Einwaage zu Extraktionsmittelvolumen

Folgende Abbildungen geben das Extraktionsverhalten der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe von Johanniskraut bei unterschiedlichem Verhältnis von Einwaage zu Lösungsmittel wieder. Alle Daten fanden als HPLC-AU Eingang in die Darstellung. Zu jeder Substanz ist eine Regressionsgerade mit dem dazugehörigen Bestimmtheitsmaß R^2 angegeben.

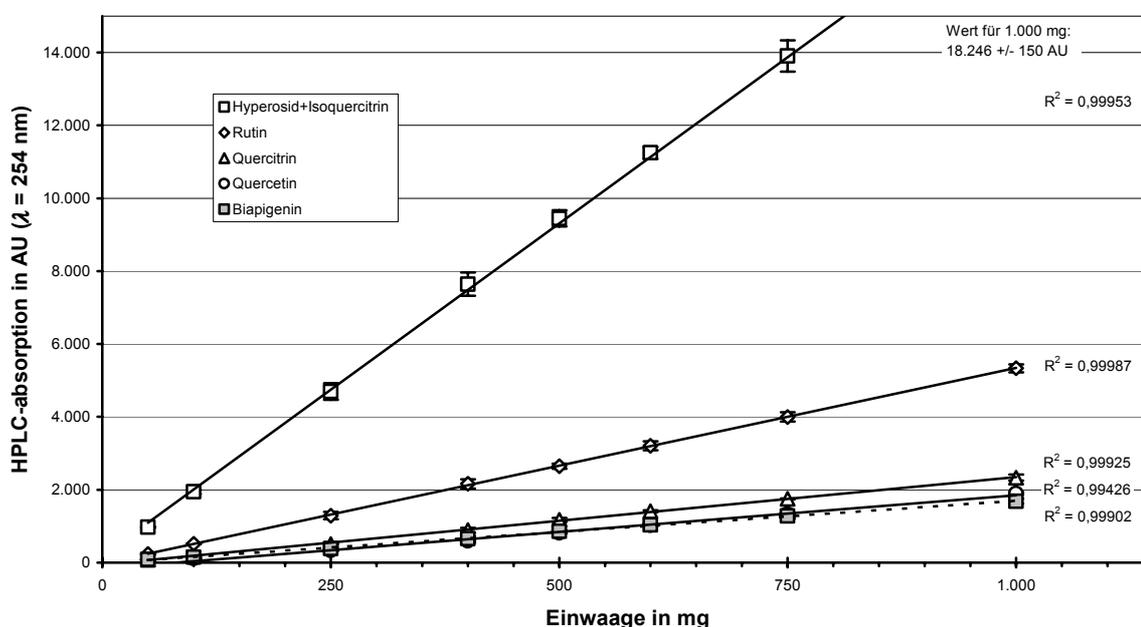


Abbildung 21: Kinetik Einwaage/Lösungsmittel, Flavonoide ($n = 5$)

Sowohl die Quercetinglykoside als auch Quercetin und Biapigenin zeigen über den gesamten Bereich von 50 bis 1.000 mg Drogeneinwaage bei einer konstanten Lösungsmittelmenge von 50 ml Methanol 80 % einen starken linearen Zusammenhang, der durch die hohen Werte für das Bestimmtheitsmaß (R^2) belegt wird (siehe Abbildung 21).

Für die Protoformen der Naphthodianthrone ist ein deutlicher linearer Zusammenhang zwischen Einwaage und Messwert erkennbar (vgl. Abbildung 22); jedoch überschreitet ihre Konzentration erst bei einer Einwaage von mindestens 400 mg Droge die Nachweisgrenze.

Für Pseudohypericin und Hypericin kann ebenfalls eine lineare Zunahme der gemessenen Gehalte mit steigender Einwaage festgestellt werden. Allerdings weichen die Messwerte für

50 und 1.000 mg Droge bereits deutlich von der Regressionsgeraden ab. Das Bestimmtheitsmaß (R^2) ist etwas geringer als bei den restlichen pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen.

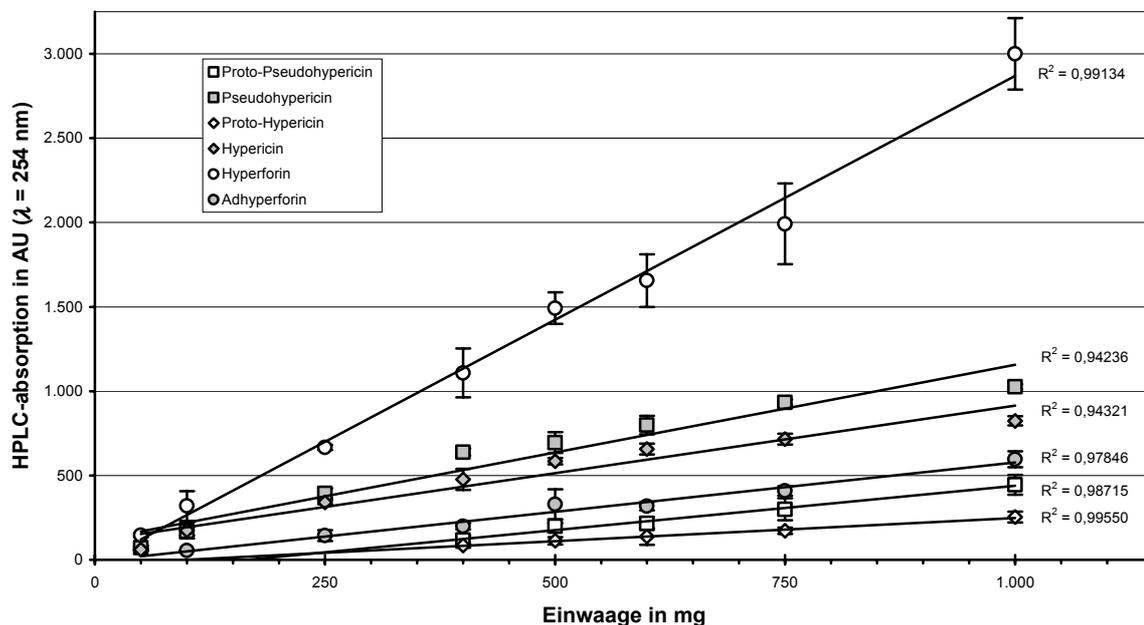


Abbildung 22: Kinetik Einwaage/Lösungsmittel, Hypericine und Hyperforine ($n = 5$)

Bei den Phloroglucinderivaten Hyperforin und Adhyperforin ist trotz deutlich stärkerer Schwankungen in den Messwerten ein starker linearer Zusammenhang zwischen Einwaage und Messwerten, ausgedrückt durch ein hohes Bestimmtheitsmaß R^2 , festzustellen. Adhyperforin kann erst ab einer Konzentration von 100 mg Droge pro 50 ml Methanol 80 % nachgewiesen werden.

3. Pharmakologisch relevante Inhaltsstoffe

Mit der Analyse der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe wurden bei den Feldversuchen ganz verschiedene Ziele verfolgt. Bei der Blockanlage stand die statistische Erfassung agronomischer und morphologischer Merkmale im Vordergrund. Aus diesem Grund wurden im zweiten Standjahr nur die drei Herkünfte 'Taubertal', SN-1 und M. Bauer auf ihre Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen untersucht, dafür aber zahlreiche Einzelpflanzen beerntet, um Daten zur Variabilität der Gehalte innerhalb von Herkünften zu gewinnen. Im dritten Standjahr wurden aus der Blockanlage zahlreiche Proben für die Versuchsreihen zur Untersuchung der Ertragsphysiologie von Johanniskraut geerntet.

Bei der Inhaltsstoffanalyse der Drogen- und Blütenproben des Zweisatzgitters stand ebenso wie bei der Erfassung der morphologischen und agronomischen Merkmale die Aufklärung der Variabilität zwischen verschiedenen Herkünften im Mittelpunkt. Auch bei den Herkünften der Linienanlage wurden die morphologischen und agronomischen Merkmale im Vergleich zu Standardsorten erfasst. Zusätzlich zur Analyse von Blütenproben wurden Drogenproben und Blütenproben N₂ geerntet, um die unterschiedlichen Formen der Beprobung miteinander zu vergleichen (zur Art der Proben vgl. II 4.2, Tabelle 17). Die Analyse der Droge aus dem Versuchsanbau unter Praxisbedingungen wurde von der STEIGERWALD ARZNEIMITTEL GMBH, Darmstadt übernommen. Die Ergebnisse finden sich unter III 1.3.

Aus den einzelnen Versuchen wurden folgende Proben geerntet, extrahiert und HPLC-Analysen bezüglich der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen durchgeführt:

Blockanlage:	2001	Drogenproben
	2002	Untersuchungen zur Physiologie der Ertragsbildung
Zweisatzgitter:	2001	Drogenproben
	2002	Blütenproben
Linienanlage:	2002	Drogenproben
		Blütenproben
		Blütenproben N ₂

3.1 Blockanlage

Im zweiten Standjahr der Blockanlage wurden die sautgutvermehrte Sorte 'Taubertal', die Selektion SN-1 aus *in-vitro*-Vermehrung und die heterogene sautgutvermehrte Herkunft M. Bauer für die Analyse der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe ausgewählt. Dazu wurden 'Taubertal' und SN-1 ohne die Randpflanzen und die Herkunft M. Bauer einschließlich der Randpflanzen beerntet und die Drogenproben jeder einzelnen Pflanze separat extrahiert und analysiert.

3.1.1 Ergebnisse der Inhaltsstoffanalysen

Tabelle 43 zeigt die Inhaltsstoffgehalte von Drogenproben der Sorte 'Taubertal' als Mittelwerte mit Standardabweichungen für die vier Blöcke und für das ganze Versuchsfeld. Pro Block gehen zehn Einzelpflanzenanalysen in die Berechnung ein.

Tabelle 43: Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben von 'Taubertal' ($n = 39$)¹, Blockanlage 2001

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
Block I	12,3 ± 0,6	31,5 ± 1,3	2,5 ± 0,3	2,0 ± 0,3	2,6 ± 0,2	0,3 ± 0,2	2,9 ± 0,3	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1	6,4 ± 1,3	1,6 ± 0,2
Block II	12,3 ± 0,4	31,5 ± 1,0	2,4 ± 0,2	1,8 ± 0,2	2,5 ± 0,2	0,0	2,9 ± 0,2	0,0	0,9 ± 0,1	3,6 ± 1,1	1,1 ± 0,2
Block III	12,5 ± 1,0	30,6 ± 2,6	2,4 ± 0,4	1,7 ± 0,2	2,4 ± 0,3	0,4 ± 0,1	2,7 ± 0,4	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,1	9,6 ± 1,1	2,1 ± 0,2
Block IV	12,2 ± 0,8	28,8 ± 1,9	2,4 ± 0,3	1,8 ± 0,2	2,6 ± 0,3	0,4 ± 0,1	2,7 ± 0,4	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,1	6,8 ± 0,7	1,8 ± 0,2
\bar{x}	12,3 ± 0,7	30,6 ± 2,1	2,5 ± 0,3	1,8 ± 0,3	2,5 ± 0,3	0,3 ± 0,2	2,8 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,9 ± 0,1	6,7 ± 2,4	1,7 ± 0,4

¹Eine Pflanze (Block II, Pflanze 12) ist ausgefallen.

Generell kann die Aussage getroffen werden, dass die Mittelwerte der einzelnen Blöcke gut übereinstimmen. Die niedrigen Werte für Protopseudohypericin und Protohypericin sowie für Hyperforin und Adhyperforin in Block II gehen auf eine unbeabsichtigte Lichtexposition der Proben zurück. Auch die Daten der Selektion SN-1, die in Tabelle 44 dargestellt sind, weisen über alle Blöcke eine gute Übereinstimmung auf. Im Unterschied zur Sorte 'Taubertal' enthält die Droge von SN-1 jedoch kein Rutin. Allerdings sind die Gehalte an Hyperosid+Isoquercitrin, Quercitrin und Quercetin höher. Während der Hypericingehalt bei beiden Herkünften gleich ist, weist SN-1 nahezu den dreifachen Pseudohypericingehalt auf. Auch die Gehalte der Phloroglucinderivate Hyperforin und Adhyperforin liegen bei SN-1 etwas höher als bei 'Taubertal'.

Tabelle 44: Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben von SN-1 ($n = 40$), Blockanlage 2001

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
Block I	0,0	31,2 ± 3,0	4,7 ± 0,6	2,7 ± 0,3	2,2 ± 0,3	0,9 ± 0,4	7,7 ± 1,0	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1	9,4 ± 2,4	2,2 ± 0,3
Block II	0,0	34,8 ± 2,2	4,9 ± 0,4	2,8 ± 0,2	2,4 ± 0,3	1,4 ± 0,4	7,9 ± 0,5	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1	12,7 ± 1,6	2,6 ± 0,2
Block III	0,0	35,0 ± 2,9	5,1 ± 0,5	2,7 ± 0,4	2,6 ± 0,4	1,7 ± 0,4	7,5 ± 0,8	0,2 ± 0,0	0,8 ± 0,1	13,2 ± 1,6	2,6 ± 0,3
Block IV	0,0	33,1 ± 2,7	5,0 ± 0,4	2,8 ± 0,3	2,5 ± 0,3	1,6 ± 0,2	7,3 ± 0,5	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,1	12,1 ± 1,8	2,4 ± 0,3
\bar{x}	0,0	33,5 ± 3,1	4,9 ± 0,5	2,7 ± 0,3	2,4 ± 0,4	1,4 ± 0,5	7,6 ± 0,8	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1	11,8 ± 2,3	2,4 ± 0,3

Im Unterschied zu den homogenen Parzellen der Sorte 'Taubertal' und der Selektion SN-1 zeigten die Einzelpflanzen der Herkunft M. Bauer eine hohe phänotypische Variabilität (vgl. III 1.1.1). Tabelle 45 gibt deshalb den Mittelwert zusammen mit dem Minimum und Maxi-

zum aller Einzelpflanzen an. Dadurch kann ein Überblick über die analog vorgefundene Variabilität der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe gegeben werden, wozu Mittelwerte über Parzellen nur unzureichend geeignet sind.

Tabelle 45: Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben von M. Bauer ($n = 55$)², Blockanlage 2001

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
Min	0,0	16,0	0,8	0,8	1,1	0,0	0,9	0,0	0,1	4,6	1,3
\bar{x} ($n = 55$)	9,1	22,6	3,0	1,7	2,1	0,7	3,3	0,1	0,4	12,0	2,5
Max	17,5	38,4	6,5	3,2	3,6	3,6	9,5	0,3	1,1	19,5	4,6

²Eine Pflanze (Block III, Pflanze 11) ist ausgefallen.

Zuerst fällt auf, dass die Herkunft M. Bauer einzelne Pflanzen enthält, die wie SN-1 nicht in der Lage sind, Rutin zu synthetisieren. Im Mittel erreichen die Pflanzen Gehalte von 9,2 g/kg Droge und damit deutlich weniger als 'Taubertal' (12,3 g/kg). Allerdings übertrifft der höchste gemessene Gehalt von 17,5 g/kg die Sorte deutlich. Die Messwerte für Hyperosid+Isoquercitrin variieren zwischen 16,0 und 38,4 g/kg um einen Mittelwert von 22,6 g/kg, der deutlich unter den beiden anderen Herkünften liegt (30,6 bzw. 33,5 g/kg). Eine hohe Schwankungsbreite zeigt Quercitrin. Hier liegt der höchste Wert mit 6,5 g/kg beim achtfachen des Minimums (0,8 g/kg). Der Durchschnitt liegt bei 3,0 g/kg und damit zwar höher als bei 'Taubertal' (2,5 g/kg) aber niedriger als bei SN-1 (4,9 g/kg). Der Quercetingehalt liegt zwischen 0,8 und 3,2 g/kg. Der Mittelwert liegt mit 1,7 g/kg in der gleichen Größenordnung wie der Quercetingehalt von 'Taubertal' (1,8 g/kg). Die Biapigeningehalte liegen zwischen 1,1 und 3,6 g/kg um einen Mittelwert von 2,1 g/kg und damit etwas niedriger als bei den beiden anderen untersuchten Herkünften (2,5 bzw. 2,4 g/kg).

Bei den Naphthodianthronen Pseudohypericin und Hypericin erreichen die Maxima (9,5 bzw. 1,1 g/kg) das zehnfache der Minima (0,9 bzw. 0,1 g/kg). Der Mittelwert für die Pseudohypericingehalte (3,3 g/kg) liegt deutlich über dem von 'Taubertal' (2,8 g/kg), der Mittelwert von SN-1 (7,6 g/kg) wird hingegen nur von wenigen Einzelpflanzen der Herkunft M. Bauer übertroffen. Der durchschnittliche Hypericingehalt liegt mit 0,4 g/kg Droge weit unter dem der beiden anderen Herkünfte (0,9 g/kg). Die Protoformen der Naphthodianthrone verhalten sich entsprechend ihrer Endstufen.

Die Variationsbreite der Hyperforingehalte reicht von 4,6 bis 19,5 g/kg. Der Durchschnitt aller Einzelpflanzen von M. Bauer liegt mit 12,0 g/kg in derselben Größenordnung wie bei SN-1 (11,8 g/kg) und damit deutlich höher als bei 'Taubertal' (6,7 g/kg). Die gleichen Verhältnisse liegen bei Adhyperforin vor, dessen Gehalte von 1,3 bis 4,6 g/kg um den Mittelwert bei 2,5 g/kg variieren.

3.1.2 Inhaltsstoffprofile

Im Verlauf der Analyse von 55 Einzelpflanzenextrakten der Saatgutherkunft "M. Bauer" wurden zahlreiche Pflanzen identifiziert, deren Inhaltsstoffprofile durch das Fehlen von Rutin bzw. das Vorkommen zusätzlicher Peaks gekennzeichnet sind. Die beschriebenen Unterschiede zum normalen Inhaltsstoffprofil betreffen dabei ausschließlich den Bereich von ca. 22 bis 32 min, in dem die Flavonoidglykoside und das Aglykon Quercetin aufgetrennt werden.

Profil A

Abbildung 23 zeigt den relevanten Bereich aus dem HPLC-Chromatogramm eines Extraktes mit dem Inhaltsstoffprofil A. Es repräsentiert sozusagen die Grundausstattung an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen und wurde bei vier Pflanzen identifiziert. Das vollständige Chromatogramm befindet sich unter II 4.4.1.

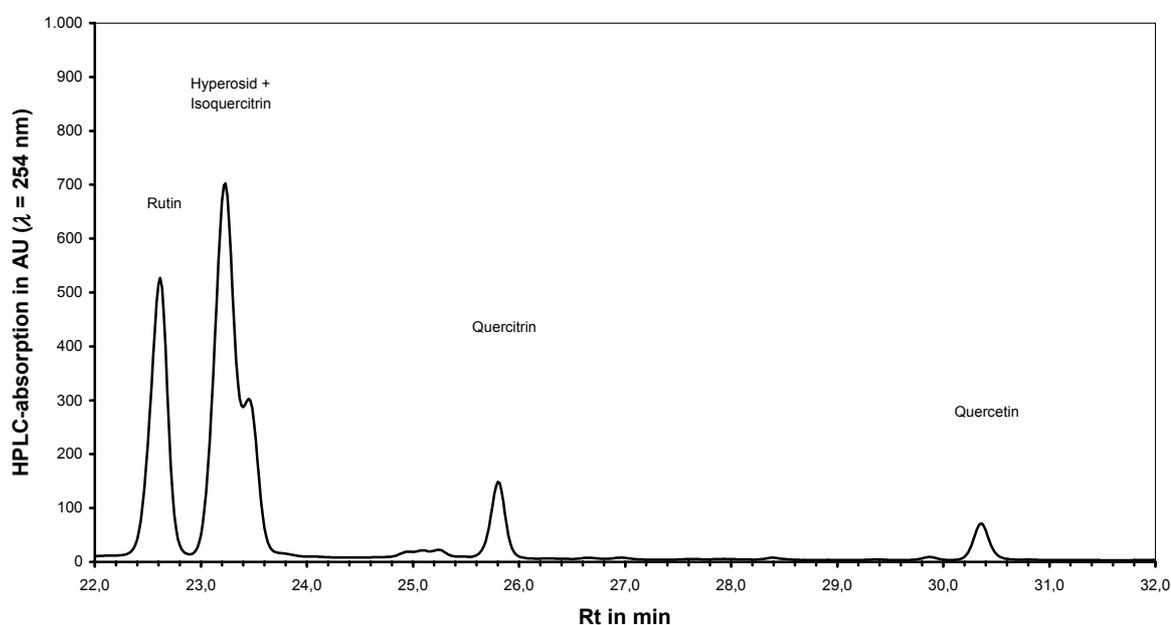


Abbildung 23: Inhaltsstoffprofil A – Grundausstattung (Block IV, Pflanze 6)

Profil B

Abbildung 24 zeigt den relevanten Ausschnitt aus dem HPLC-Chromatogramm eines Extraktes mit dem Inhaltsstoffprofil B. Wie Pflanzen mit dem Profil A enthalten diese Herkünfte alle pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe, also auch Rutin. Zusätzlich sind jedoch zwei deutliche Peaks bei einer Retentionszeit von ca. 24,9 und 25,4 min zu verzeichnen. Der Peak bei 25,4 min zeigt auf der rechten Seite eine Schulter, die erkennen lässt, dass an seiner Entstehung eine zweite Substanz bzw. Substanzgruppe beteiligt ist, die sehr nahe an der ersten eluiert. Diese Substanz bzw. Substanzgruppe ist vermutlich bei den Inhaltsstoffprofilen A, C und E als leichte Erhebung vor dem Peak des Flavonoidglykosids Quercitrin zu erkennen. Der stark ausgeprägte Peak bei einer Retentionszeit von 25,4 min ist ausschließlich bei den In-

haltsstoffprofilen B, D und F zu finden. Die Pflanzen mit dem Inhaltsstoffprofil B stellen mit über 50 % die größte Gruppe innerhalb der heterogenen Population M. Bauer.

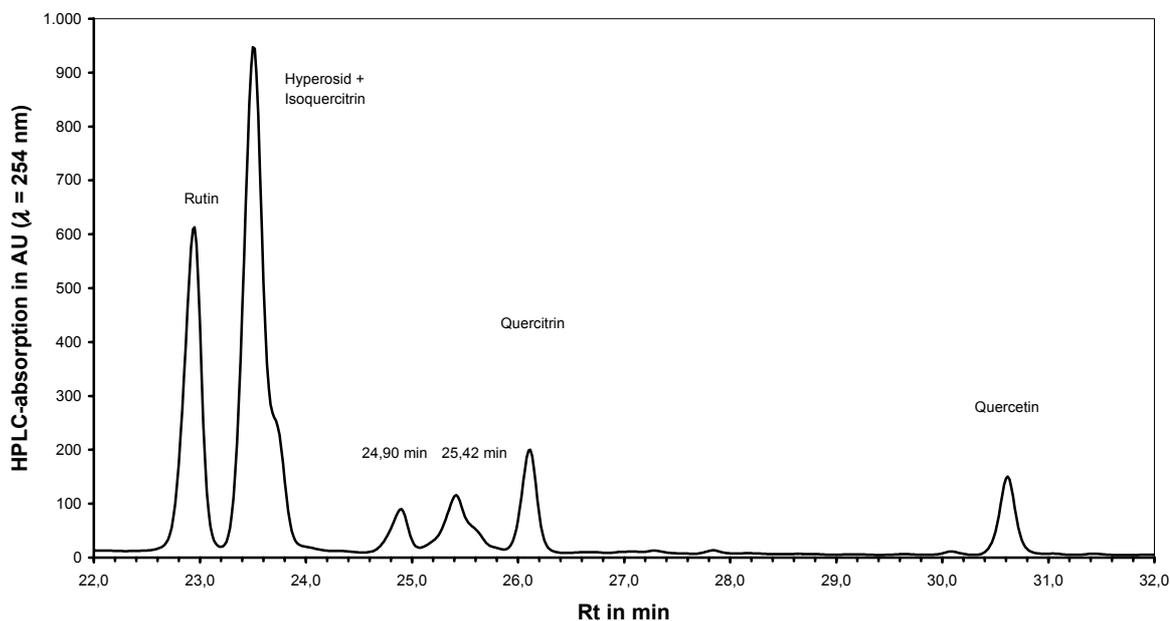


Abbildung 24: Inhaltsstoffprofil B – mit zwei zusätzlichen Peaks (Block III, Pflanze 5)

Profil C

Das HPLC-Chromatogramm von nur zwei Einzelpflanzen mit dem Inhaltsstoffprofil C (vgl. Abbildung 25) unterscheidet sich von Pflanzen mit dem Inhaltsstoffprofil A durch das zusätzliche Vorkommen einer Substanz, die nach einer Retentionszeit von 27,8 min eluiert.

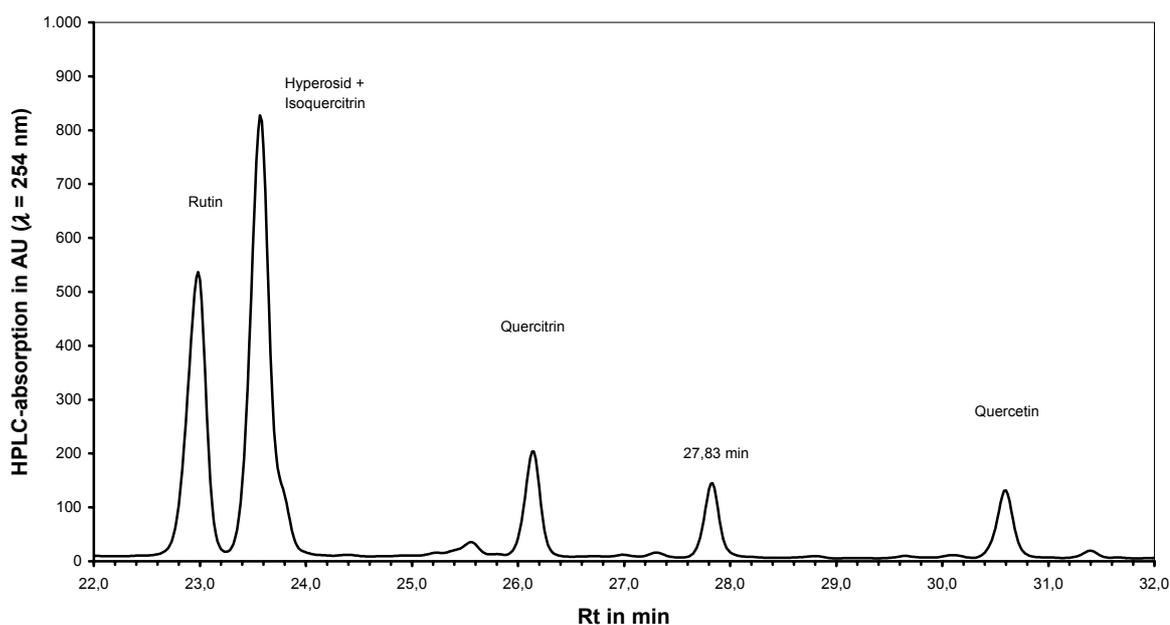


Abbildung 25: Inhaltsstoffprofil C – mit einem zusätzlichen Peak (Block III, Pflanze 12)

Profil D

Das Inhaltsstoffprofil D (vgl. Abbildung 26) stellt eine Kombination aus den beiden oben gezeigten Profilen B und C dar. Hier sind neben Rutin, Hyperosid+Isoquercitrin und Quercitrin sowohl die beiden Peaks bei 24,9 und 25,4 min als auch der Peak bei 27,8 min vorhanden. Der Peak bei 25,4 min zeigt stärker als bei Inhaltsstoffprofil B eine zweite Substanz, die als Nebenpeak sichtbar wird. Dieses Inhaltsstoffprofil D war bei fünf der 55 untersuchten Einzelpflanzen anzutreffen.

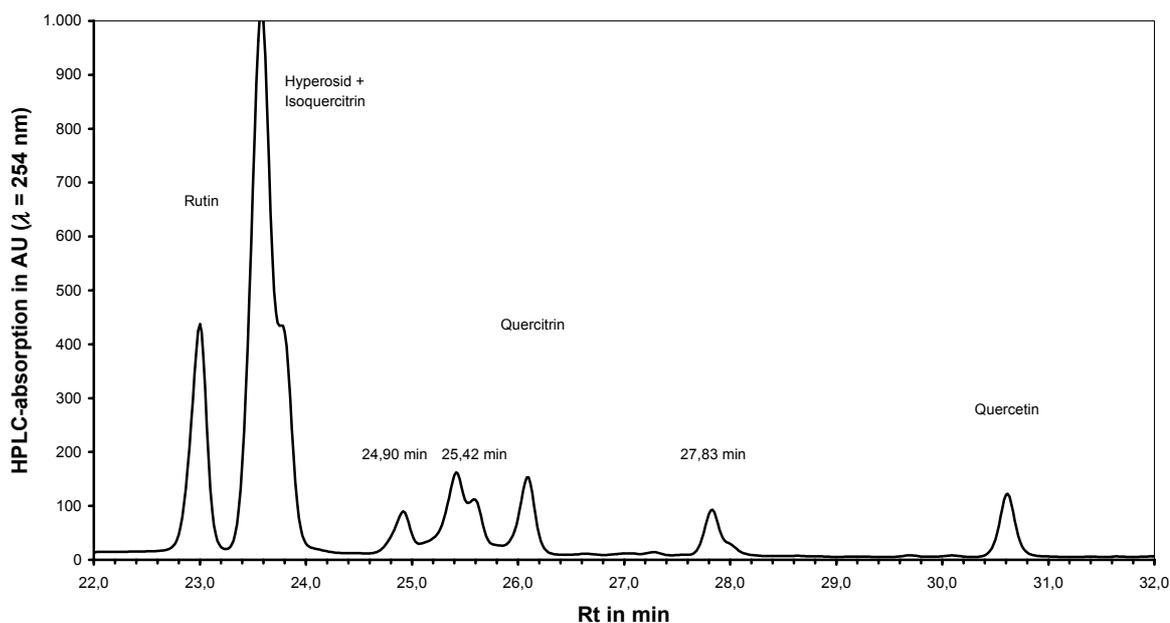


Abbildung 26: Inhaltsstoffprofil D – mit drei zusätzlichen Peaks (Block I, Pflanze 8)

Profil E

Besonders bemerkenswert ist, dass einige Pflanzen ein vollkommen normales Inhaltsstoffprofil aufweisen, jedoch kein Rutin enthalten. Auch wiederholte Untersuchungen zeigten, dass Pflanzen mit dem Inhaltsstoffprofil E (vgl. Abbildung 27) nachweislich nicht in der Lage sind, Rutin zu synthetisieren.

Die Gruppe der Einzelpflanzen mit diesem Profil ist mit einem Anteil von einem Viertel in der Saatgutherkunft vertreten. Diesem Inhaltsstoffprofil E ist auch die Selektion SN-1 zuzuordnen, die ursprünglich aus der Herkunft M. Bauer selektiert wurde.

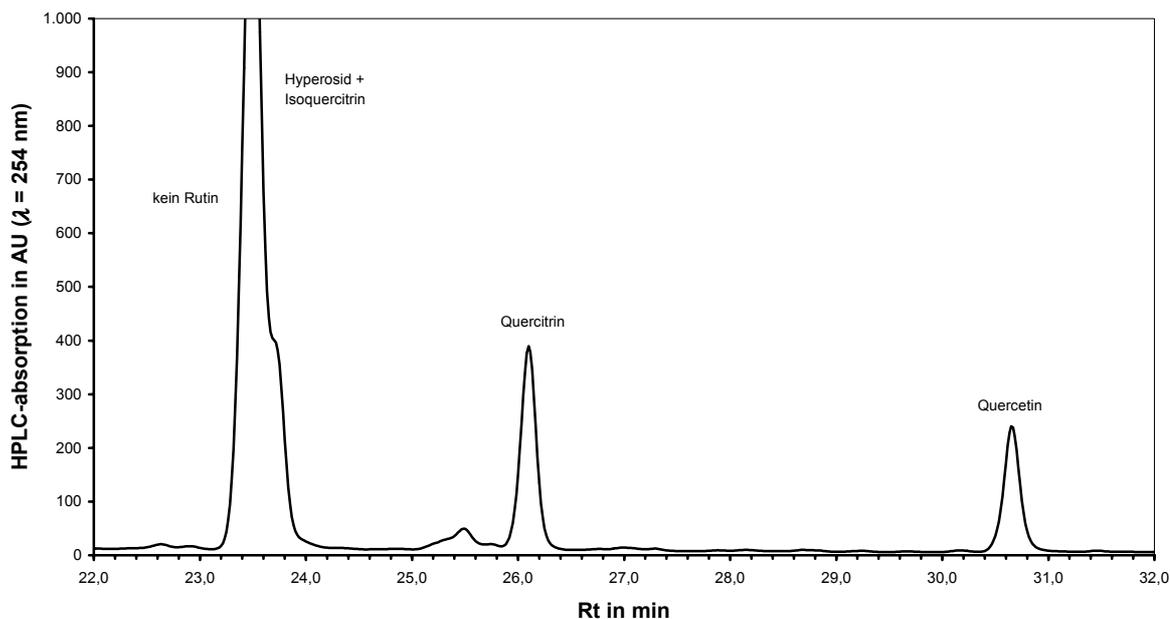


Abbildung 27: Inhaltsstoffprofil E – ohne Rutin (Block III, Pflanze 4)

Profil F

Eine Einzelpflanze mit dem Inhaltsstoffprofil F ist ebenfalls nicht in der Lage, Rutin zu bilden, zeigt aber wie Pflanzen mit Profil C den zusätzlichen Peak bei einer Retentionszeit von 27,9 min (vgl. Abbildung 28). Zusätzlich trat der charakteristische Peak bei 25,3 min auf, während im Unterschied zu den oben dargestellten Profilen B und D keine Substanz enthalten ist, die bei 24,9 min eluiert.

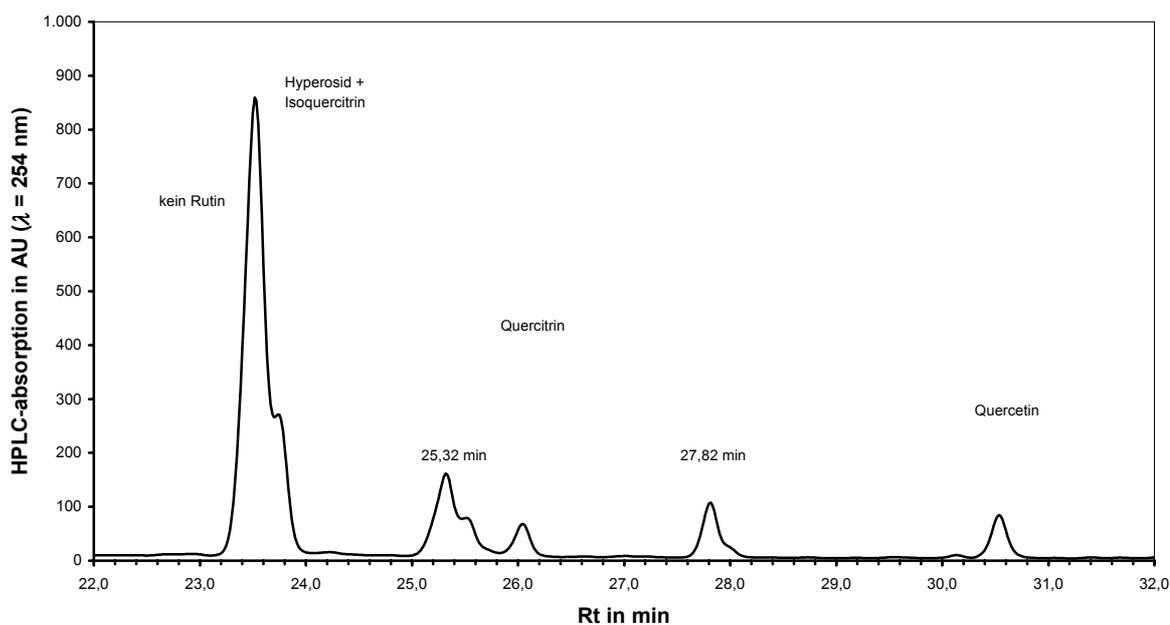


Abbildung 28: Inhaltsstoffprofil F – ohne Rutin, mit zwei zusätzlichen Peaks (Block III, Pflanze 1)

3.2 Zweisatzgitter

Drogenproben aus dem Versuchsjahr 2001

Die Inhaltsstoffanalyse der 2001 geernteten Drogenproben zeigt die hohe natürliche Variabilität der untersuchten Herkünfte. Zwei der 62 Herkünfte konnten nicht untersucht werden. AS-9 kam im Pflanzjahr 2001 überhaupt nicht zur Blüte, während die Herkunft AS-14 so stark von *Colletotrichum cf. gloeosporioides* geschädigt war, dass sie zwar noch zur Blüte kam, aber keine Drogenprobe mehr geerntet werden konnte.

Tabelle 46 zeigt sowohl den Mittelwert als auch den niedrigsten und höchsten Messwert für die Gehalte der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe der 60 untersuchten Herkünfte. Zum Vergleich sind die Daten für den internen Standard SN-1 und die externe Standardsorte 'Taubertal' separat aufgelistet. Möglicherweise fehlerhafte Werte stehen in Klammern. Daneben ist der Wert für das zweithöchste Messergebnis angegeben. Eine vollständige Auflistung der Inhaltsstoffgehalte befindet sich im Anhang unter VIII 4.1 in Tabelle 79.

Tabelle 46: Eckdaten zur Analyse der Drogenproben (n = 60), Zweisatzgitter 2001

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
Min	0,0	12,8	1,2	0,7	1,4	0,0	1,2	0,0	0,2	5,4	1,0
\bar{x} (n = 60)	7,6	20,3	3,7	1,3	2,4	0,6	4,1	0,1	0,9	11,5	2,1
Max	20,8	42,1	7,9	2,5	(7,1) 5,0	1,7	(10,1) 7,8	0,7	(5,5) 2,6	19,6	4,5
SN-1	0,0	28,4	6,4	1,4	1,8	0,6	5,7	0,0	0,8	9,6	1,4
'Taubertal'	10,0	22,3	2,8	1,2	1,8	0,0	2,4	0,0	1,0	5,9	1,2

Im Durchschnitt erreichten die Herkünfte einen Rutingehalt von 7,6 g/kg Droge. Die Herkünfte PM-13, AS-31 und AS-33 sind wie die Selektion SN-1 nicht in der Lage, Rutin zu bilden. Die Sorte 'Taubertal' erreichte 10,0 g/kg Rutin und lag damit zwar über dem Durchschnitt aber weit unter dem höchsten Gehalt von 20,8 g/kg Droge (AS-32). Hyperosid und Isoquercitrin lag in allen Drogenproben reichlich vor. Die Gehalte reichten von 12,8 (AS-25) bis 42,1 g/kg Droge (PM-14). Mit 22,3 g/kg lag 'Taubertal' leicht über dem Mittelwert von 20,3 g/kg, während SN-1 mit 28,4 g/kg einen der höchsten Werte aufwies. Die Gehalte an Quercitrin variierten zwischen 1,2 (AS-12) und 7,9 g/kg (AS-8). Dabei lag der Quercitrin-gehalt von 'Taubertal' deutlich unter dem Mittelwert von 3,7 g/kg Droge, während SN-1 mit 6,4 g/kg einen relativ hohen Quercitrin-gehalt erreichte. Die Variationsbreite des Quercitrin-gehaltes reichte von 0,7 (AS-21) bis 2,5 g/kg Droge (AS-1). Die Gehalte der beiden Standards waren sehr nahe beim Mittelwert von 1,3 g/kg angesiedelt. Bezüglich der Biapigeningehalte liegen die Standards gleichauf mit 1,8 g/kg zwischen dem kleinsten Wert von 1,4 g/kg (AS-2)

und dem Mittelwert von 2,4 g/kg. Der höchste Biapigeningehalt von 7,1 g/kg wurde bei der Herkunft PM-8 gemessen. Den zweithöchsten Gehalt von 5,0 g/kg erreichte PM-14.

Die Pseudohypericin-Vorstufe Protopseudohypericin kam wie bei der Sorte 'Taubertal' nicht in allen untersuchten Herkünften in nachweisbarer Menge vor. Der Durchschnittswert von 0,6 g/kg wurde hingegen von der Selektion SN-1 erreicht. Bei der Herkunft PM-15 wurde mit 1,7 g/kg der höchste Gehalt gemessen. Die Gehalte an Pseudohypericin variierten von 1,2 (AS-29) bis 10,1 bzw. 7,8 g/kg (PM-8 bzw. BT-1) um einen Mittelwert von 4,1 g/kg Droge. SN-1 erreichte dabei mit 5,7 g/kg mehr als den doppelten Gehalt von 'Taubertal', der bei 2,4 g/kg lag. Wie bei den meisten Herkünften erreichte der Protohypericingehalt auch bei den Standards die Nachweisgrenze nicht. Dies drückt sich auch im Mittelwert aller Herkünfte aus, der nur bei 0,1 g/kg Droge lag. Der höchste Wert wurde wie auch schon bei Protopseudohypericin bei der Herkunft PM-15 gemessen. Die Schwankungsbreite des Hypericingehaltes in der Droge reichte von 0,2 (AS-32) bis 5,5 bzw. 2,6 g/kg (PM-8 bzw. PM-15). Dabei gruppieren sich die beiden Standards um den Mittelwert von 0,9 g/kg.

Die Analyse der Phloroglucinderivate erbrachte ebenfalls eine hohe Variabilität. Die Hyperforingehalte variierten dabei von 5,4 (AS-11) bis 19,6 g/kg (PM-14). Die Standardsorte 'Taubertal' lag mit 5,9 g/kg nur leicht über dem Minimum, während SN-1 mit 9,6 g/kg fast an den Mittelwert von 11,5 g/kg heranreichte. Bezüglich der Adhyperforingehalte lagen die Standards mit 1,2 ('Taubertal') und 1,4 g/kg (SN-1) nur wenig über dem Minimum von 1,0 g/kg (AS-22). Im Mittel enthielten die untersuchten Herkünfte 2,1 g Adhyperforin pro kg Droge. Den höchsten Gehalt erreichte PM-8 mit 4,5 g/kg.

Der Vergleich der Standards zeigt, dass SN-1 kein Rutin bildete aber etwas höhere Gehalte an Hyperosid+Isoquercitrin, Quercitrin und Quercetin aufwies. Im Biapigeningehalt unterschieden sich die beiden Standards nicht. Die Selektion SN-1 bildete wesentlich mehr Pseudohypericin und dessen Vorstufe Protopseudohypericin, während die Sorte 'Taubertal' etwas mehr Hypericin enthielt. Im Hyperforin- und Adhyperforingehalt übertraf SN-1 die Sorte 'Taubertal' deutlich.

Blütenproben aus dem Versuchsjahr 2002

Nach den teilweise hohen Ausfällen durch *Colletotrichum cf. gloeosporioides* im Pflanzjahr und dem Fortschreiten der Infektion im zweiten Standjahr wurden für die Analyse der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe nur die interessantesten Herkünfte auf dem Versuchsfeld Zierpflanzenbau ausgewählt. Dazu zählten zum einen die Wildherkünfte P-1, P-2, H-2, H-3 und H-4 sowie die Selektionen AS-21, AS-22, AS-25, AS-28 und AS-30. Des Weiteren wurden auch die Wildherkünfte BT-1, WE-1 und UP-1 auf ihre Inhaltsstoffgehalte untersucht. Dazu wurden von allen vier Parzellen Blütenproben ($n = 50$ Blüten) geerntet.

Tabelle 47 zeigt die Mittelwerte der Inhaltsstoffgehalte über alle vier Parzellen zusammen mit der jeweiligen Standardabweichung.

Tabelle 47: Inhaltsstoffanalyse der Blütenproben, Zweisatzgitter 2002

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
P-1	3,0 ± 0,3	22,7 ± 1,3	2,3 ± 0,4	0,8 ± 0,1	2,0 ± 0,8	0,1 ± 0,2	3,3 ± 0,2	0,0	0,4 ± 0,1	10,2 ± 1,3	1,7 ± 0,3
P-2	2,8 ± 0,4	24,7 ± 1,8	2,4 ± 0,3	0,7 ± 0,1	1,8 ± 0,7	0,0	2,9 ± 0,6	0,0	0,3 ± 0,0	9,7 ± 0,9	1,7 ± 0,1
H-2	4,5 ± 0,1	23,1 ± 0,6	3,6 ± 0,1	1,3 ± 0,2	2,2 ± 0,4	0,8 ± 0,1	5,8 ± 0,7	0,0	1,1 ± 0,1	7,7 ± 0,7	1,0 ± 0,0
H-3	4,3 ± 0,5	24,8 ± 1,6	4,1 ± 0,5	1,3 ± 0,1	2,5 ± 1,0	0,7 ± 0,4	5,9 ± 0,8	0,0 ± 0,1	1,0 ± 0,2	9,3 ± 3,3	1,2 ± 0,4
H-4	4,9 ± 0,4	24,6 ± 0,8	3,8 ± 0,4	1,4 ± 0,3	2,4 ± 0,6	0,6 ± 0,1	6,5 ± 1,1	0,0 ± 0,1	1,2 ± 0,1	6,7 ± 0,5	1,0 ± 0,1
AS-21	15,0 ± 0,7	20,1 ± 0,2	4,4 ± 0,6	0,7 ± 0,1	1,7 ± 0,3	0,2 ± 0,2	4,3 ± 0,3	0,0	0,6 ± 0,1	9,0 ± 0,4	1,1 ± 0,1
AS-22	12,4 ± 0,3	20,6 ± 0,5	5,1 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1,8 ± 0,4	0,5 ± 0,1	5,1 ± 0,5	0,0	1,0 ± 0,1	9,2 ± 0,6	1,2 ± 0,2
AS-25	13,6 ± 0,8	19,7 ± 1,3	4,3 ± 0,3	0,7 ± 0,1	1,6 ± 0,2	0,4 ± 0,3	4,1 ± 0,4	0,0	0,7 ± 0,1	12,0 ± 0,3	1,4 ± 0,4
AS-28	4,9 ± 0,9	28,4 ± 2,0	4,6 ± 0,4	1,0 ± 0,1	2,0 ± 0,4	0,3 ± 0,3	2,8 ± 0,3	0,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1	16,3 ± 2,1	2,6 ± 0,9
AS-30	11,0 ± 0,4	22,4 ± 1,7	4,9 ± 0,1	0,9 ± 0,2	2,0 ± 0,8	0,0	4,0 ± 0,5	0,0	0,4 ± 0,0	10,6 ± 0,5	1,7 ± 0,1
BT-1	2,6 ± 0,1	25,2 ± 1,3	4,6 ± 0,4	1,2 ± 0,1	2,5 ± 0,8	1,2 ± 0,2	6,2 ± 0,7	0,0 ± 0,1	0,6 ± 0,1	10,1 ± 0,9	1,1 ± 0,2
WE-1	2,7 ± 0,0	26,1 ± 1,8	2,9 ± 0,2	1,3 ± 0,2	2,9 ± 0,6	0,6 ± 0,1	4,5 ± 0,3	0,0	0,5 ± 0,0	8,7 ± 0,6	1,2 ± 0,2
UP-1	2,4 ± 0,1	23,7 ± 0,9	2,8 ± 0,1	0,9 ± 0,0	2,5 ± 0,5	0,6 ± 0,1	4,1 ± 0,1	0,0	0,3 ± 0,0	7,7 ± 0,5	1,2 ± 0,1

Die phänotypisch gleichen Herkünfte P-1 und P-2 zeigten eine sehr hohe Übereinstimmung in den gemessenen Inhaltsstoffgehalten. Die Herkünfte H-2, H-3 und H-4 bildeten eine zweite Gruppe, die sich durch vergleichsweise hohe Pseudohypericingehalte auszeichnet. Auch die morphologische Ähnlichkeit der Selektionen AS-21, AS-22 und AS-25 spiegelt sich in einer hohen Übereinstimmung der Ergebnisse aus der Inhaltsstoffanalyse wider. Auffallend ist der relativ hohe Rutingehalt in dieser Gruppe. Die restlichen Herkünfte zeigten zwar teilweise übereinstimmende Inhaltsstoffgehalten, repräsentieren aber klar unterscheidbare Phänotypen.

Zu den einzelnen Inhaltsstoffen ist anzumerken, dass auch in dieser Analysenreihe sehr hohe Schwankungen im Biapigeningehalt zu verzeichnen waren. Die Gehalte an Protopseudohypericin und besonders an Protohypericin waren sehr nahe an der Nachweisgrenze angesiedelt.

3.3 Linienanlage

Von den Herkünften, die in der Linienanlage gepflanzt wurden, konnten zahlreiche Proben für die Analyse der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe gewonnen werden. Zuerst wurden von jeder Herkunft und jeder Parzelle mit Standardsorten 50 Blüten geerntet. Weiterhin wurden zum Vergleich je zwei Blütenproben N_2 und je eine Drogenprobe geerntet, allerdings dabei die 28 Standardparzellen weggelassen. Aufgrund von Ausfällen durch Johanniskrautwelke konnten Blütenproben ($n = 50$ Blüten) von 34 Herkünften, Blütenproben N_2 ($n = 10$ Blüten) von 31 und Drogenproben von 30 Herkünften geerntet werden.

Blütenproben

Die detaillierten Analyseergebnisse der Blütenproben ($n = 50$ Blüten) sind im Anhang unter VIII 4.2, Tabelle 81 aufgelistet. Tabelle 48 zeigt die Durchschnittswerte der Standards sowie den Mittelwert mit Minimum und Maximum der 34 untersuchten Herkünfte, um die Variabilität bezüglich der Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen zu verdeutlichen.

Tabelle 48: Eckdaten zur Inhaltsstoffanalyse der Blütenproben, Linienanlage 2002

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
Min	0,0	15,7	2,0	0,5	0,6	0,0	2,2	0,0	0,2	2,4	0,0
\bar{x} ($n = 34$)	4,5	24,3	3,8	1,0	1,6	0,8	4,1	0,1	0,9	10,0	1,2
Max	11,4	34,7	7,3	2,4	3,7	2,0	6,8	0,4	2,9	22,2	2,6
SN-1 ($n = 14$)	0,0	29,0 ± 1,7	4,7 ± 0,2	0,8 ± 0,1	2,2 ± 0,8	1,4 ± 0,4	6,5 ± 0,9	0,0	0,7 ± 0,1	13,3 ± 2,3	1,6 ± 0,3
'Taubertal' ($n = 14$)	6,4 ± 0,4	28,2 ± 3,3	4,1 ± 1,2	0,9 ± 0,1	2,7 ± 1,0	0,6 ± 0,2	3,8 ± 0,4	0,1 ± 0,1	1,1 ± 0,2	9,5 ± 1,3	1,4 ± 0,2

Die Gehalte an Rutin lagen im Durchschnitt bei 4,5 g/kg Blüten. Während SN-1 zu den Herkünften zählt, die kein Rutin bilden, lag die Sorte 'Taubertal' mit 6,4 g/kg zwar deutlich über dem Mittelwert, reichte aber nicht an das Maximum von 11,4 g/kg (MB-G) heran. Hyperosid und Isoquercitrin konnten in allen Herkünften in großer Menge nachgewiesen werden. Allerdings war auch hier eine hohe Variationsbreite von 15,7 g/kg (GZ-10) bis 34,7 g/kg (PM-10) zu beobachten. Die Standards lagen dabei merklich über dem Mittelwert von 24,3 g/kg. Die Gehalte an Quercitrin variierten zwischen 2,0 (GZ-4) und 7,3 g/kg (PF-4), wobei die Standards wieder höhere Gehalte als den Mittelwert der Herkünfte von 3,8 g/kg erreichten. Die Variationsbreite des Quercetingehaltes reichte von 0,5 (AS-6b) bis 2,4 g/kg (PM-15a). Die Gehalte der Standards lagen dabei knapp unter dem Mittelwert der Herkünfte, der 1,0 g/kg betrug. Die gemessenen Biapigeningehalte variierten von 0,6 (AS-2) bis 3,7 g/kg (FS-4) um einen Mittelwert von 1,6 g/kg, der von den beiden Standards klar übertroffen wurde.

Bei der Gruppe der Naphthodianthrone kann für die Protohypericine keine vergleichende Aussage getroffen werden, da besonders Protohypericin bei vielen Herkünften in der Nähe der Nachweisgrenze rangierte. In der Regel bewegten sich die Werte entsprechend den Gehalten ihrer Endstufen Pseudohypericin und Hypericin. Die gemessenen Gehalte an Pseudohypericin schwankten von 2,2 (GZ-8) bis 6,8 g/kg (MB-AS). Während die Selektion SN-1 mit 6,5 g/kg an das Maximum heranreichte, blieb 'Taubertal' mit 3,8 g/kg knapp unterhalb des Mittelwertes von 4,1 g/kg. Hypericin zeigte eine sehr hohe Schwankungsbreite zwischen 0,2 (AS-6b) und 2,9 g/kg (PM-15a). Die beiden Standards rangierten in der Größenordnung des Mittelwertes von 0,9 g/kg. Allerdings erreichte 'Taubertal' mit 1,1 g/kg einen merklich höheren Wert als SN-1 mit 0,7 g/kg.

Eine hohe Variabilität konnte auch beim Phloroglucinderivat Hyperforin gemessen werden. Der maximale Gehalt lag mit 22,2 g/kg (SN-W) fast beim 10fachen des Minimums von 2,4 g/kg (GZ-8). 'Taubertal' lag mit 9,5 g/kg knapp unterhalb des Mittelwertes von 10,0 g/kg, während SN-1 mit 13,3 g/kg einen etwas höheren Wert für Hyperforin aufwies. Die Adhyperforingehalte schwankten zwischen nicht nachweisbar (AS-2) und 2,6 g/kg (SN-W). Die Standards lagen etwas über dem Mittelwert von 1,2 g/kg Blüten.

Der größte Unterschied zwischen den Standards ergibt sich aus der Tatsache, dass SN-1 nicht in der Lage ist, Rutin zu synthetisieren. Bezüglich der Gehalte an den restlichen Flavonoiden und an Biapigenin bewegen sich die Standards in vergleichbaren Größenordnungen. Ein weiterer Unterschied besteht in dem einerseits deutlich höheren Pseudohypericingehalt von SN-1. Andererseits ist 'Taubertal' in der Lage, mehr Hypericin als SN-1 zu bilden. Schließlich konnten in SN-1 höhere Gehalte an Hyperforin nachgewiesen werden.

Blütenproben N₂

Die Blütenproben N₂ ($n = 10$ Blüten) wurden auf die pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe untersucht. Tabelle 49 fasst die Mittelwerte mit dem Minimum und dem Maximum unter den 31 untersuchten Herkünften zusammen. Da von jeder Parzelle zwei Proben analysiert wurden, repräsentieren die Ergebnisse jeweils den Mittelwert dieser beiden Proben.

Die gemessenen Inhaltsstoffgehalte der Blütenproben N₂ liegen sowohl bezüglich ihres Minimums und Maximums als auch bezüglich der Mittelwerte in der selben Größenordnung wie die Werte, die für die Blütenproben ($n = 50$ Blüten) gemessen wurden (vgl. Tabelle 48). Lediglich die Werte für Quercetin, Biapigenin und Hyperforin lagen im Mittel bei den Blütenproben N₂ um ca. 15 % und damit geringfügig höher als bei den Blütenproben.

Tabelle 49: Eckdaten zur Inhaltsstoffanalyse der Blütenproben N₂, Linienanlage 2002

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
Min	0,0	16,4	1,8	0,3	0,8	0,0	1,5	0,0	0,1	3,3	0,2
\bar{x} ($n = 31$)	4,4	23,1	3,6	1,3	1,9	0,5	4,2	0,0	0,8	11,8	1,3
Max	12,4	32,9	6,6	3,8	5,5	1,7	6,9	0,3	2,5	18,4	2,4

Tabelle 50 gibt die Korrelationen der Messwerte für die Blütenproben ($n = 50$ Blüten) und der entsprechenden Messwerte für die Blütenproben N₂ ($n = 10$ Blüten) wieder. Anhand des angegebenen Bestimmtheitsmaßes R^2 lässt sich ein sehr starker linearer Zusammenhang für Rutin ($R^2 = 0,9729$) und Hypericin ($R^2 = 0,8984$) feststellen. Für Hyperosid+Isoquercitrin und Quercitrin ist ebenfalls ein guter linearer Zusammenhang ($R^2 = 0,7346$ bzw. $0,7757$) gegeben. Immer noch deutlich ist die Korrelation der Messwerte für Pseudohypericin ($R^2 = 0,6109$) und Hyperforin ($R^2 = 0,6575$) sowie etwas weniger deutlich für Adhyperforin ($R^2 = 0,4686$) ausgeprägt. Für Quercetin ($R^2 = 0,0378$) und Biapigenin ($R^2 = 0,0687$) lässt sich überhaupt kein

Zusammenhang zwischen den Messwerten der Blütenproben und der Blütenproben N₂ herstellen. Ähnliches gilt für die Messwerte für Protopseudohypericin ($R^2 = 0,3425$), während für Protohypericin aufgrund der wenigen Messwerte über der Nachweisgrenze bei den Blütenproben N₂ keine Angaben möglich sind.

Tabelle 50: Korrelationen zwischen Blütenproben und Blütenproben N₂, Linienanlage 2002

	<i>Regressionsgleichung</i>	<i>Bestimmtheitsmaß</i>
Rutin	$y = 0,9772 x - 0,2152$	$R^2 = 0,9729$
Hyperosid+Isoquercitrin	$y = 0,7700 x + 4,4466$	$R^2 = 0,7346$
Quercitrin	$y = 0,9544 x - 0,0991$	$R^2 = 0,7757$
Quercetin	$y = 0,3538 x + 0,9563$	$R^2 = 0,0378$
Biapigenin	$y = 0,4667 x + 1,1796$	$R^2 = 0,0687$
Protopseudohypericin	$y = 0,6026 x + 0,0219$	$R^2 = 0,3425$
Pseudohypericin	$y = 0,9133 x + 0,4342$	$R^2 = 0,6109$
Protohypericin	-	-
Hypericin	$y = 0,9271 x - 0,0549$	$R^2 = 0,8984$
Hyperforin	$y = 0,8454 x + 3,4758$	$R^2 = 0,6575$
Adhyperforin	$y = 0,7279 x + 0,4812$	$R^2 = 0,4686$

Drogenproben

In Tabelle 51 sind die wichtigsten Messwerte aus der Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben dargestellt. Die Drogenproben der 30 untersuchten Herkunft zeigten insgesamt geringere Inhaltsstoffgehalte als die Blütenproben ($n = 50$ Blüten) und Blütenproben N₂ ($n = 10$ Blüten) (vgl. Tabelle 48 und Tabelle 49). Besonders groß sind die Unterschiede bei Hyperosid+Isoquercitrin und Quercitrin, während Rutin eine Ausnahme bildet und in den Drogenproben höhere Konzentrationen erreichte als in den beiden Blütenproben. Bei den Phloroglucinderivaten wurden in den Drogenproben ebenfalls höhere Gehalte gemessen.

Tabelle 51: Eckdaten zur Inhaltsstoffanalyse der Drogenproben, Linienanlage 2002

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
Min	0,0	10,0	0,9	0,6	0,7	0,1	0,5	0,0	0,0	5,6	0,4
\bar{x} ($n = 30$)	6,2	16,4	2,4	1,0	1,4	0,4	2,3	0,1	0,4	10,9	1,5
Max	12,6	29,7	5,6	1,7	2,6	1,2	6,2	0,3	1,1	21,6	2,9

Tabelle 52 zeigt anhand des errechneten Bestimmtheitsmaßes der Regressionsgleichungen, inwieweit ein linearer Zusammenhang zwischen den gemessenen Inhaltsstoffgehalten der Blütenproben ($n = 50$ Blüten) und der entsprechenden Drogenproben hergestellt werden kann.

Ein sehr starker linearer Zusammenhang ist für den Inhaltsstoff Rutin gegeben ($R^2 = 0,8275$). Auch für Hyperosid+Isoquercitrin ($R^2 = 0,5583$), Quercetin ($R^2 = 0,5033$) und Hypericin ($R^2 = 0,5353$) sowie mit deutlichen Einschränkungen für Hyperforin und Adhyperforin ($R^2 = 0,4847$ bzw. $0,4622$) ist ein linearer Zusammenhang anzunehmen. Für die übrigen Substanzen ist keine Korrelation zwischen den Messwerten feststellbar.

Tabelle 52: Korrelationen zwischen Blütenproben und Drogenproben, Linienanlage 2002

	<i>Regressionsgleichung</i>	<i>Bestimmtheitsmaß</i>
Rutin	$y = 1,1363 x + 0,6095$	$R^2 = 0,8275$
Hyperosid+Isoquercitrin	$y = 0,5668 x + 2,7412$	$R^2 = 0,5583$
Quercitrin	$y = 0,5559 x + 0,2338$	$R^2 = 0,3060$
Quercetin	$y = 0,4610 x + 0,5468$	$R^2 = 0,5033$
Biapigenin	$y = 0,0612 x + 1,2922$	$R^2 = 0,0206$
Protopseudohypericin	$y = 0,2942 x + 0,2214$	$R^2 = 0,2905$
Pseudohypericin	$y = 0,4952 x + 0,2752$	$R^2 = 0,2227$
Protohypericin	$y = 0,3035 x + 0,0529$	$R^2 = 0,2026$
Hypericin	$y = 0,4027 x + 0,0085$	$R^2 = 0,5353$
Hyperforin	$y = 0,7574 x + 3,2901$	$R^2 = 0,4847$
Adhyperforin	$y = 0,8526 x + 0,5419$	$R^2 = 0,4622$

4. Physiologie der Ertragsbildung

4.1 Blühverhalten

In Abbildung 29 ist das Blühverhalten für die Einzelpflanzen der untersuchten Sorten 'Taubertal', 'Topaz' und der Selektion SN-1 im gleichen Maßstab dargestellt. Es fällt auf, dass die Blüte von Johanniskraut keinem geregelten Programm mit kontinuierlichem Verlauf folgt. Die Anzahl der geöffneten Blüten unterliegt vielmehr einer sehr starken täglichen Schwankung. Dennoch lassen sich deutliche Parallelen im Blühverhalten sowohl zwischen den Pflanzen innerhalb einer Sorte als auch zwischen den verschiedenen Sorten erkennen. 'Taubertal' ist die Sorte mit der frühesten Blüte, gefolgt von der Herkunft SN-1. Die untersuchten Pflanzen der Sorte 'Topaz' blühten sehr viel später.

Tabelle 53 zeigt für jede Pflanze die phänologischen Daten zum Blühverhalten. Dabei ist der Blühbeginn als der Tag definiert, vor dem der gleitende Mittelwert über 50 Blüten pro Tag steigt (vgl. IV 3.1, Abbildung 57). Als Höhepunkt wurde der Tag mit den meisten geöffneten Blüten gewählt. Das Ende der Blühperiode ist dann erreicht, wenn der gleitende Mittelwert zum ersten Mal unter 50 Blüten pro Tag sinkt. Der Quotient aus der Anzahl gebildeter Blüten und der Dauer der Blühperiode ergibt die Intensität der Blüte.

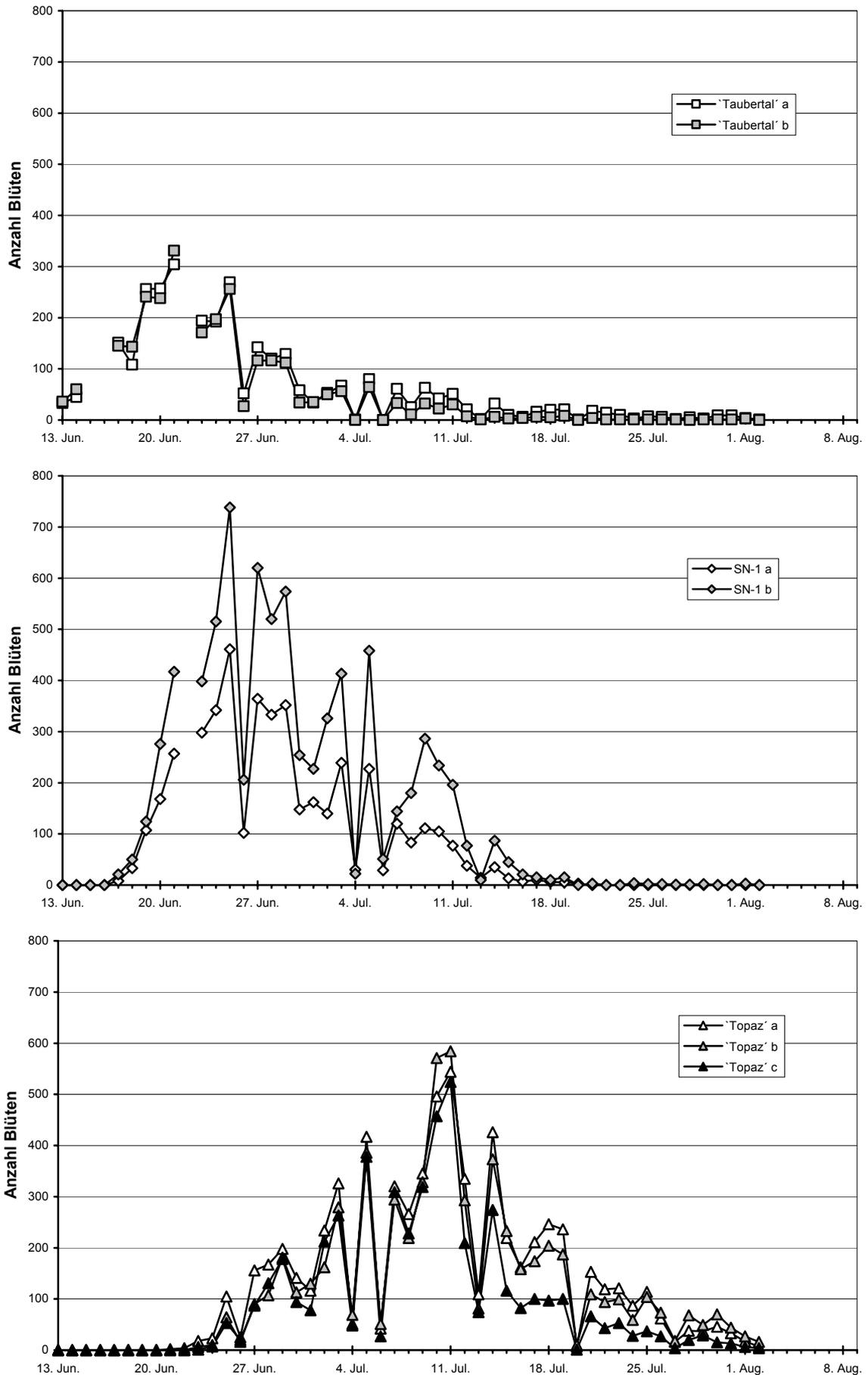


Abbildung 29: Blühverlauf bei 'Taubertal', SN-1 und 'Topaz'

Tabelle 53: Phänologische Daten zum Blühverlauf von 'Taubertal', SN-1 und 'Topaz'

Einzelpflanze	'Taubertal'		SN-1		'Topaz'		
	a	b	a	b	a	b	c
Blühbeginn	13. Juni	13. Juni	17. Juni	17. Juni	24. Juni	25. Juni	25. Juni
Höhepunkt	21. Juni	21. Juni	23. Juni	27. Juni	10. Juli	9. Juli	9. Juli
Ende der Blüte	2. Juli	2. Juli	13. Juli	14. Juli	28. Juli	31. Juli	22. Juli
Blühperiode/d	20	20	27	28	35	37	28
Blüten gesamt	2.794	2.717	4.593	7.772	6.616	6.103	4.542
Intensität in Bl./d	140	136	170	278	189	165	162

4.2 Entwicklung der Inhaltsstoffe in der Droge

4.2.1 Blühperiode

Für die Untersuchungen zur Entwicklung der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe in der Droge von 'Taubertal' (Klon TT-1) während der Blühperiode wurden die HPLC-Ergebnisse nach II 4.4 quantifiziert. Die ermittelten Inhaltsstoffgehalte sind in Tabelle 54 zusammengetragen. Die Maxima der einzelnen Inhaltsstoffe wurden durch Fettdruck hervorgehoben. Eine graphische Darstellung der Ergebnisse findet sich unter IV 3.2.

Tabelle 54: Ertrag und Inhaltsstoffgehalte im Verlauf der Blühperiode in g/kg ($n = 8$)

	18. Juni	19. Juni	20. Juni	21. Juni	24. Juni	26. Juni	28. Juni
Stadium	Vollblüte			abklingende Blüte			
Ertrag in g/Pfl.	28,4 ± 4,8	27,8 ± 6,7	29,3 ± 4,8	32,1 ± 7,3	30,7 ± 11,9	32,1 ± 18,9	30,5 ± 5,0
RUT	8,22 ± 0,58	7,65 ± 0,38	7,59 ± 0,63	7,04 ± 0,73	5,97 ± 0,37	5,71 ± 0,53	4,95 ± 0,33
H+I	18,67 ± 1,29	18,21 ± 1,26	18,37 ± 1,46	17,35 ± 1,00	15,56 ± 0,31	14,70 ± 0,65	14,01 ± 0,86
QIT	1,92 ± 0,10	1,87 ± 0,16	2,02 ± 0,16	1,89 ± 0,09	1,62 ± 0,30	1,54 ± 0,13	1,46 ± 0,19
QER	1,05 ± 0,07	1,11 ± 0,15	1,21 ± 0,16	1,24 ± 0,08	1,04 ± 0,11	0,93 ± 0,10	0,91 ± 0,09
BIA	1,91 ± 0,14	1,85 ± 0,26	1,74 ± 0,10	1,47 ± 0,09	1,20 ± 0,35	0,97 ± 0,18	0,84 ± 0,19
PPS	0,50 ± 0,08	0,44 ± 0,04	0,44 ± 0,08	0,37 ± 0,08	0,19 ± 0,10	0,13 ± 0,04	0,05 ± 0,03
PSH	1,53 ± 0,11	1,55 ± 0,14	1,76 ± 0,10	1,66 ± 0,09	1,44 ± 0,20	1,36 ± 0,07	1,31 ± 0,16
PHY	0,17 ± 0,04	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,03
HYP	0,50 ± 0,06	0,49 ± 0,03	0,53 ± 0,03	0,51 ± 0,03	0,46 ± 0,06	0,45 ± 0,07	0,40 ± 0,04
HFO	6,17 ± 0,58	6,48 ± 0,59	7,35 ± 0,83	8,38 ± 1,13	9,28 ± 1,16	9,26 ± 1,99	10,93 ± 2,56
AHF	1,04 ± 0,15	1,10 ± 0,11	1,31 ± 0,20	1,66 ± 0,30	2,05 ± 0,35	2,08 ± 0,55	2,61 ± 0,74

Im Verlauf der zeitlich eng gestaffelten Beerntung der Pflanzen während der Blühperiode ist eine tendenzielle Ertragszunahme zu erkennen. Dem stehen sehr unterschiedliche Entwicklungsverläufe bei den Inhaltsstoffgehalten gegenüber. Während Rutin, Hyperosid+Isoquerci-

trin und Biapigenin stetig abnehmen, steigen die Gehalte an Quercitrin und Quercetin zunächst bis zum dritten Erntetermin an, um dann wieder kontinuierlich abzunehmen. Auch Pseudohypericin und Hypericin zeigen am dritten Erntetermin ein leichtes Maximum, um danach sanft abzufallen. Die Protoformen der Hypericine gehen dagegen vom ersten Probetermin an beständig zurück. Geradezu entgegengesetzt verhalten sich die Gehalte der Phloroglucinderivate. Bei Hyperforin und Adhyperforin ist vom ersten Erntetermin an eine starke Zunahme zu verzeichnen.

4.2.2 Generative Phase

Tabelle 55 gibt die Entwicklung der Inhaltsstoffgehalte über den gesamten Verlauf der generativen Phase des Johanniskrautes vom Knospenstadium bis zur Kapselreife wieder ('Taubertal'-Klon TT-2). Die höchsten Werte für die einzelnen Inhaltsstoffe sind wieder durch Fettdruck hervorgehoben. Die Ergebnisse sind zusammen mit der oben gezeigten Entwicklung über den kürzeren Zeitraum der Blühperiode unter IV 3.2. graphisch dargestellt.

Tabelle 55: Ertrag und Inhaltsstoffgehalte im Verlauf der generativen Phase in g/kg ($n = 8$)

	<i>14. Juni</i>	<i>19. Juni</i>	<i>24. Juni</i>	<i>01. Juli</i>	<i>08. Juli</i>	<i>23. Juli</i>	<i>08. August</i>
Stadium	Blühbeginn	Vollblüte	abklingende Blüte	Ende Blüte	grüne Kapseln	erste reife Samen	reife Kapseln
Ertrag in g/Pfl.	20,5 ± 5,7	33,3 ± 10,4	34,1 ± 9,6	45,2 ± 16,1	41,9 ± 20,1	50,3 ± 26,7	keine Angabe
RUT	10,37 ± 1,07	7,72 ± 0,59	5,82 ± 0,42	4,21 ± 0,48	3,02 ± 0,50	1,51 ± 0,23	0,55 ± 0,00
H+I	20,85 ± 2,12	18,48 ± 1,33	15,06 ± 0,93	12,90 ± 0,97	8,83 ± 0,76	4,65 ± 0,30	1,24 ± 0,31
QIT	1,47 ± 0,18	1,88 ± 0,15	1,68 ± 0,25	1,24 ± 0,29	0,89 ± 0,12	0,47 ± 0,08	0,18 ± 0,00
QER	0,76 ± 0,14	1,05 ± 0,15	0,90 ± 0,11	0,85 ± 0,12	0,64 ± 0,06	0,40 ± 0,04	0,29 ± 0,09
BIA	1,55 ± 0,37	1,79 ± 0,20	1,22 ± 0,24	0,60 ± 0,19	0,45 ± 0,12	0,27 ± 0,00	-
PPS	0,57 ± 0,10	0,53 ± 0,09	0,33 ± 0,13	0,06 ± 0,02	-	-	-
PSH	1,03 ± 0,15	1,51 ± 0,12	1,36 ± 0,15	1,03 ± 0,20	0,81 ± 0,09	0,29 ± 0,04	0,08 ± 0,02
PHY	0,14 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,09 ± 0,04	0,03 ± 0,00	-	-	-
HYP	0,28 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,43 ± 0,05	0,37 ± 0,06	0,30 ± 0,04	0,11 ± 0,02	0,07 ± 0,02
HFO	4,63 ± 0,63	7,08 ± 1,02	10,13 ± 1,65	13,67 ± 1,87	15,35 ± 4,99	11,94 ± 2,52	2,61 ± 0,93
AHF	0,74 ± 0,11	1,31 ± 0,18	2,26 ± 0,54	3,40 ± 0,53	3,95 ± 1,15	3,72 ± 0,90	0,78 ± 0,18

Im Verlauf der Entwicklung vom Knospenstadium bis zur Kapselreife ist trotz hoher Standardabweichungen ein tendenzieller Ertragsanstieg erkennbar. Auch hier zeigen Rutin und Hyperosid+Isoquercitrin von Anfang an einen stark zurückgehenden Gehalt in der Droge. Quercitrin, Quercetin und Biapigenin können vom 14. auf den 19. Juni noch eine Zunahme verzeichnen, bevor auch sie allmählich abfallen. Dieselbe Tendenz ist auch bei den Naphthodianthronen zu beobachten, jedoch ist sie bei den Protoformen wesentlich weniger stark aus-

geprägt als bei den Endstufen Pseudohypericin und Hypericin. Ab dem fünften Probetermin sind die Protohypericine nicht mehr nachweisbar. Bei den Hyperforinen ist wieder ein sehr starker Anstieg zu verzeichnen, der am 08. Juli ein Maximum erreicht. Im Verlauf der beiden letzten Erntetermine gehen die Gehalte von Hyperforin und Adhyperforin sehr rasch bis auf ihr Ausgangsniveau zurück.

4.3 Entwicklung der Inhaltsstoffe in Einzelblüten

4.3.1 Blühverlauf

Abbildung 30 zeigt trotz vorhandener Schwankungen deutlich, dass das Trockengewicht der Blüten mit fortschreitendem Blühverlauf abnimmt. Die Abnahme bewegt sich im Zeitraum von ca. vier Wochen in einer Größenordnung von einem Drittel. Die Blüten der Selektion SN-1 besitzen ein geringeres Gewicht als die der Sorte 'Taubertal'. Der Vergleich der Einzelpflanzen der jeweiligen Herkunft zeigt eine hohe Übereinstimmung der Ergebnisse.

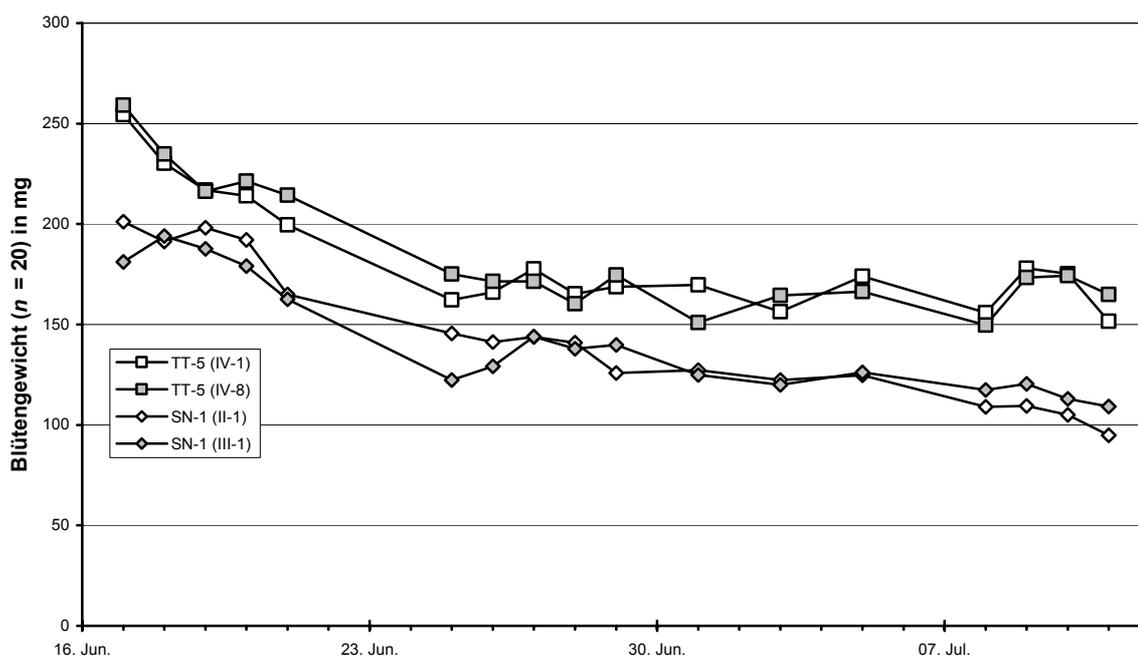


Abbildung 30: Entwicklung des Trockengewichtes von je 20 Blüten bei 'Taubertal' und SN-1

Der Vergleich der Mittelwerte für die Inhaltsstoffgehalte über einen Zeitraum von etwa vier Wochen (Abbildung 31) zeigt zunächst die bekannten Unterschiede zwischen der Sorte 'Taubertal' und der Selektion SN-1 (vgl. III 3.1.1). Charakteristisch für SN-1 ist das Fehlen von Rutin. Die übrigen Flavonoide sind in vergleichbarer Konzentration vorhanden. Bei SN-1 wurden höhere Gehalte an Protopseudohypericin und Pseudohypericin gemessen, während 'Taubertal' höhere Gehalte an Protohypericin und Hypericin aufwies. Für Hyperforin wurden bei SN-1 etwas höhere Konzentrationen gemessen als bei 'Taubertal'. Die Analysewerte der

Einzelpflanzen einer Herkunft stimmten wie bei den Blütengewichten gut überein. Die Standardabweichungen zeigen, dass die gemessenen Inhaltsstoffgehalte über den erfassten Zeitraum von fast vier Wochen innerhalb der natürlichen Schwankungsbreite lagen. Dabei waren die höchsten Schwankungen bei Biapigenin und den Protohypericinen zu verzeichnen.

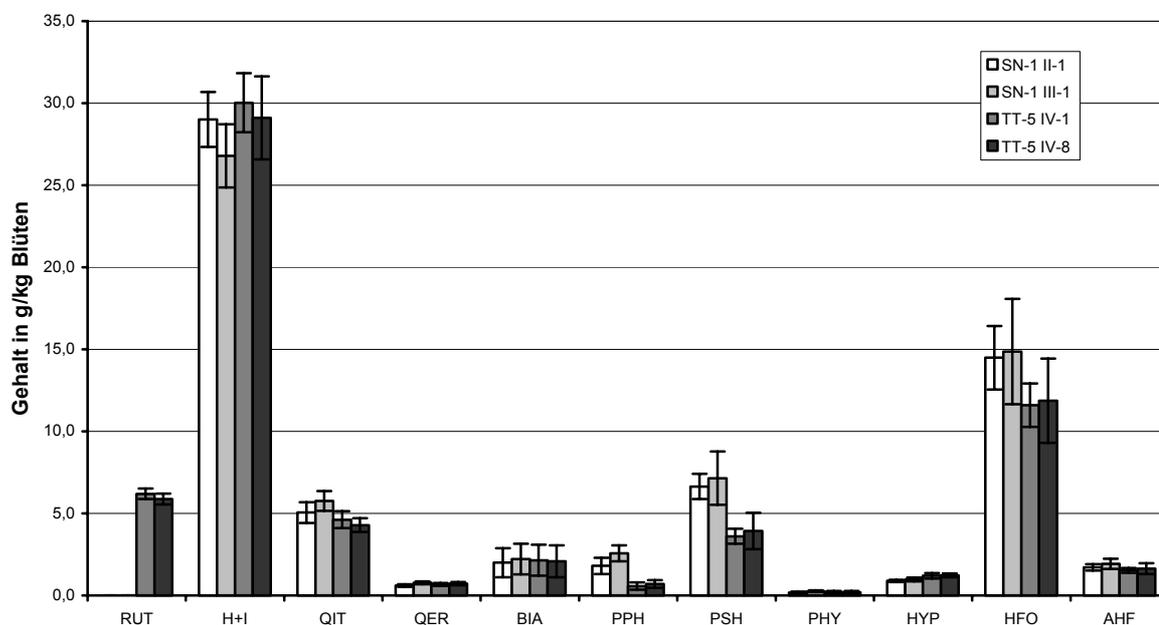


Abbildung 31: Mittelwerte für die Inhaltsstoffgehalte über ca. 4 Wochen ($n = 17$)

4.3.2 Tagesverlauf

Die Ergebnisse der Analysen von Blütenproben der Sorte 'Topaz', die im Verlauf eines Tages geerntet worden waren, sind zusammen mit dem Trockengewicht der 20 Blüten in Tabelle 56 aufgeführt. Offensichtlich zweifelhafte Messwerte stehen in Klammern. Das Trockengewicht der Blüten steigt bis 10.15 Uhr an und fällt im Verlauf des verbleibenden Tages unter das Ausgangsniveau ab. Die gemessenen Inhaltsstoffgehalte lassen keine generelle Abhängigkeit vom Erntezeitpunkt am Tag der Anthese erkennen. Eine Ausnahme bilden dabei Biapigenin, dessen Gehalt sich vom Morgen bis zur Mittagszeit halbiert, und Protopseudohypericin sowie Pseudohypericin, die im Verlauf des Vormittags ebenfalls einen Rückgang der Gehalte zeigen.

Im Vergleich zum Vortag wird deutlich, dass in den Blüten am Tag nach der Anthese ein deutlicher Anstieg der Quercetinkonzentration sowie des Hyperforin- und Adhyperforingehaltes erfolgt. Gleichzeitig sinken die Konzentrationen an Protopseudohypericin und Pseudohypericin weiter ab. Die Gehalte der restlichen Inhaltsstoffe verändern sich hingegen kaum bzw. zeigen keine eindeutige Tendenz in ihrer Entwicklung. Das Trockengewicht ist am Tag nach der Anthese erheblich geringer.

Tabelle 56: Entwicklung der Inhaltsstoffgehalte im Tagesverlauf in g/kg, Blütenproben 'Topaz'

Uhrzeit		Tag der Anthese						Tag nach Anthese			
		8:15	10:15	12:15	14:15	16:15	18:15	8:15	10:15	12:15	14:15
Gewicht in mg	Pfl. a	171,0	178,5	174,9	166,4	158,0	156,0	140,4	132,1	134,8	131,6
	Pfl. b	181,5	187,3	181,4	173,1	168,7	158,2	137,1	139,6	134,7	140,1
RUT	Pfl. a	4,5	4,6	4,5	4,4	5,1	(6,3)	5,3	4,7	4,6	4,8
	Pfl. b	4,4	4,7	4,5	4,2	(6,2)	5,0	4,9	4,8	4,6	5,0
H+I	Pfl. a	18,8	19,1	18,4	17,8	(25,8)	(27,7)	19,6	20,1	19,4	20,0
	Pfl. b	18,1	19,0	18,2	17,0	(26,1)	17,5	20,1	19,4	18,9	19,6
QIT	Pfl. a	3,7	3,9	3,5	3,1	(5,1)	3,5	3,7	3,3	3,4	3,0
	Pfl. b	3,4	(4,5)	2,8	3,1	3,2	3,4	2,8	2,9	3,7	2,7
QER	Pfl. a	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,6	1,5	1,7	1,4
	Pfl. b	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5	1,4	1,5	1,5	1,3
BIA	Pfl. a	2,7	1,9	1,2	1,2	1,1	1,1	1,2	1,2	1,1	1,0
	Pfl. b	2,5	1,6	0,9	1,0	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0
PPS	Pfl. a	0,9	0,8	0,7	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,0	0,0
	Pfl. b	1,0	0,7	0,5	0,7	0,5	0,5	0,0	0,4	0,0	0,0
PSH	Pfl. a	5,3	4,9	4,8	4,3	4,5	4,6	4,5	4,6	4,2	3,6
	Pfl. b	5,1	4,5	3,9	4,2	4,0	4,1	3,7	3,8	4,0	3,3
PHY	Pfl. a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Pfl. b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
HYP	Pfl. a	0,7	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	0,7	0,7	0,6	0,6
	Pfl. b	1,4	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	(1,3)
HFO	Pfl. a	15,5	14,4	14,3	14,6	14,5	14,2	17,7	18,4	14,8	19,6
	Pfl. b	14,8	15,0	15,3	15,1	15,2	15,6	19,3	18,6	16,5	21,5
AHF	Pfl. a	2,3	2,2	2,2	2,3	2,3	2,4	2,9	3,1	2,4	(1,0)
	Pfl. b	2,1	2,2	2,3	2,4	2,4	2,5	3,1	3,0	2,8	3,4

4.3.3 Positionseffekte

Bezüglich des Blütengewichtes und des Gehalts an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen konnten nur teilweise Abhängigkeiten von der Ordnung der Einzelblüte oder der Teilinfloreszenz (vgl. Abbildung 12) festgestellt werden. Da die Herkunft SN-1 kein Rutin bildet, liegen dazu keine Daten vor. Ausgehend von annähernd gleichen Gehalten (bis $\pm 5\%$) einzelner Positionen im Vergleich zum Mittelwert aller Positionen wurde eine Einteilung von einem geringen (bis $\pm 10\%$) über einen mittleren (bis $\pm 15\%$) bis hin zu einem hohen Einfluss (bis $\pm 20\%$) vorgenommen. Bei einigen Inhaltsstoffen wie zum Beispiel Biapigenin schwankten die Messwerte so stark, dass keinerlei Tendenz zu Positionseffekten erkennbar war.

Die Einteilungen in Tabelle 57 lassen erkennen, dass die Position einer Blüte einen deutlichen Einfluss auf das Blütengewicht und den Gehalt an Quercitrin hat. Auf die Gehalte an Quercetin, Protopseudohypericin und Pseudohypericin wirkt sich die Position der Blüten weniger stark aus. Der Einfluss der Ordnung der Blüte innerhalb einer Teilinfloreszenz ist dabei wesentlich größer als der Einfluss zwischen den Teilinfloreszenzen. Für die restlichen untersuchten Inhaltsstoffe konnte kein Zusammenhang zwischen der Position am Blütenstand und ihrer Konzentration in der Blüte nachgewiesen werden.

Tabelle 57: Einfluss von Positionseffekten auf Gewicht und Inhaltsstoffgehalte

	<i>Ordnung</i>	<i>Infloreszenz</i>
Gewicht	hoch ¹	keiner
Hyperosid+Isoquercitrin	keiner	keiner
Quercitrin	hoch	keiner
Quercetin	mittel	gering
Biapigenin	ohne Tendenz	ohne Tendenz
Protopseudohypericin	mittel	keiner
Pseudohypericin	ohne Tendenz	ohne Tendenz
Protohypericin	mittel	ohne Tendenz
Hypericin	ohne Tendenz	ohne Tendenz
Hyperforin	keiner	ohne Tendenz
Adhyperforin	keiner	keiner

¹kein Einfluss = bis $\pm 5\%$
geringer Einfluss = bis $\pm 10\%$
mittlerer Einfluss = bis $\pm 15\%$
hoher Einfluss = bis $\pm 20\%$

Im Folgenden sind die Einflüsse der Blütenposition (vgl. Abbildung 12) auf das Blütengewicht und die Gehalte an Quercitrin und Quercetin graphisch dargestellt.

Abbildung 32 zeigt, dass die Position einen deutlichen Einfluss auf das Blütengewicht ausübt. Dabei werden die Blüten mit zunehmender Ordnung an der Teilinfloreszenz kleiner. An welcher Teilinfloreszenz die Blüte sitzt, hat keinen sichtbaren Einfluss auf das Blütengewicht.

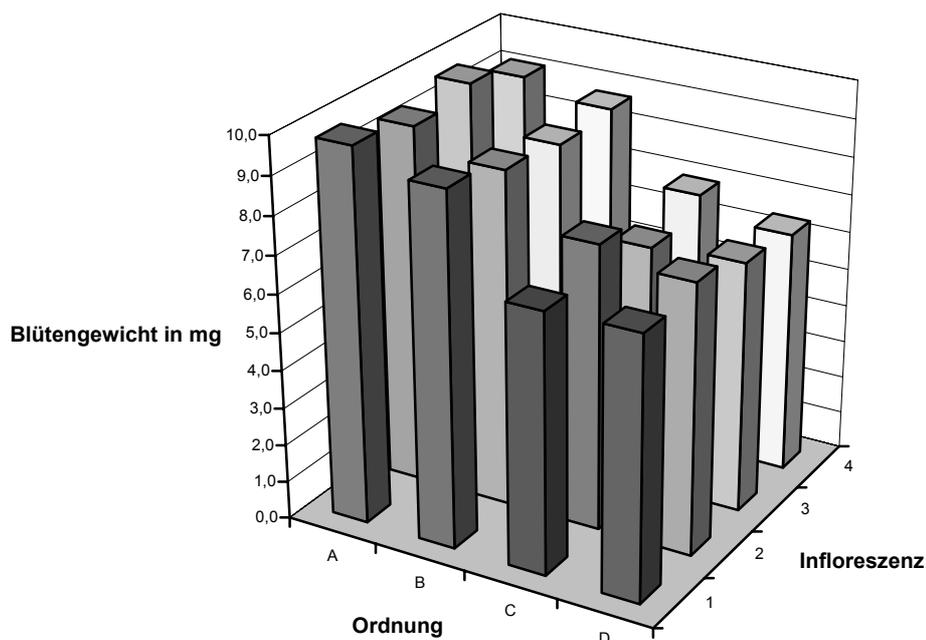


Abbildung 32: Einfluss der Position am Blütenstand auf das Blütengewicht

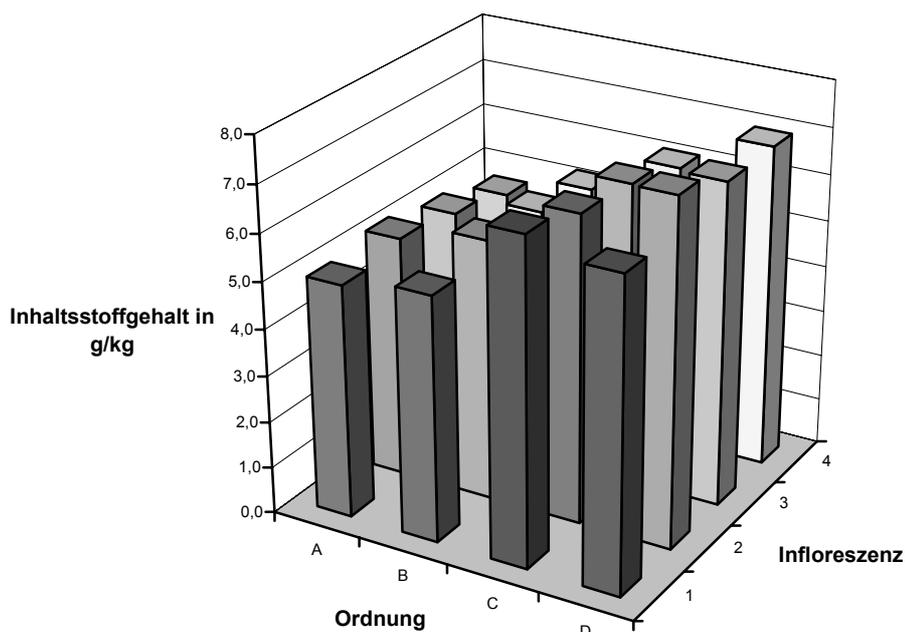


Abbildung 33: Einfluss der Blütenposition auf den Quercitringehalt

Es wurde nachgewiesen, dass der Quercitringehalt einer Blüte in Abhängigkeit von der Ordnung an der Teilinfloreszenz deutlich ansteigt (vgl. Abbildung 33). Die Position der Teilinfloreszenz hat auf den Quercitringehalt keinen Einfluss.

Der Quercetingehalt einer Blüte fällt deutlich mit zunehmender Ordnung innerhalb einer Teilinfloreszenz aber auch mit der Position der Teilinfloreszenz selbst ab (vgl. Abbildung 34). Die Blüte in terminaler Position (A1) weist demnach eine deutlich höhere Konzentration an Quercetin auf als eine Blüte der Ordnung D an der vierten Teilinfloreszenz. Für die Blüten auf Position C1 wurde kein sinnvoller Wert gemessen.

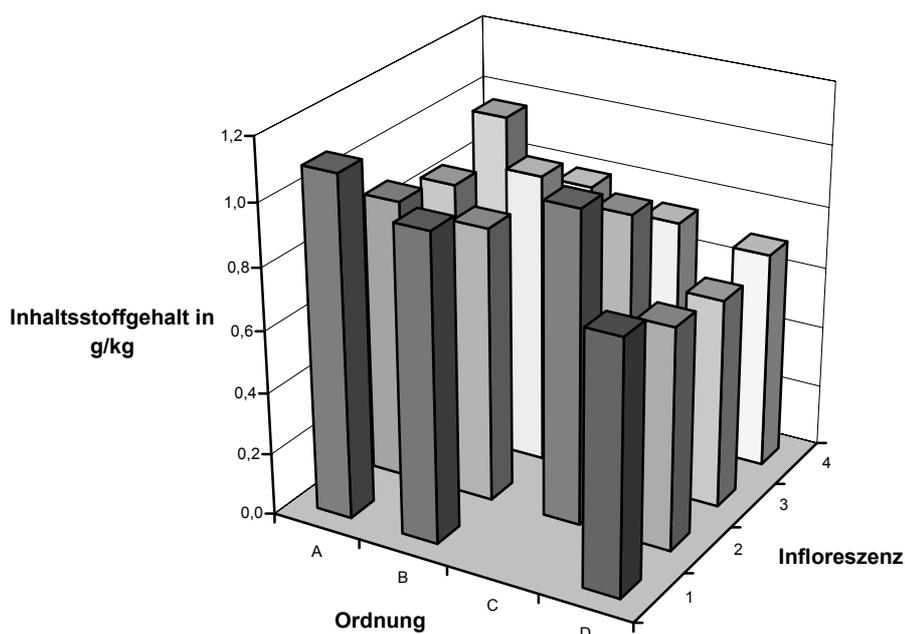


Abbildung 34: Einfluss der Blütenposition auf den Quercetingehalt

4.3.4 Lokalisation in den Blütenorganen

Tabelle 58 gibt das Trockengewicht der verschiedenen Blütenorgane bei der Herkunft NF-1 wieder. Die Petalen wurden aufgrund ihres großen Volumens in zwei Proben aufgeteilt.

Tabelle 58: Trockengewicht der einzelnen Blütenorgane von NF-1

<i>Blütenorgan</i>	<i>von n Blüten</i>	<i>Trockengewicht/mg</i>
Sepalen	<i>n = 50</i>	98,9
Petalen 1	<i>n = 25</i>	135,6
Petalen 2	<i>n = 25</i>	148,9
Stamina	<i>n = 50</i>	151,0
Pistille	<i>n = 50</i>	76,2

Anschließend sind in Abbildung 35 die Konzentrationen der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe in den einzelnen Blütenorganen dargestellt.

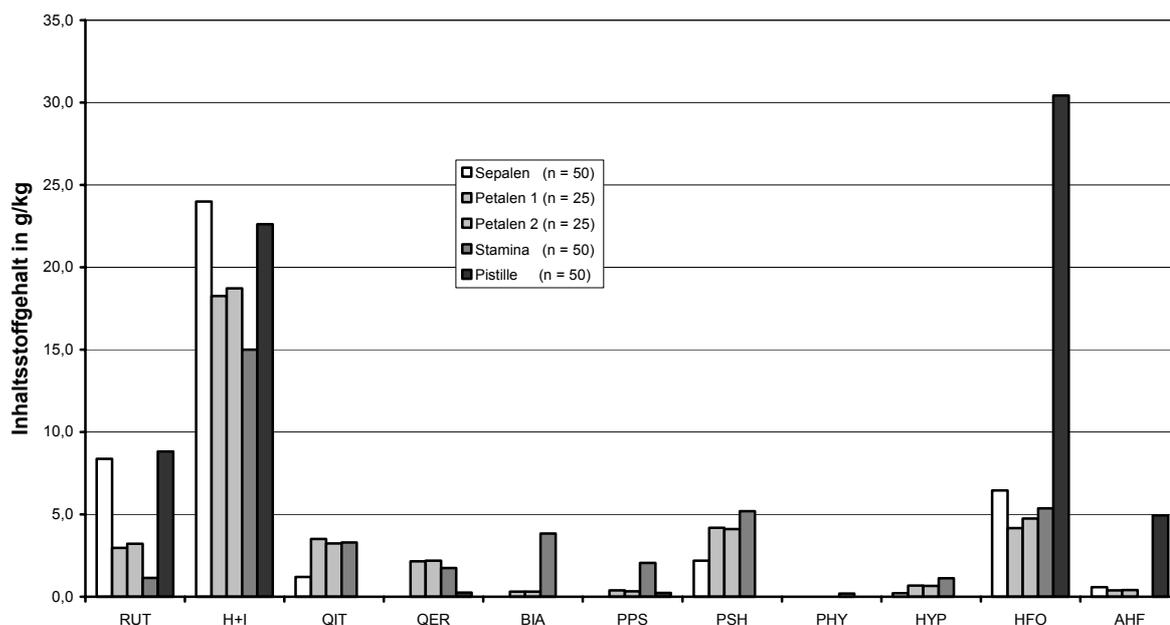


Abbildung 35: Konzentration der Inhaltsstoffe in den einzelnen Blütenorganen von NF-1

Es ist festzuhalten, dass die Werte für die beiden Petalenproben sehr gut übereinstimmen. Rutin zeigt eine deutlich erhöhte Konzentration in den Sepalen und im Pistill. Bei Hyperosid+ Isoquercitrin tritt dasselbe Grundmuster mit weniger gravierenden Unterschieden auf. Quercitrin und Quercetin treten höher konzentriert in den Petalen und Stamina auf. Quercitrin fehlt jedoch völlig im Pistill, während kein Quercetin in den Sepalen nachzuweisen ist. Biapigenin ist in den Stamina sehr hoch konzentriert und kommt sonst nur noch in geringen Konzentrationen in den Petalen vor.

Die höchsten Gehalte an Naphthodianthronen wurden in den Stamina, gefolgt von den Petalen, erreicht. Dabei zeigen Pseudohypericin und Hypericin zwar unterschiedliche Konzentrationen, die Verhältnisse sind jedoch gleich. Protopseudohypericin war in den Sepalen nicht nachweisbar und erreichte die höchste Konzentration ebenfalls in den Stamina. Protohypericin war nur dort nachzuweisen. Es fällt auf, dass im Pistill bis auf Spuren von Protopseudohypericin keine Naphthodianthrone vorliegen. Dort finden sich hohe Konzentrationen an Phloroglucinderivaten. Während Hyperforin in allen anderen Organen in nennenswerter Menge vorhanden ist, kommt Adhyperforin in den Stamina nicht vor.

4.3.5 Knospenentwicklung

Im Verlauf der Knospenentwicklung über sechs Stadien (vgl. II 5.3.5, Abbildung 13) sind deutliche Veränderungen bei allen Inhaltsstoffgruppen zu verzeichnen. Während die Konzentrationen von Rutin und Quercitrin nur eine geringe Zunahme erkennen lassen, verdoppelt sich der Gehalt an Hyperosid+Isoquercitrin (Abbildung 36). Quercetin erreicht sein Maximum in Stadium IV, um dann bis zur Anthese im Stadium VI deutlich unter das Ausgangsniveau abzufallen. Eine sehr starke Zunahme um das etwa Zehnfache ist bei Biapigenin bis zum Stadium V zu beobachten. Zur Anthese nimmt der Biapigeningehalt dann wieder deutlich ab.

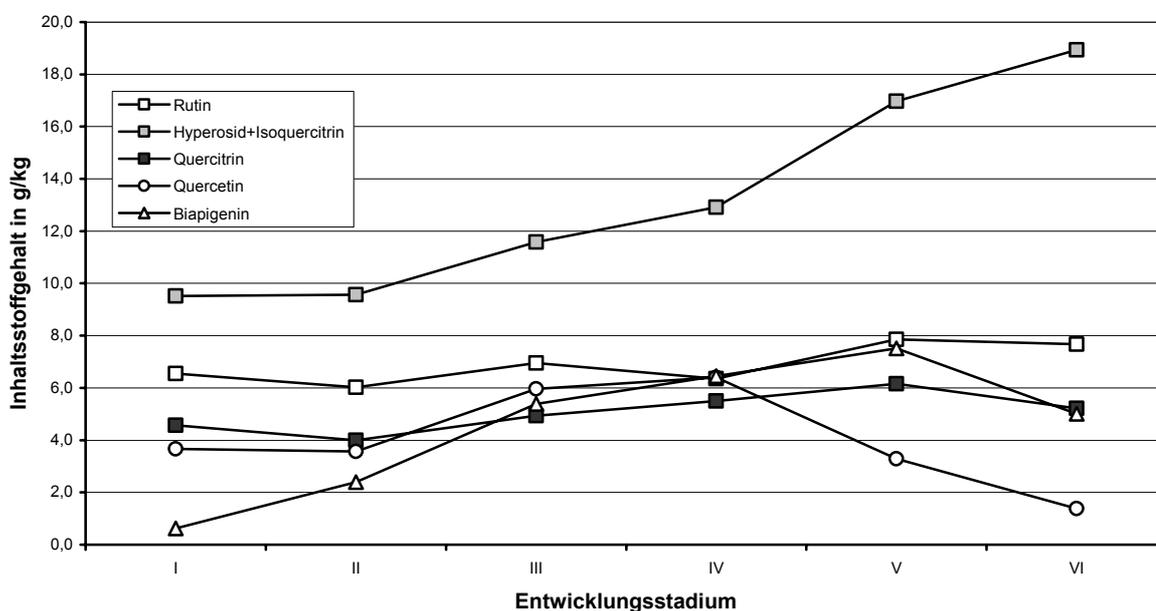


Abbildung 36: Entwicklung der Flavonoide im Verlauf der Knospenentwicklung bei UN-4

In Abbildung 37 ist die Entwicklung der Pseudohypericingehalte auf der Primär- und die der Hypericingehalte auf der Sekundärachse aufgetragen. Die Gehalte der Protoformen nehmen bis zum Stadium V beständig zu, um dann während der Blüte sichtbar zurückzugehen. Bei den Endstufen ist hingegen trotz eines leichten Rückganges von Hypericin im Stadium II eine kontinuierliche Zunahme bis auf mehr als den doppelten Wert bei der Anthese zu beobachten.

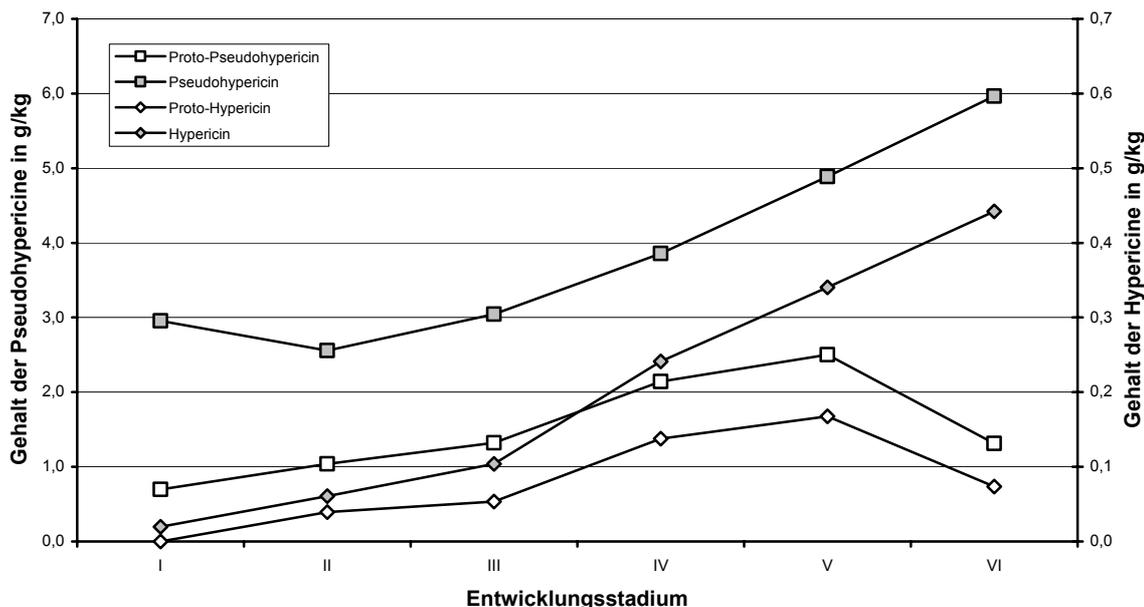


Abbildung 37: Entwicklung der Naphthodianthrone in Knospen von UN-4

Hyperforin (vgl. Abbildung 38) verhält sich entsprechend einer Kombination aus den beiden oben besprochenen Verläufen. Im Stadium II ist gegenüber dem Stadium I ein leichter Rückgang zu verzeichnen. Anschließend nimmt die Konzentration wieder zu, bis der Wert bei der Anthese erneut zurückgeht. Adhyperforin zeigt tendenziell den gleichen Verlauf, allerdings ohne im Stadium VI abzusinken.

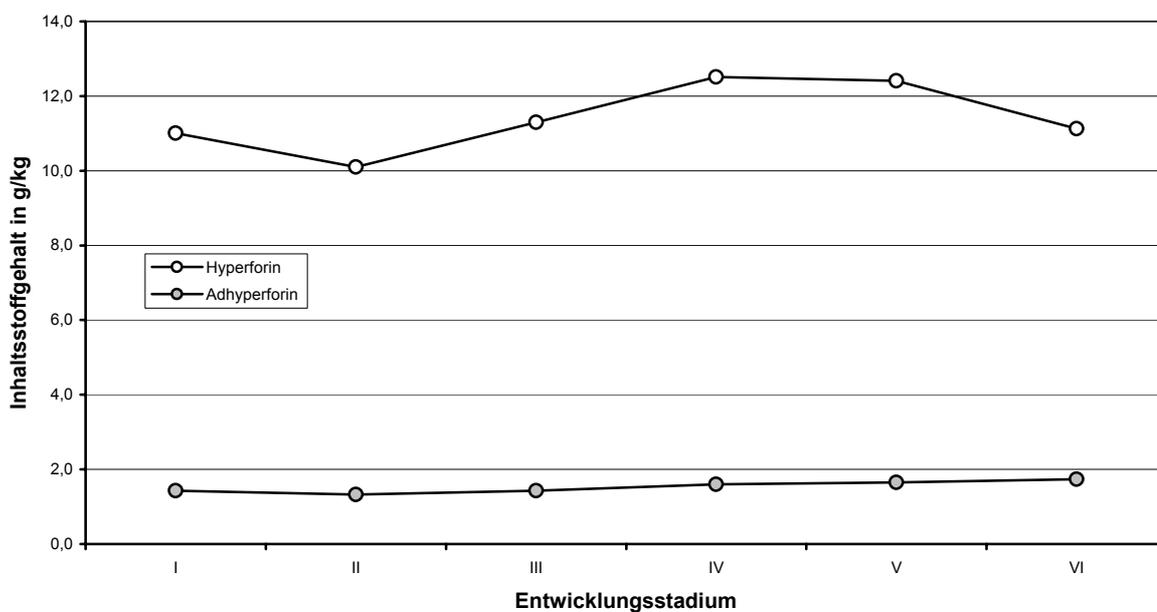


Abbildung 38: Entwicklung der Phloroglucinderivate in Knospen von UN-4

IV Diskussion

1. Feldversuche

Abbildung 39 zeigt den zeitlichen Ablauf der einzelnen Versuchspflanzungen im vorliegenden Projekt. Sie macht deutlich, dass es in den Jahren 2001 und 2002 schon aus arbeits-technischen Gründen notwendig war, Prioritäten zu setzen. Darüber hinaus entwickelten sich aufgrund des Potentials im zusammengetragenen Pflanzenmaterial und infolge neuer Fragestellungen ganz unterschiedliche Schwerpunkte innerhalb der einzelnen Feldversuche.

Während bei der Auswertung der Blockanlage (BA) im zweiten Standjahr die statistische Absicherung morphologischer Unterschiede im Mittelpunkt stand, rückten im dritten Standjahr die Überlegungen zur Physiologie der Ertragsbildung in den Vordergrund. Die Bewertung der Herkünfte im Zweisatzgitter (ZG) und in der Linienanlage (LA) zielte in erster Linie auf die Erfassung der natürlich vorhandenen Variabilität bezüglich der morphologischen, agronomischen und pharmakologischen Merkmale ab.

In den folgenden Unterkapiteln werden die Ergebnisse aus der Erfassung morphologischer und agronomischer Merkmale für die jeweiligen Feldversuche bewertet und die einzelnen Feldversuche zusammenfassend diskutiert. Ein ausgewählter Teil der gewonnenen Versuchsergebnisse geht in exemplarischer Form in die Entwicklung der Selektionskriterien ein (siehe IV 4) und wird dort ausführlicher behandelt.

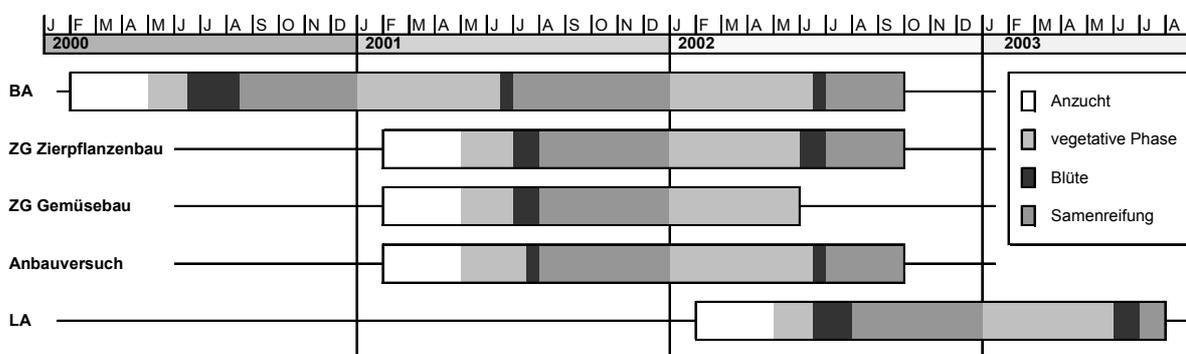


Abbildung 39: Diagramm zu den Versuchspflanzungen

1.1 Blockanlage

Die vorrangigen Ziele der Blockanlage waren, die Sorten und Herkünfte zu sichten, ihre Anbaueignung zu untersuchen und morphologische Unterschiede durch statistische Verrechnung von Messergebnissen zu bestätigen. Es zeigte sich sehr bald, dass eine Auswertung aller Versuchspartellen zum einen an der Heterogenität einiger Herkünfte und zum anderen an den zunehmenden Fehlstellen durch Befall mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* scheitern würde. Eine Schwierigkeit, mit der auch zahlreiche andere Arbeitsgruppen, die sich mit dem Anbau

von Johanniskraut beschäftigen, konfrontiert wurden (z.B. POUTARAUD and GIRARDIN 2004). Im Pflanzjahr kam hinzu, dass die Pflanzen aus *in-vitro*-Kultur im Unterschied zu den samenvermehrten Herkünften einen kriechenden Wuchs zeigten und erst im Laufe der Vegetationsperiode bestockten. Aufgrund dieser höchst untypischen Entwicklung, die auch ČELLÁROVÁ et al. (1994) beobachteten, wurde das erste Versuchsjahr ausschließlich zur Erarbeitung morphologischer Unterscheidungskriterien genutzt. Im zweiten Standjahr konnten sechs Sorten und Herkünfte einer intensiveren Bewertung unterzogen werden, die im dritten Standjahr bei drei Herkünften fortgesetzt wurde. Daneben wurde die Versuchsanlage für die Untersuchungen zur Physiologie der Ertragsbildung in Anspruch genommen.

Homogenität

Die Parzellen der Herkünfte aus *in-vitro*-Vermehrung zeichneten sich durch eine hohe Homogenität aus. Die sautgutvermehrten Herkünfte wiesen hingegen ein sehr unterschiedliches Maß an Homogenität auf. Die Herkünfte M. Bauer und Austroaat, die als Saatgut unter der Bezeichnung Johanniskraut gehandelt wurden, und der Stamm B aus eigener Sammlung zeigten erwartungsgemäß eine relativ hohe phänotypische Variabilität. Im Unterschied dazu bildeten die ebenfalls aus Saatgut angezogenen Sorten 'Taubertal' und 'Goldstern' sehr einheitliche, sortenreine Bestände (Tabelle 59). Wider Erwarten erwiesen sich jedoch die beiden Saatgutlieferungen der Sorte 'Topaz' als Gemische weniger ähnlicher, aber phänotypisch deutlich abgrenzbarer Stämme. Die Unterschiede beschränkten sich dabei nicht nur auf den Habitus, sondern erstreckten sich auch auf den Blühbeginn der einzelnen Subtypen (vgl. Tabelle 27 und Abbildung 40). Die beiden Akzessionen von 'Topaz' waren ähnlich inhomogen, unterschieden sich dabei aber im Anteil der verschiedenen Subtypen.

Tabelle 59: Übersicht zur Homogenität der sautgutvermehrten Herkünfte in der Blockanlage

<i>Genotyp</i>	<i>Homogenität</i>	<i>Kommentar</i>
'Taubertal'	sehr homogen	Homogenität setzt sich bei den Einzelpflanzenklonen (TT) fort
'Topaz' I + II	inhomogen	Mischung weniger verschiedener aber relativ ähnlicher Phänotypen
'Goldstern'	sehr homogen	extrem anfällig für <i>Colletotrichum</i> cf. <i>gloeosporioides</i>
Stamm B	heterogen	Mischung verschiedener breitblättriger Phänotypen
M. Bauer	sehr heterogen	hohe phänotypische Variabilität, viele interessante Einzelpflanzen
Austroaat	sehr heterogen	hohe phänotypische Variabilität, nur als Randpflanzen im Versuch

Blühbeginn

Im Vergleich der Versuchsjahre 2001 und 2002 wird deutlich, dass der Blühbeginn der untersuchten Herkünfte zwar um wenige Tage verschoben ist, die Reihenfolge jedoch unverändert bleibt. In beiden Standjahren blühten die Sorte 'Taubertal' und ihr Klon TT-3 gleichzeitig

als erste auf. Wenig später kam die Wildherkunft P-1 zur Blüte. Die Selektionen SN-1 und SR-2 blühten etwa eine Woche später als 'Taubertal', während sich der Blühbeginn der beiden inhomogenen Akzessionen von 'Topaz' über einen längeren Zeitraum erstreckt.

Abbildung 40 stellt für jede untersuchte Herkunft den blockweisen Zusammenhang zwischen dem Blühbeginn in den Versuchsjahren 2001 und 2002, also dem zweiten und dritten Standjahr, her. Die abweichende Form der Darstellung des Blühtermins der Sorte 'Topaz' ergibt sich aus der inhomogenen Entwicklung der einzelnen Pflanzen innerhalb der Parzellen. Die Fehlerbalken geben dabei ausgehend vom Mittelwert einer Parzelle den frühesten bzw. spätesten Blühbeginn innerhalb der Parzelle an.

Obwohl der Blühbeginn im dritten Standjahr bei allen Herkünften um etwa zwei bis fünf Tage früher lag und die Herkünfte in kürzerem Abstand aufblühten, bleibt die Gruppierung von 'Taubertal' und TT-3 sowie die Reihenfolge der untersuchten Herkünfte erhalten. Deshalb kann aufgrund des Blühbeginns im zweiten Standjahr – abhängig vom Wetterverlauf – eine relativ genaue Prognose ($R^2 = 0,8848$) für den Blühbeginn im dritten Standjahr gemacht werden.

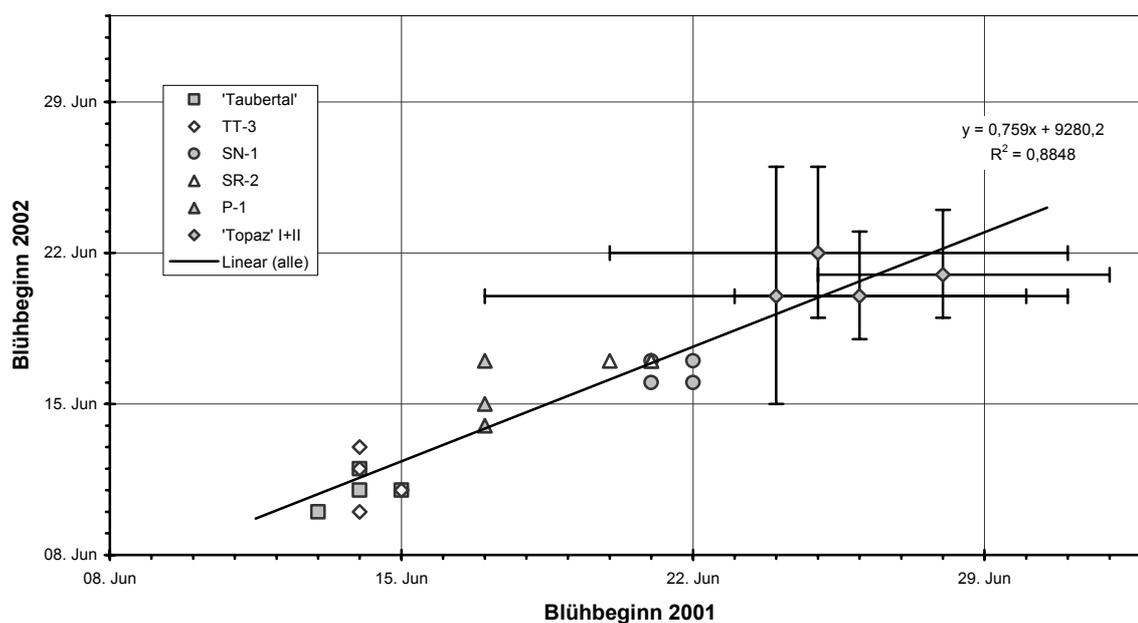


Abbildung 40: Blockweiser Vergleich des Blühbeginns 2001 und 2002, Blockanlage

Habitus

Die Einzelpflanzenklone TT-1 bis TT-8 der Sorte 'Taubertal' sind sowohl untereinander als auch in Bezug auf die Stammsorte 'Taubertal' phänotypisch nicht zu unterscheiden. Der exemplarische Vergleich der Messergebnisse von 'Taubertal' und TT-3 bestätigt diese Beobachtung in beiden Versuchsjahren.

Im Versuchsjahr 2001, dem zweiten Standjahr, erreichte die Sorte 'Topaz' eine Höhe von einem Meter und wurde damit deutlich höher als die anderen untersuchten Herkünfte. Unter ihnen ließ sich nur zwischen der niedrigsten Herkunft SN-1 und der zweithöchsten Herkunft P-1 ein signifikanter Höhenunterschied nachweisen. Die beiden höchsten Herkünfte 'Topaz' und P-1 wiesen im Gegenzug zusammen mit SR-2 die wenigsten Triebe auf. Bei weitem die höchste Triebzahl erreichte SN-1, während 'Taubertal' und TT-3 im Mittelfeld blieben. Der Erntehorizont zeigte bei SN-1 die geringste Ausdehnung, relativ dicht gefolgt von P-1, SR-2 und 'Topaz'. Bei der Sorte 'Taubertal' und ihrem Klon TT-3 wurde mit etwas Abstand der breiteste Erntehorizont gemessen. Abbildung 41 illustriert die gewonnenen Mittelwerte in Form von stilisierten Pflanzen. Die proportionale Darstellung zeigt die Pflanzenhöhe als Kastenhöhe, die Triebzahl als Kastenbreite und den Erntehorizont als helle Teilfläche.

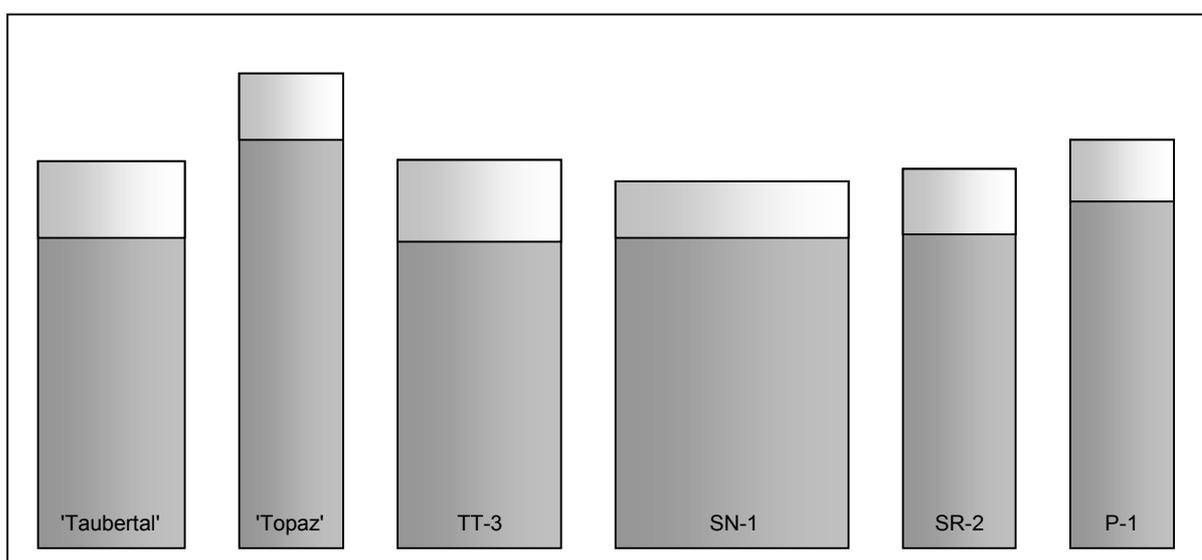


Abbildung 41: Ikonogramme für den Habitus (Höhe, Triebzahl, Erntehorizont), Blockanlage 2001

Die Daten des Versuchsjahres 2002 für 'Taubertal', TT-3 und SN-1 spiegeln die Ergebnisse des Vorjahres wider. Allerdings war ein sichtbarer Vitalitätsverlust zu verzeichnen, der sich in einem deutlichen Rückgang der Pflanzenhöhe und der Triebzahl sowie einer zunehmenden Ausdehnung des Erntehorizontes äußerte.

Ertrag

In Anbetracht der hohen Standardabweichungen waren hinsichtlich des Frisch- bzw. Drogengewichtes keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Herkünften zu erwarten. Lediglich die Herkünfte mit dem niedrigsten (P-1) und höchsten Ertrag ('Taubertal') lassen sich statistisch abgesichert als verschieden einstufen. Das im Vergleich zu den anderen Herkünften stark abweichende Eintrocknungsverhältnis und der unerwartet hohe Drogenertrag der Herkunft SR-2 deuten darauf hin, dass das Erntegut einen hohen Stängelan-

teil aufwies oder sich bis zur Ernte bereits ein hoher Kapselanteil gebildet hatte. Bei der zweiten Ernte lieferten 'Taubertal' und TT-3 aufgrund der früheren Blüte einen höheren Ertrag als SN-1, wohingegen die restlichen Herkünfte keine nennenswerte zweite Blüte mehr hervorbrachten. Im darauffolgenden Jahr schlug sich der oben geschilderte Vitalitätsverlust der Pflanzen in einem Ertragsrückgang nieder. Dieser betrug bei 'Taubertal' und TT-3 etwa ein Drittel und bei SN-1 etwa ein Viertel gegenüber dem Vorjahr, sodass alle Herkünfte einen ähnlich hohen Ertrag erzielten. Das höhere Eintrocknungsverhältnis im Vergleich zum Vorjahr ist eine Folge des vergrößerten Erntehorizontes und des daraus resultierenden höheren Stängelanteiles in der Droge. Obwohl der Blühbeginn früher lag als im Vorjahr, verfügten die Pflanzen nicht über die nötigen Reserven für eine verwertbare zweite Blüte.

Zusammenfassende Bewertung

Alle Herkünfte aus *in-vitro*-Vermehrung waren absolut homogen, entwickelten aber im Pflanzjahr einen vollkommen anderen Habitus als die Sämlinge der saatgutvermehrten Herkünfte (vgl. III 1.1.1). Im Handel befindliches Johanniskrautsaatgut zeigte eine hohe Variabilität, während die Johanniskrautsorten aufgrund der apomiktischen Fortpflanzungsweise sehr homogene Bestände bildeten. Eine Ausnahme bildete die Sorte 'Topaz', deren Saatgutakzessionen nicht sortenrein waren.

Mit der Auswahl der Sorten 'Taubertal' und 'Topaz' für die detaillierten Untersuchungen wurde ein direkter Bezug zur aktuellen Situation im praktischen Johanniskrautanbau hergestellt. Die exemplarische Gegenüberstellung von 'Taubertal' und dem Einzelpflanzenklon TT-3 zeigte anschaulich die Äquivalenz von Saatgutvermehrung und *in-vitro*-Vermehrung, die in der apomiktischen Fortpflanzungsweise von Johanniskraut begründet ist. Die Auswahl der Selektionen SN-1 und SR-2 sowie der Wildherkunft P-1 war von besonderem züchterischem Interesse, da diese Herkünfte einen Ausschnitt der natürlichen Variabilität repräsentieren und gleichzeitig ein gutes agronomisches Potential aufweisen.

Die Entscheidung, den Versuch als Blockanlage durchzuführen, erwies sich trotz der Pflanzen- bzw. Sortenverluste durch *Colletotrichum cf. gloeosporioides* als richtig. Auch wenn die Daten keine zuverlässige Selektion auf das Merkmal Ertrag erlaubten, ließen sich die sorten- und herkunftstypischen Unterschiede im Habitus statistisch auf einem hohen Niveau absichern. Schließlich lieferten die Pflanzen im dritten Standjahr wertvolles Ausgangsmaterial, um grundlegende Fragestellungen zur Ertragsphysiologie zu bearbeiten. Die Erfahrungen über drei Versuchsjahre zeigen, dass sich eine Blockanlage im Züchtungsprozess einer neuen Johanniskrautsorte sehr gut zur intensiven und längerfristigen Beobachtung von wenigen Herkünften, Selektionen und Sorten auf einem bereits fortgeschrittenem Selektionsniveau eignet.

1.2 Zweisatzgitter

Im Unterschied zur Blockanlage, die im Vorjahr gepflanzt worden war, stand bei der Planung des Zweisatzgitters bereits eine größere Anzahl von Selektionen aus den Arbeiten von MANN (2003) und aus mehreren Wildsammlungen zur Verfügung (vgl. Tabelle 9). Ziel des Versuches war, die natürliche Variabilität und die positiven Eigenschaften der Selektionen und Wildherkünfte im Vergleich zu 'Taubertal' als externen und der Selektion SN-1 als internen Standard zu erfassen und Selektionskriterien abzuleiten. Aufgrund der hohen Ausfälle durch *Colletotrichum cf. gloeosporioides*, von denen besonders die Versuchsfläche Gemüsebau betroffen war, konnte keine sinnvolle statistische Bearbeitung der Daten vorgenommen werden. Dennoch belegen die gewonnenen Ergebnisse die hohe phänotypische Variabilität der untersuchten Herkünfte und zeigen das züchterische Potential im Vergleich zu den gewählten Standards auf. Von der Fläche Gemüsebau gehen nur die Daten zum Welkebefall in die Bewertung ein.

Triebzahl

Die Anzahl der Triebe lag bei den untersuchten Herkünften in einem Wertebereich von 10,2 bis 28,9 Triebe pro Pflanze. Beginnend bei 10 Trieben/Pfl. werden bis zu einem Maximum von 30 Trieben fünf gleich große Kategorien mit einem Umfang von vier Trieben gebildet. Wie in Abbildung 42 ersichtlich, beschränkt sich ein Großteil (62,5 %) der natürlichen Variabilität auf den Bereich mit eher niedrigen Triebzahlen von 10 bis 18 Trieben/Pflanze. Ein Viertel der Herkünfte, darunter die Sorte 'Taubertal' (19,2 Triebe/Pfl.), weist eine mittlere Triebzahl von 18 bis 22 Trieben/Pfl. auf, während sich nur ein Achtel durch mehr als 22 Triebe/Pfl. auszeichnet.

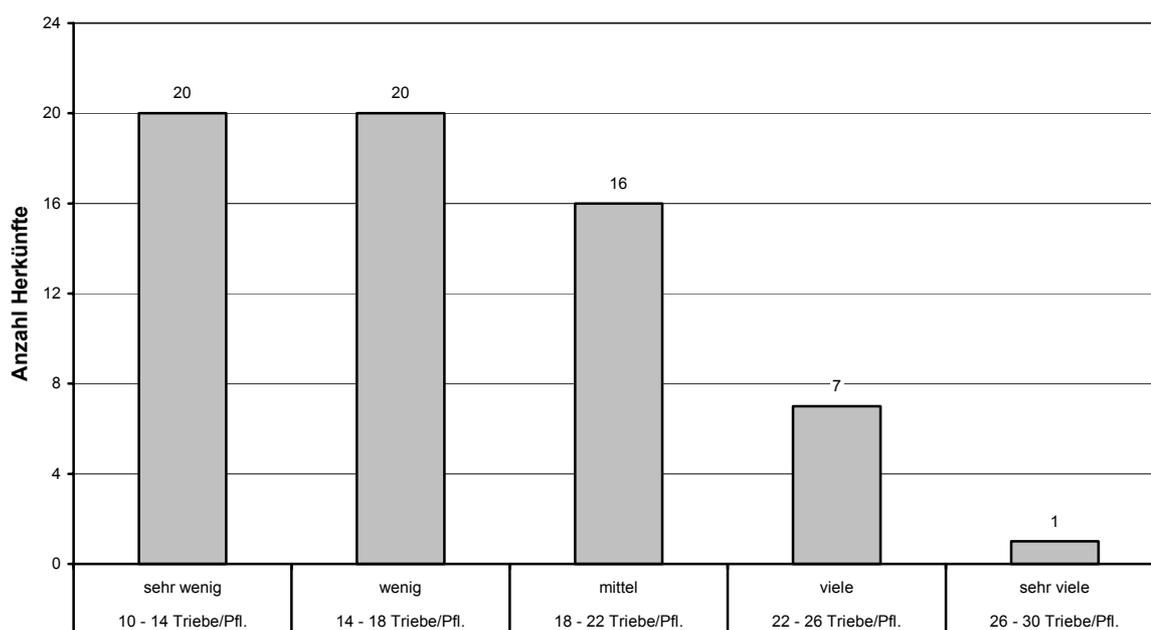


Abbildung 42: Anzahl Triebe/Pfl., Zweisatzgitter 2001

Standfestigkeit

Wie in Abbildung 43 ersichtlich, erfüllt die Standfestigkeit im Pflanzjahr bei 35 Herkünften, darunter auch 'Taubertal' (Boniturnote 2,0), die gestellten Anforderungen nicht. Nur bei 12 Herkünften wurde die Standfestigkeit als gut bzw. sehr gut bewertet. Die Ursache hierfür liegt in der unzureichenden Verankerung der bestockten Triebe. Im folgenden Jahr war hingegen bei allen Herkünften eine akzeptable Standfestigkeit gegeben. Dennoch erwiesen sich besonders hohe Herkünfte als weitaus windanfälliger als jene mit niedrigem Wuchs.

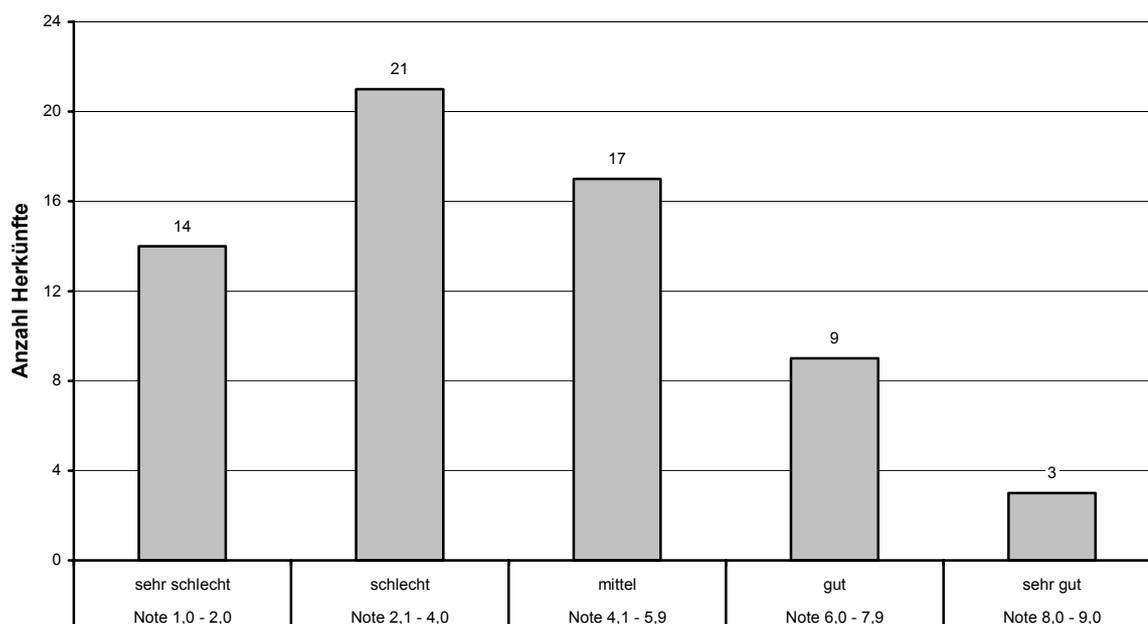


Abbildung 43: Bonitur Standfestigkeit, Zweisatzgitter 2001

Blühbeginn im ersten Jahr

Die Einordnung der verschiedenen Herkünfte bezüglich ihres Blühbeginns geschieht am besten in Relation zum Pflanzdatum. Für die darauffolgenden Vegetationsperioden wird der jeweilige Blühtermin zur einfacheren Vergleichbarkeit zum selben Datum – quasi als imaginärem Pflanztag – in Bezug gesetzt. Der kleinste Wert liegt mit 63,5 Tagen bei AS-4 am Anfang der 10. Woche (Tage 63,1 bis 70,0) nach Pflanzung, während der Wert von NA-6 mit 93,8 Tagen in der 14. Woche (Tage 91,1 bis 98,0) nach Pflanzung liegt. Somit lassen sich fünf den jeweiligen Wochen entsprechende Gruppen von sehr früh über früh, mittel und spät nach sehr spät bilden (vgl. Abbildung 44). 'Taubertal' blüht Ende der elften Woche und ist somit als frühblühend zu charakterisieren. Die Herkunft AS-9, die im Pflanzjahr keine Blüten bildet, stellt eine eigene Gruppe dar. Obwohl die ausgewählten 64 Herkünfte keine Population im eigentlichen Sinne repräsentieren, lässt die Verteilung des Merkmals Blühbeginn eine deutliche Annäherung an die Gauss'sche Normalverteilung um die mittlere Gruppe erkennen.

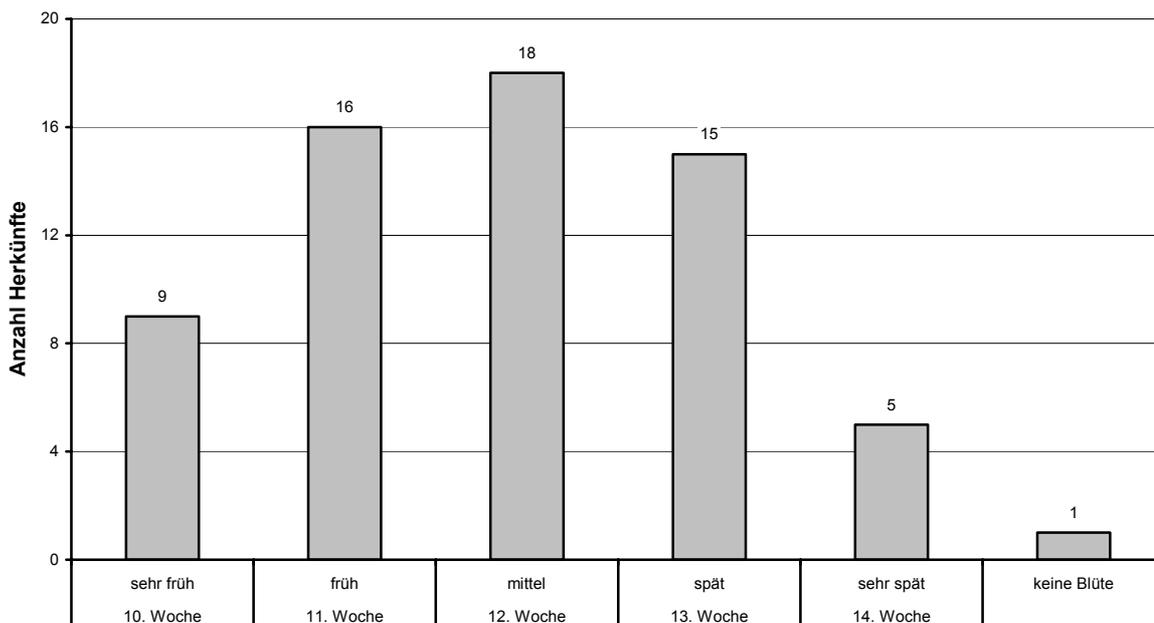


Abbildung 44: Blühbeginn in Wochen nach Pflanzung, Zweisatzgitter 2001

Blühbeginn im zweiten Jahr

Abbildung 45 zeigt die Beziehung zwischen dem Blühbeginn im Pflanzjahr und im zweiten Standjahr. Während sich der Blühbeginn der Herkunft im Pflanzjahr über etwa 30 Tage erstreckt, setzt die Blüte im zweiten Standjahr innerhalb von zehn Tagen bei allen Herkunft ein. Das Bestimmtheitsmaß R^2 der Regressionsgeraden von 0,291 zeigt, dass der Blühbeginn im Pflanzjahr keine zuverlässige Aussage über den Blühbeginn im zweiten Standjahr zulässt.

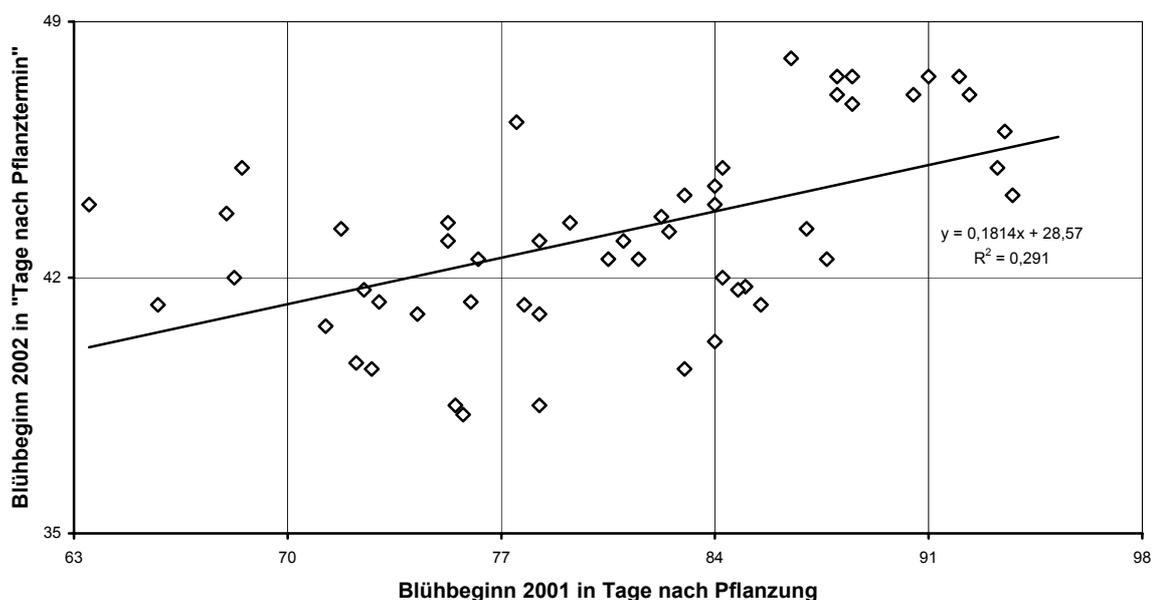


Abbildung 45: Korrelation zwischen Blühbeginn 2001 und 2002, Zweisatzgitter

Das Fehlen einer stärkeren Korrelation ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass der Blühbeginn im Pflanzjahr zu einem sehr großen Teil vom Pflanztermin bestimmt wird. In Abhängigkeit vom Genotyp und modulierenden Umwelteinflüssen durchlaufen die Herkünfte eine unterschiedlich lange vegetative Entwicklungsphase bis zum Einsetzen der Blüte, die in extremen Fällen sogar ganz ausbleiben kann. Im zweiten Standjahr setzt die vegetative Entwicklung bereits im zeitigen Frühjahr ein und die Herkünfte kommen sowohl fünf Wochen früher als auch innerhalb einer wesentlich verkürzten Periode von etwa zehn Tagen zur Blüte.

Blütengröße

Der Blütendurchmesser variiert zwischen 24,7 und 35,0 mm (vgl. Tabelle 40). Bezogen auf die Blütenfläche sind die größten Blüten mit ca. 960 mm² also doppelt so groß wie die kleinsten Blüten mit ca. 480 mm² Blütenfläche. Trotz der breiten Variabilität bilden die meisten Herkünfte sehr kleine Blüten (24,5 – 26,9 mm), kleine Blüten (27,0 – 28,9 mm) und Blüten mittlerer Größe (29,0 – 30,9 mm). Nur wenige Herkünfte bilden große (31,0 – 32,9 mm) und sehr große (33,0 – 35,0 mm) Blüten (vgl. Abbildung 46). Die Sorte 'Taubertal' ist mit einem Blütendurchmesser von 27,3 mm den Herkünften mit kleinen Blüten zuzuordnen.

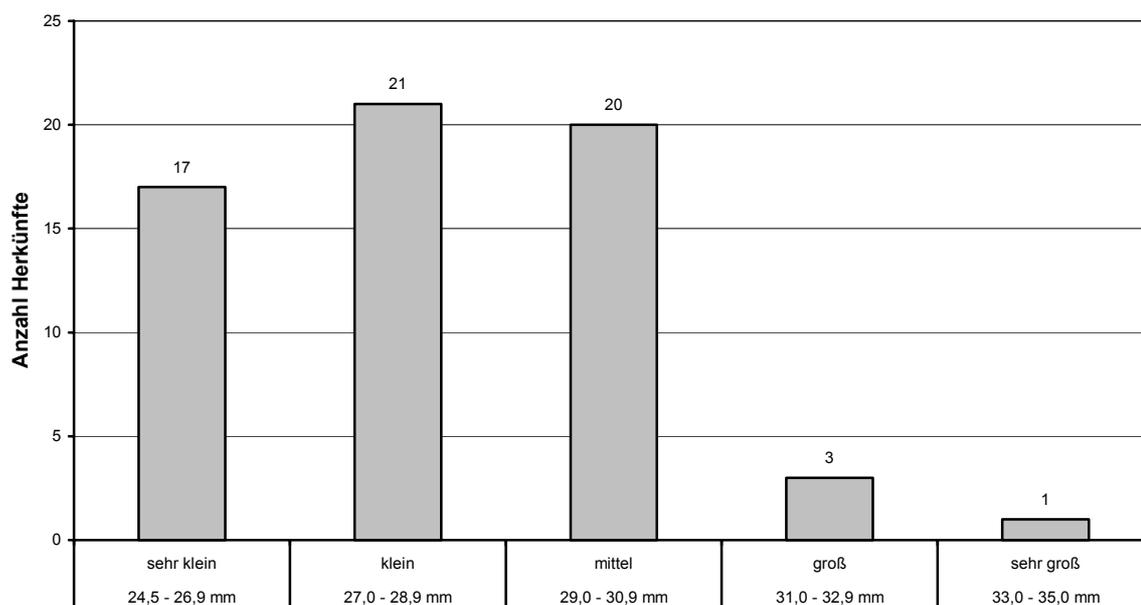


Abbildung 46: Blütendurchmesser, Zweisatzgitter 2001

Blütengewicht

Abbildung 47 zeigt deutlich, dass das Merkmal Blütengewicht (Trockengewicht) erwartungsgemäß in erster Linie mit dem Merkmal Blütendurchmesser korreliert. Dennoch bleibt innerhalb einer Größenklasse die Variabilität des Blütengewichtes so hoch, dass eine gezielte Selektion der Herkünfte auf Blüten mit einem höheren Trockengewicht möglich ist.

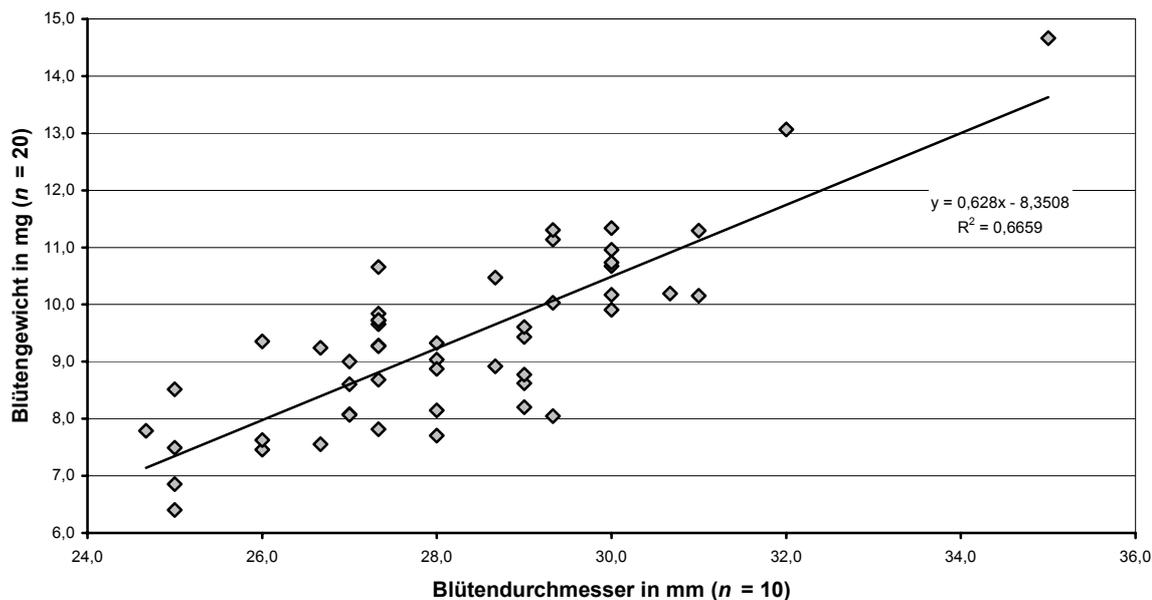


Abbildung 47: Korrelation Blütendurchmesser und Blütengewicht, Zweisatzgitter 2001

Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides*

Obwohl *Colletotrichum cf. gloeosporioides* in allen Versuchen auftrat, waren die Ausfälle bei den beiden Pflanzungen im Zweisatzgitter besonders gravierend. Dabei konnten deutliche Unterschiede zwischen anfälligen und resistenten Herkünften festgestellt werden. Tabelle 60 zeigt die gewählten Kategorien zur Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides*.

Tabelle 60: Kategorien zur Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides*

Kategorie	Ausfälle in %	Pfl. von 28
sehr gering	0 – 10 %	0 – 3 Pfl.
gering	11 – 20 %	4 – 6 Pfl.
mittel	21 – 30 %	7 – 9 Pfl.
hoch	31 – 60 %	10 – 17 Pfl.
sehr hoch	61 – 90 %	18 – 25 Pfl.
extrem hoch	91 – 100 %	26 – 28 Pfl.

Bei der Festlegung der Kategorien ist eine Einteilung nach gleich großen Gruppen nicht sinnvoll, da aus wirtschaftlicher Sicht bereits ein Ausfall von 10 % erhebliche Ertragseinbußen bedeutet. Um dieser Tatsache Rechnung zu tragen und dennoch anhand der Verhältnisse im Versuch eine züchterisch relevante Abstufung der Anfälligkeit vorzunehmen, wurden die ersten drei Gruppen mit einer relativ engen Spannweite von zehn Prozentpunkten definiert. Die Klassen "hohe" und "sehr hohe" Anfälligkeit umspannen jeweils dreißig Prozentpunkte. Um die bemerkenswerte Ausfallrate von bis zu 100 % zu kennzeichnen, wurde die Kategorie "extrem anfällig" ausgewiesen.

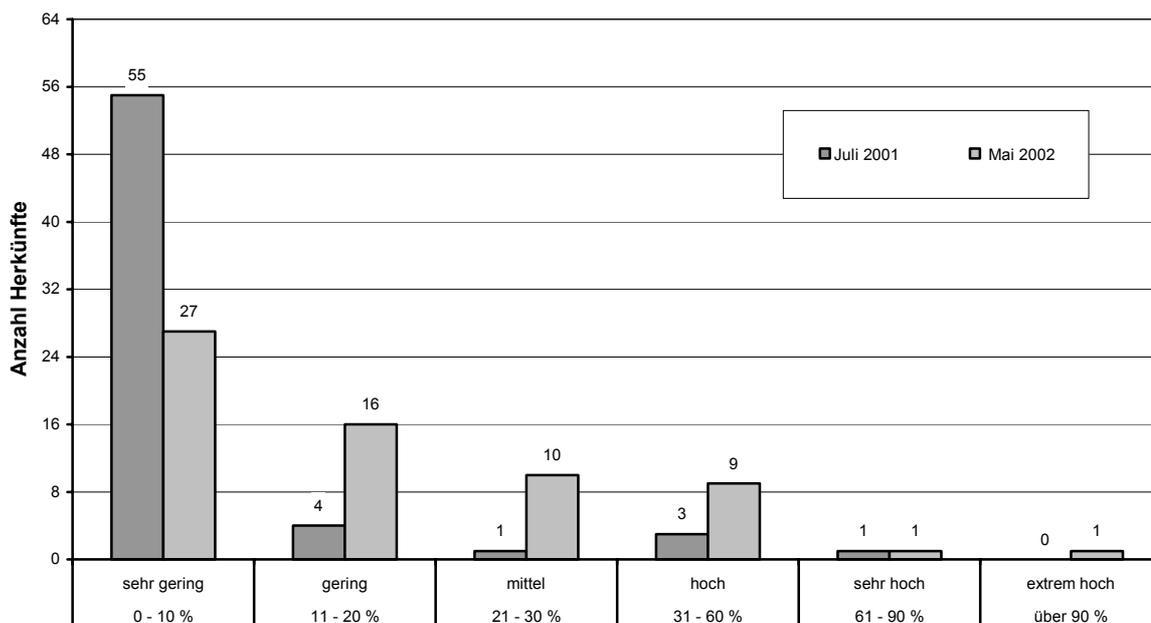


Abbildung 48: Ausfälle durch Johanniskrautwelke, Zweisatzgitter Zierpflanzenbau

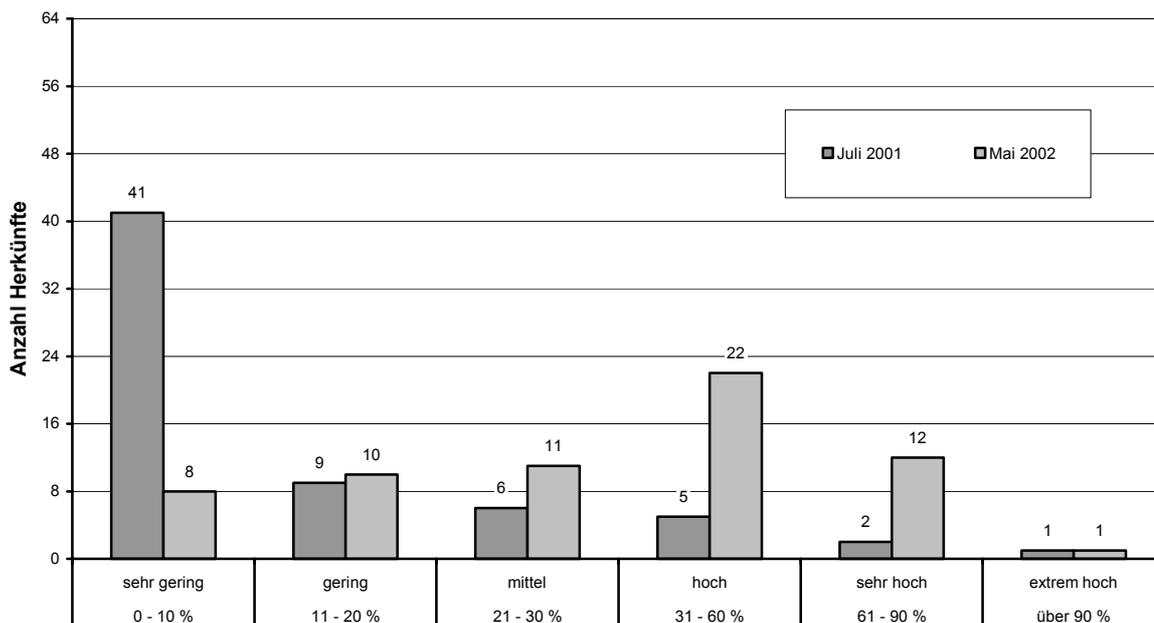


Abbildung 49: Ausfälle durch Johanniskrautwelke, Zweisatzgitter Gemüsebau

Während auf der Versuchsfläche Zierpflanzenbau im Pflanzjahr (Juli 2001) noch ca. 86 % der Herkünfte eine sehr geringe Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* zeigen, ist im zweiten Standjahr (Mai 2002) eine starke Verschiebung festzustellen (vgl. Abbildung 48). Nur noch ca. 42 % der Herkünfte weisen einen sehr geringen und bereits ca. 17 % der Herkünfte einen hohen bis extrem hohen Befall auf. Da erst im zweiten Standjahr der Vollertrag zu erwarten ist (BOMME 1997), gibt der Befallsgrad im Mai 2002, also kurz vor Blühbeginn, einen praxisrelevanten Hinweis auf die Widerstandsfähigkeit einer Herkunft gegen die Johan-

niskrautwelke. Im Vergleich zur Versuchsfläche Zierpflanzenbau war auf der Fläche Gemüsebau von Anfang an eine wesentlich höhere Infektionsrate festzustellen (vgl. Abbildung 49). Im Juli des Pflanzjahres waren nur noch ca. 64 % der Herkünfte sehr gering befallen. Im Mai des zweiten Standjahres macht die Gruppe der Herkünfte mit hoher Anfälligkeit mit einem Anteil von einem Drittel bereits die größte Gruppe aus. Dennoch zeigen immerhin ca. 28 % der Herkünfte einen sehr geringen bis geringen Befall. Ursache für die rasche Ausbreitung der Johanniskrautwelke auf dem Feld Gemüsebau war die während der warmen Wetterabschnitte oftmals tägliche Beregnung der Gemüsekulturen auf den angrenzenden Flächen in beiden Jahren. Somit waren für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* ideale Bedingungen für die epidemieartige Ausbreitung im gesamten Bestand gegeben.

Abbildung 50 stellt den Zusammenhang zwischen den Ausfällen auf den beiden Versuchsflächen im Mai 2002 her. Für einige Herkünfte, die auf der Fläche Zierpflanzenbau noch eine geringe Anfälligkeit aufwiesen, ergab sich aufgrund des ungleich höheren Infektionsdruckes auf der Fläche Gemüsebau eine deutlich veränderte Situation. Innerhalb der Herkünfte war eine deutliche Abhängigkeit des Infektionsgrades vom Befallsgrad der benachbarten Parzellen und dem damit verbundenen Infektionsdruck festzustellen. Übereinstimmend mit GÄRBER und SCHENK (2003) zeigte sich, dass bei einer zu hohen Inokulumdichte sehr starke Infektionen auftreten, die keine Differenzierung der Herkünfte hinsichtlich ihrer Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* mehr zulassen. Diese Einflüsse spiegeln sich in der starken Streuung der Werte, ausgedrückt durch ein niedriges Bestimmtheitsmaß ($R^2 = 0,4397$), wider. Es ist zu beachten, dass in Abbildung 50 für jede Herkunft die Summe aus vier Parzellen zu je 7 Pflanzen dargestellt ist und einige wenige Punkte übereinander liegen.

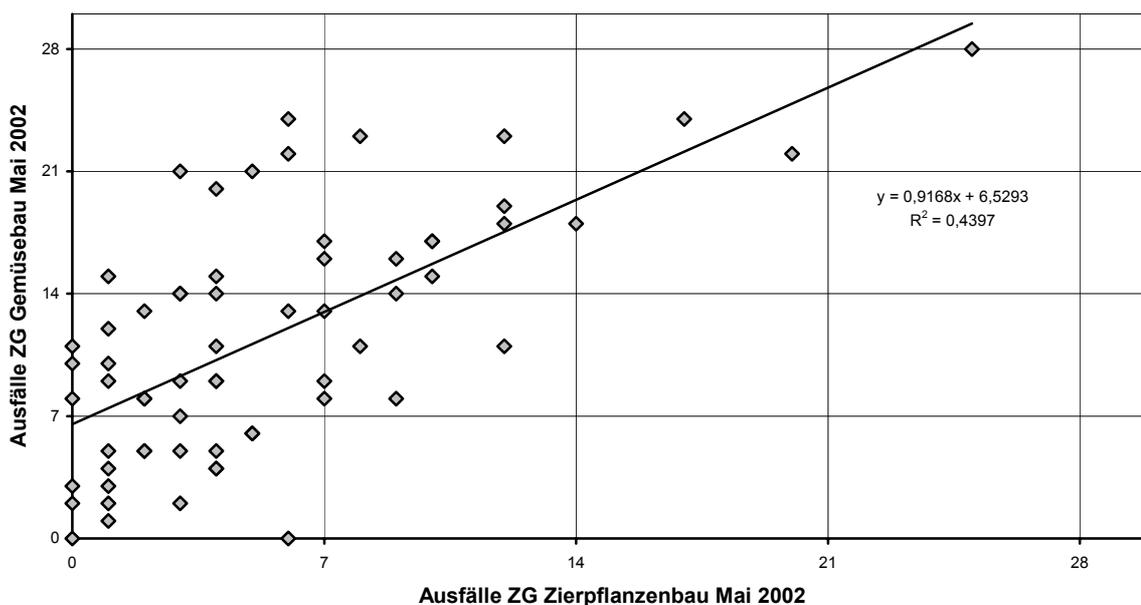


Abbildung 50: Korrelation der Anfälligkeit auf den Flächen Zierpflanzenbau und Gemüsebau

Zusammenfassende Bewertung

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Versuchspflanzungen in Form von Zweisatzgittern durch das massive Auftreten der Johanniskrautwelke erheblich beeinträchtigt wurden. Dennoch ermöglichten die Versuche, wichtige agronomisch relevante morphologische und physiologische Merkmale zu erfassen und so die natürliche Variabilität zahlreicher Selektionen und Wildherkünfte zu beschreiben, zu kategorisieren und schließlich zu bewerten. Aufgrund der hohen morphologischen Diversität der untersuchten Herkünfte (vgl. Abbildung 51) und deren unterschiedlicher physiologischer Entwicklung bezüglich Blühbeginn und Verlauf der Blüte war es im Einzelfall schwierig, den optimalen Erntezeitpunkt der jeweiligen Herkunft zu bestimmen. Aus den aufgeworfenen Fragen nach dem optimalen Erntezeitpunkt in Abhängigkeit vom Abblühverhalten der einzelnen Herkünfte resultierte eine Reihe von Untersuchungen zur Ertragsphysiologie des Johanniskrautes, die am Pflanzenmaterial der Blockanlage im Jahr 2002 durchgeführt wurden. Angesichts des umfangreichen Anfalls von Probenmaterial und den damit verbundenen logistischen Herausforderungen an Arbeitskraft und apparativer Ausstattung, z.B. in Form von Trockenschrankkapazitäten, erwies sich die Ernte von Blütenproben als praxistaugliche Alternative zur kompletten Ernte der Droge.

Aus den Herkünften AS-10, H-2, PM-15 und PM-17 wurden jeweils ein und aus AS-6 und AS-8 jeweils zwei vom Haupttyp abweichende Phänotypen selektiert und als eigenständige Herkünfte weitergeführt (vgl. Tabelle 72).



Abbildung 51: Phänotypische Variabilität im Zweisatzgitter Zierpflanzenbau 2001

1.3 Versuchsanbau unter Praxisbedingungen

Der Versuchsanbau der Selektion SN-1 wurde in Zusammenarbeit mit der Firma STEIGERWALD ARZNEIMITTEL GMBH, der AGRIMED HESSEN E.V. und Herrn CARL GERD GRAF in Georgenhausen auf einer Fläche von 0,5 ha durchgeführt. Er hatte zum Ziel, die agronomischen Merkmale im Hinblick auf die Eignung der Selektion für den praktischen Feldanbau unter klimatisch günstigen Bedingungen zu überprüfen.

Die schwache Blüte im ersten Standjahr ist vor allem auf die um drei Wochen verspätete Pflanzung in der zweiten Maihälfte zurückzuführen. Generell ist jedoch aufgrund mehrjähriger Erfahrung im Anbau dieser Selektion davon auszugehen, dass SN-1 im Pflanzjahr keinen verwertbaren Ertrag erwarten lässt. Im Gegenzug kann jedoch der Pflanzenbestand im zweiten Standjahr erheblich von der guten vegetativen Entwicklung des Vorjahres profitieren. Dieser Vorsprung wird im direkten Vergleich zur Herbstpflanzung von SN-1 und 'Taubertal' besonders deutlich (vgl. Abbildung 52). Ausgehend von einer starken Bestockung im Pflanzjahr entwickelte die Frühjahrspflanzung von SN-1 im zweiten Jahr eine wesentlich höhere Triebzahl pro Pflanze und einen einheitlich hohen Bestand (vgl. Tabelle 41). Der gute Bestandschluss und die Ausbildung eines scharf abgegrenzten Blühhorizontes (vgl. Abbildung 14) unterstreichen die hohe Homogenität der Selektion und gehen einher mit einer über das ganze Feld synchron einsetzenden Blüte. Die Eignung der Selektion SN-1 für die praxisübliche Produktionstechnologie von Johanniskraut kann somit als bestens beurteilt werden. Eine Einschränkung in der agronomischen Bewertung muss jedoch angesichts der für den Feldanbau unzureichenden Resistenz gegen die Johanniskrautwelke (*Colletotrichum cf. gloeosporioides*) vorgenommen werden.

Eine vorrangig vegetative Entwicklung des Feldbestandes verbunden mit einem Verzicht auf die Beerntung im Pflanzjahr ist aufgrund der durchweg positiven Auswirkungen im zweiten Standjahr sowohl bei der Selektion neuer Sorten als auch bei der Weiterentwicklung von Anbauverfahren in Zukunft zu berücksichtigen. Die Frühjahrs- oder Sommerpflanzung einer Selektion, die sich im ersten Jahr vorwiegend vegetativ entwickelt, stellt eine überlegenswerte Alternative zur herkömmlichen Herbstpflanzung dar, bedarf aber im Hinblick auf den erzielbaren Gesamtertrag der Kultur und die damit verbundenen betriebswirtschaftlichen Folgen noch weiterführender Untersuchungen.

Bezüglich der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe bestätigten zahlreiche Untersuchungen, dass die Droge von SN-1 deutlich höhere Gehalte an Quercitrin, Quercetin, Protopseudohypericin, Pseudohypericin, Hyperforin und Adhyperforin aufweist als die Sorte 'Taubertal' (vgl. z.B. III 3.1.1). Die Gehalte an Hyperosid+Isoquercitrin, Biapigenin, Protohypericin und Hypericin sind annähernd gleich. Die vergleichenden Untersuchungen in der Blockanlage zeigten, dass sich auch die Erträge der beiden Herkünfte nicht signifikant unterscheiden (vgl. III 1.1.2). Deshalb ist die Selektion SN-1 bezüglich ihrer Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen als deutlich besser zu bewerten als die Sorte 'Taubertal'. Eine Einschrän-

kung stellt dabei das Fehlen von Rutin in der Droge von SN-1 dar (Analysewerte der Droge unter III 1.3). Obwohl noch nicht abschließend geklärt ist, inwieweit das Vorliegen von Rutin – über die Erfüllung pharmazeutischer Vorschriften hinaus – von medizinischer Relevanz ist (vgl. IV 4.3.2), kommt SN-1 deshalb nicht für die Produktion von Droge in Frage.

Abschließend ist festzustellen, dass die Selektion SN-1 aufgrund der dargelegten Einschränkungen die Anforderungen an eine moderne Johanniskrautsorte nur teilweise erfüllt, aber sowohl aus agronomischer als auch aus pharmakologischer Sicht zum Teil beachtliche Verbesserungen im Vergleich zu den Standardsorten 'Taubertal' und 'Topaz' aufweist.

Positive Eigenschaften von SN-1:

- ① homogener Feldbestand, guter Bestandsschluss
- ② synchrone Entwicklung des Bestandes
- ③ scharf abgegrenzter Blühhorizont
- ④ hohe Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen

Negative Eigenschaften von SN-1:

- ① unzureichende Resistenz gegen *Colletotrichum cf. gloeosporioides*
- ② Droge enthält kein Rutin



Abbildung 52: Herbstpflanzung 'Taubertal' und SN-1, Frühjahrspflanzung SN-1, alle im 2. Jahr

1.4 Linienanlage

Unter den Herkünften, die in der Linienanlage zusammen mit der externen Standardsorte 'Taubertal' und dem internen Standard SN-1 untersucht wurden, konnte eine vergleichbar hohe Variabilität der vegetativen und generativen Merkmale festgestellt werden (vgl. III 1.4) wie bei den Herkünften im Zweisatzgitter. Die Wahl der beiden sehr unterschiedlichen Standards ermöglichte es, das vorrangige Ziel des Versuches zu erreichen, nämlich die neuen Herkünfte aus Wildsammlung und die Selektionen aus Herkünften vorhergehender Versuche einer ersten Bewertung zu unterziehen und in den laufenden Selektionsprozess einzuordnen. Erneut war eine höchst unterschiedliche Anfälligkeit für *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides* zu beobachten, die von absolut gesunden Parzellen bis hin zum Totalausfall variierte.

Die Ernte von Blütenproben ($n = 50$ Blüten), Blütenproben N_2 ($n = 10$ Blüten) und Drogenproben der untersuchten Herkünfte erlaubte einen Vergleich der Beprobungsarten und eine Bewertung der jeweiligen Einsetzbarkeit innerhalb des Selektionsprozesses.

Besondere Aufmerksamkeit verdienen die acht Nachkommenschaften von phänotypischen Abwechslern aus Parzellen des Zweisatzgitters (AS-6a, AS-6b, AS-8a, AS-8b, AS-10a, H-2a, PM-15a und PM-17a). Im Gegensatz zu vielen anderen Selektionen sind diese keine Einzelpflanzennachkommenschaften von Phänotypen heterogener Populationen oder inhomogener Sorten, sondern selten auftretende Individuen aus ansonsten einheitlichen, saatgutvermehrten Klonen. Die fakultative Natur der Apomixis bei Johanniskraut erklärt das spontane Auftreten dieser sexuell entstandenen Abwechler, die sich sowohl phänotypisch als auch genotypisch vom Rest der apomiktisch entstandenen Nachkommen unterscheiden.

Bemerkenswert ist, dass drei Nachkommenschaften (AS-6b, AS-10a und PM-15a) solcher Abwechler einen homogenen Bestand bildeten, während fünf weitere (AS-6a, AS-8a, AS-8b, H-2a und PM-17a) ihrerseits wieder in zahlreiche Phänotypen aufspalteten. Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass ein Teil der gefundenen abweichenden Phänotypen die apomiktische Fortpflanzungsweise beibehält, während sich der andere Teil offenkundig sexuell vermehrt (vgl. IV 5.1). Die Selektion H-2a zeigt dabei hinsichtlich der agronomischen Merkmale das beste züchterische Potential.

Abschließend ist festzuhalten, dass sich für eine erste Einschätzung von Wildherkünften und Selektionen die Linienanlage als wesentlich besser geeignet erwiesen hat als das Zweisatzgitter. Die Linienanlage erlaubt bei der Wahl entsprechender Standards eine zuverlässige Bewertung der Herkünfte und ermöglicht so bereits im ersten Jahr eine gute Vorselektion der neuen Linien.

2. Inhaltsstoffanalytik

2.1 Optimierung der Inhaltsstoffanalytik

Ausgehend von der Überlegung, wie aus einer Vielzahl von Drogen- und Blütenproben bei gleichzeitig vertretbarem Arbeits- und Zeitaufwand verlässliche Daten über die Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen gewonnen werden können, wurden zahlreiche Versuche zur Optimierung der Probenaufbereitung und der HPLC-Analytik durchgeführt.

2.1.1 Aufbereitungsgrad und Extraktionsdauer der Proben

Die hier dargestellten Untersuchungen zur Probenaufbereitung hatten zum Ziel, den notwendigen Aufbereitungsgrad der Drogenproben zu ermitteln und die dazugehörige optimale Extraktionsdauer zu bestimmen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die mechanische Zerkleinerung der Proben deutliche Vorteile gegenüber der Extraktion von Rohdroge bietet. Zuerst wirkt sich die Zerkleinerung in Form einer Homogenisierung der Probe positiv auf die Genauigkeit des Messergebnisses aus. Dies zeigt sich in einer deutlich kleineren Standardabweichung der Messwerte ($n = 5$) für die Extrakte aus pulverisierter Droge im Vergleich zu Extrakten aus Rohdroge (vgl. III 2.1). Ein weiterer Vorteil der Verwendung pulverisierter Droge besteht in der raschen Extraktion der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe. Mit Ausnahme des Quercetins wird bei allen Inhaltsstoffen bereits nach einer Dauer von 12 bis 24 Stunden ein Maximalwert erreicht, der anschließend leicht abnimmt. Bei der Extraktion von Rohdroge hingegen nähern sich die gemessenen Gehalte asymptotisch einem fiktiven Maximalwert. Die Extrakte aus pulverisierter Droge erreichen jedoch besonders bezüglich des Biapigenins und der Naphthodianthrone deutlich höhere Gehalte. Somit kann bei der Verwendung pulverisierter Droge von einer nahezu vollständigen Extraktion der Inhaltsstoffe ausgegangen werden. Dies gilt in besonderem Maße für die Gruppe der Naphthodianthrone (vgl. Abbildung 19).

Das Flavonoid Quercetin nimmt im Vergleich zu den übrigen Inhaltsstoffen in zweierlei Hinsicht eine Ausnahmestellung ein. Zum einen wird es wesentlich langsamer aus der pulverisierten Droge extrahiert und erreicht nicht wie die anderen Inhaltsstoffe einen stabilen Maximalwert. Zum anderen gehen aus der Rohdroge deutlich höhere Mengen an Quercetin in die Lösung über (vgl. Abbildung 18). Die stetige Zunahme bei der pulverisierten Droge wäre durch eine Freisetzung des Aglykons aus dem festgestellten Abbau der Quercetinglykoside erklärbar. Die Beobachtung, dass bei der Rohdroge die erreichten Gehalte an Glykosiden niedriger waren als bei der pulverisierten Droge, die Quercetingealte jedoch deutlich höher, unterstützt diese Hypothese. Das Verhältnis von Lösungsübergang und Abbau durch Hydrolyse könnte dabei von der Integrität der Zellkompartimentierung abhängig sein. Dennoch ist nicht auszuschließen, dass die beobachteten Effekte auf unterschiedliche Lösungs- und Resorptionsvorgänge an der intakten bzw. zerstörten Zellmatrix zurückgehen.

Aufgrund der gewonnenen Ergebnisse kann für pulverisierte Droge eine optimale Extraktionsdauer von 24 Stunden bestimmt werden, während die Extraktion aus Rohdroge nach sieben Tagen (= 168 h) reproduzierbare Messergebnisse als Vergleichsbasis für verschiedene Fragestellungen liefert.

Vorteile der Extraktion pulverisierter Droge:

- ① Homogenisierung der Probe
- ② schnelle Extraktion innerhalb von 24 Stunden
- ③ nahezu vollständige Extraktion der Inhaltsstoffe

Nachteil: hoher zusätzlicher Arbeitsaufwand

Obwohl einige Argumente für die Verwendung pulverisierter Droge sprechen (siehe oben), bedeutet die mechanische Zerkleinerung des Probenmaterials einen erheblichen Mehraufwand. Dies trifft in besonderem Maße dann zu, wenn zahlreiche Proben mit kleinem Umfang, wie beispielsweise Blütenproben, anfallen. Deshalb wurde die Probenaufbereitung den Bedürfnissen der jeweiligen Fragestellung angepasst (vgl. II 4.3.1).

Für eine reproduzierbare Analyse der Drogenproben war zum einen aufgrund ihres größeren Umfangs die Homogenisierung der Proben von Bedeutung. Zum anderen war eine möglichst vollständige Extraktion der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe von großem Interesse. Deshalb wurden grundsätzlich die kompletten Drogenproben einer mechanischen Zerkleinerung in der Schrotmühle unterzogen und erst dann eingewogen und für 24 Stunden extrahiert. Dagegen stand bei den zahlreichen Blütenproben nicht so sehr die maximal extrahierbare Konzentration der Inhaltsstoffe im Vordergrund, sondern vielmehr die Vergleichbarkeit der Ergebnisse bei gleichzeitig vertretbarem Arbeitsaufwand. Eine Homogenisierung der Proben war nicht notwendig, da Blütenproben stets in vollem Umfang extrahiert wurden. Deshalb wurden diese unzerkleinert extrahiert und dafür die Extraktionsdauer aufwandsneutral auf sieben Tage verlängert.

Vorteile der Extraktion von Rohdroge:

- ① Aufwand der Zerkleinerung fällt nicht an
- ② Extraktion innerhalb von 7 Tagen
- ③ reproduzierbare Messergebnisse

Nachteil: keine vollständige Extraktion der Inhaltsstoffe

Grundsätzlich stand bei allen Versuchen wie z.B. bei der Bewertung von Herkünften oder den Untersuchungen zur Ertragsphysiologie die Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegenüber der absoluten Genauigkeit der einzelnen Messwerte im Vordergrund. Die notwendige Reproduzierbarkeit von Extraktion und Analytik bei gleichzeitig vertretbarem Arbeitsaufwand wird durch das erstellte Standardprotokoll gewährleistet (vgl. II 4.2).

2.1.2 Verhältnis von Einwaage zu Extraktionsmittel

Ausgehend von der Tatsache, dass Proben mit beispielsweise 50 Blüten je nach Herkunft sehr unterschiedliche Probengewichte ergeben, wurden Überlegungen angestellt, ob es notwendig ist, das Verhältnis von Drogengewicht zu Lösungsmittelvolumen stets gleich zu halten. Für dieses Vorgehen spricht die Arbeitshypothese, dass bei einem konstanten Lösungsmittelvolumen und geringer Einwaage die Messwerte im Vergleich zu den tatsächlichen Gehalten geringer ausfallen, da in der Nähe der Nachweisgrenze gemessen wird. Analog ist bei sehr hohen Einwaagen mit Sättigungseffekten zu rechnen, so dass ebenfalls nur ein geringerer Gehalt als der tatsächlich vorhandene gemessen wird. In Abbildung 53 wird die Arbeitshypothese graphisch verdeutlicht.

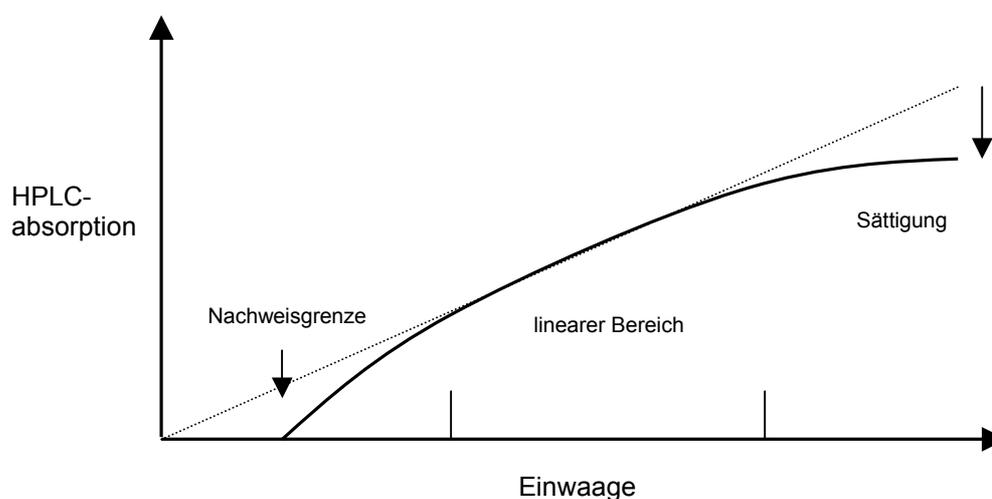


Abbildung 53: Schematische Darstellung der Arbeitshypothese zur Extraktion

Es ist also zu erwarten, dass bei konstantem Lösungsmittelvolumen und unterschiedlicher Einwaage kein linearer Zusammenhang zwischen Einwaage und gemessenen Inhaltsstoffgehalten zu beobachten ist. Andererseits gilt es zu bedenken, dass eine angepasste Lösungsmittelzugabe nicht nur einen arbeitstechnischen Mehraufwand bedeutet, sondern auch eine zusätzliche Fehlerquellen in sich bergen würde.

Die Ergebnisse (vgl. III 2.2) zeigen, dass für die Gruppe der Flavonoide über den gesamten untersuchten Bereich von 50 bis 1.000 mg Droge pro 50 ml Methanol 80 % ein sehr starker linearer Zusammenhang gegeben ist ($R^2 > 0,99$). Die geringen Standardabweichungen ($n = 5$) sprechen zudem für die hohe Reproduzierbarkeit der gewonnenen Ergebnisse (vgl. Abbildung 21). Trotz deutlich stärkerer Schwankungen der Messwerte ist auch für die Phloroglucinderivate Hyperforin und Adhyperforin ein deutlich linearer Zusammenhang über den untersuchten Bereich festzustellen. Allerdings konnte Adhyperforin erst ab einem Verhältnis von 100 mg Droge zu 50 ml Methanol 80 % nachgewiesen werden (vgl. Abbildung 22).

Das Lösungsverhalten der Naphthodianthrone weicht klar von dem der anderen Inhaltsstoffe ab (vgl. Abbildung 54). Die Protoformen der Hypericine überschreiten erst ab einer Einwaage von 400 mg Droge pro 50 ml Methanol 80 % die Nachweisgrenze und lassen dann einen linearen Zusammenhang zwischen Einwaage und Messwert erkennen.

Dagegen lässt sich dieser Zusammenhang für Hypericin und Pseudohypericin viel besser durch eine polynomische als durch eine lineare Funktion beschreiben. Ein Vergleich der Bestimmtheitsmaße (R^2) bestätigt, dass für Hypericin und Pseudohypericin die oben vorgestellte Hypothese gilt. Die Messwerte für 50 mg bzw. 100 mg Droge pro 50 ml Methanol 80 % liegen aufgrund ihrer Nähe zur Nachweisgrenze deutlich unterhalb des erwarteten Wertes, während bei einer Einwaage von 1.000 mg Sättigungseffekte sichtbar werden. Allerdings lässt sich über einen relativ großen Bereich von 250 bis 750 mg Droge pro 50 ml Methanol 80 % ein linearer Zusammenhang annehmen ohne dabei einen zu großen Fehler zu begehen. Der Bereich von ca. 260 bis 640 mg, der tatsächlich für die Messung der Proben relevant war, deckt sich mit diesem linearen Bereich im Verhältnis von Einwaage und Lösungsmittel.

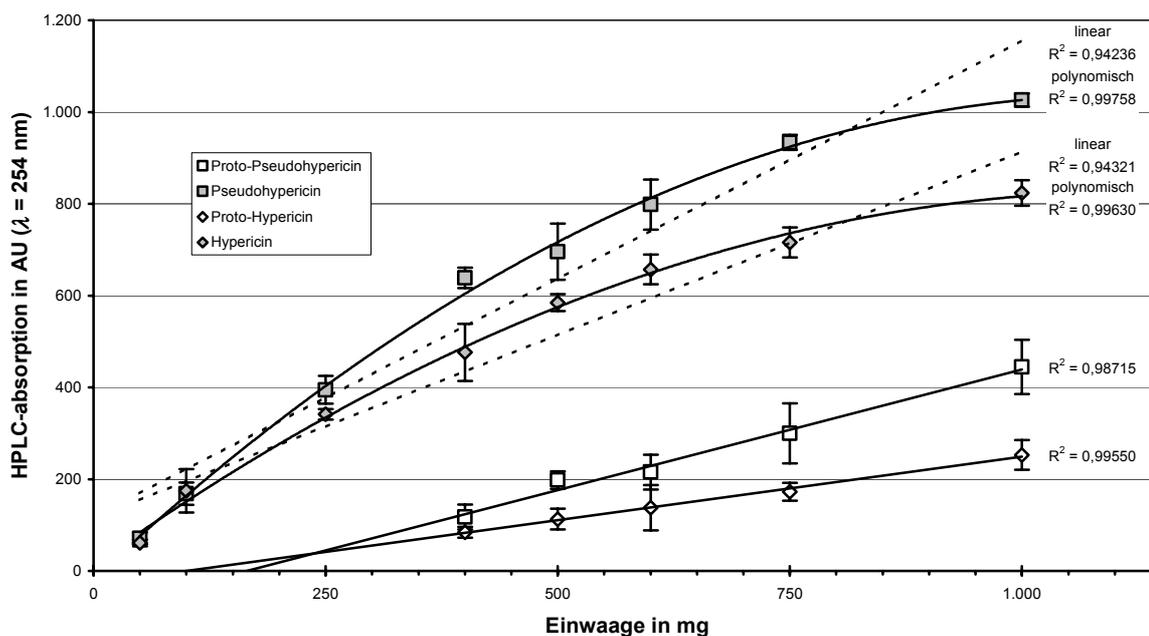


Abbildung 54: Extraktionsverhalten der Naphthodianthrone ($n = 5$)

Die gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass es sowohl möglich als auch sinnvoll ist, Blütenproben trotz schwankender Gewichte bei verschiedenen Genotypen mit derselben standardisierten Prozedur zu verarbeiten und auf eine Anpassung der Lösungsmittelmenge zu verzichten. Um Probleme mit der Nachweisgrenze einzelner Inhaltsstoffe zu vermeiden, wurde das Lösungsmittelvolumen für kleine Blütenproben, wie beispielsweise den Blütenproben N₂, auf 20 ml angepasst (vgl. II 4.3.2). Dadurch lassen sich alle Blütenproben rationell verarbeiten und gleichzeitig aussagekräftige Messergebnisse garantieren.

2.2 Bewertung der Methoden

Um die zur Inhaltsstoffanalytik angewandten Methoden kritisch bewerten zu können, ist es von Vorteil, die Anforderungen der Züchtung an die Analytik zu präzisieren. Sowohl Probenart und Probenaufbereitung als auch die Extraktions- und Analysemethoden sind dabei stets vor dem Hintergrund der spezifischen Eignung für die Selektion zu betrachten. Die wichtigsten Anforderungen sind in Tabelle 61 zusammengestellt.

Tabelle 61: Anforderungen seitens der Züchtung an die Inhaltsstoffanalytik

①	hoher Probendurchsatz
②	einfache und schnelle Probenaufbereitung
③	geringer Material- und Lösungsmittelverbrauch
④	einfache Extraktion (z.B. ohne Einrotieren)
⑤	keine Verdünnungsschritte
⑥	Erfassung aller pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe
⑦	reproduzierbare Messergebnisse
⑧	hohe Selektionsschärfe

Als die wichtigsten Anforderungen gelten einerseits ein möglichst hoher Probendurchsatz und andererseits eine möglichst hohe Selektionsschärfe. Hierbei ist ein klar synergistischer Zusammenhang zwischen effizienter Vereinfachung und optimierter Standardisierung der Arbeitsschritte erkennbar. Mit der Effizienzsteigerung konnte zudem ein hohes Einsparpotential von Verbrauchsmaterial und Lösungsmittel realisiert werden.

	<i>Droge</i>	<i>Blüten</i>	<i>Blüten N₂</i>
Material	Blühhorizont	Blüten	Blüten
	↓	↓	↓
Konservierung	Trocknung 40 °C	Trocknung 40 °C	Frostung -72 °C
	↓	↓	↓
Aufbereitung	Schroten	Lyophilisieren	Lyophilisieren
	Einwiegen ↓	Abwiegen ↓	Abwiegen ↓
Extraktion	24 h	7 d	7 d

Abbildung 55: Übersicht zu den eingesetzten Extraktionsmethoden

2.2.1 Gewinnung, Vorbereitung und Extraktion der Proben

Material

Bereits die Art des geernteten Probenmaterials bestimmt maßgeblich die Effizienz der Extraktion und die Aussagekraft des Ergebnisses. Bei der Ernte bringt die Diversität der untersuchten Herkünfte gravierende Schwierigkeiten bezüglich der Standardisierung mit sich. So ist es kaum möglich, sämtliche Herkünfte im selben physiologischen Reifezustand zu beernten (vgl. IV 3.2) und dabei die Ausdehnung des Blühhorizontes exakt gleich zu wählen. Allerdings ist diese Methode im Vergleich zur Ernte von Blüten deutlich näher am praxisüblichen Herstellungsprozess angesiedelt. Dagegen wird durch die Ernte von offenen Blüten ein sehr hoher Standardisierungsgrad im Hinblick auf das Reifestadium und die Probenzusammensetzung erreicht (vgl. IV 3.3). Der Probenumfang ist bei der Ernte von Blüten deutlich kleiner als bei der Verwendung des gesamten Blühhorizontes.

Vor- und Nachteile bei der Wahl des Probenmaterials:

Blühhorizont:

- + praxisübliches Verfahren
- keine standardisierte Probenahme möglich
- großer Probenumfang

Blüten:

- + exakte Standardisierung möglich
- + kleiner Probenumfang
- abstrahiertes Verfahren

Konservierung

Die klassische Konservierung des Pflanzenmaterials durch Trocknung stellt zwar eine technisch leicht zu realisierende Methode dar. Allerdings fallen bei der Ernte des gesamten Blühhorizontes innerhalb kurzer Zeit so große Probenmengen an, dass in der Trocknung Engpässe auftreten können. Durch die Ernte von Blütenproben oder die nur teilweise Ernte des Blühhorizontes in Form von Drogenproben kann das Probenvolumen deutlich verringert werden. Bei der Lufttrocknung ist nicht auszuschließen, dass durch die längere Einwirkung einer Temperatur von ca. 40 °C und den verbleibenden Restfeuchtegehalt von ca. 10 % enzymatische Prozesse einsetzen, die zu einer Beeinflussung des Gehaltes an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen führen können. Bei der Konservierung von Blütenproben in flüssigem Stickstoff werden enzymatische Vorgänge sofort unterbunden. Darauf weisen die etwas höheren Gehalte an Quercetin, Biapigenin und Hyperforin in den Blütenproben N₂ hin (vgl. Tabelle 49). Aufgrund des höheren apparativen Aufwandes kommt diese Methode jedoch nur für Probenvolumina und Testreihen mit kleinem Umfang in Frage.

Vor- und Nachteile der Konservierungsmethoden:**Trocknung:**

- + einfaches Verfahren, auch für große Proben
- unkontrollierbare enzymatische Vorgänge
- Restfeuchtegehalt ca. 10 %

Frostung in N₂:

- + sofortige Konservierung
- erfordert Vorhandensein der entsprechenden Technologie
- nur für kleine Probenvolumina geeignet

Aufbereitung

Je nach Art der Probe sind verschiedene Arbeitsschritte zur Aufbereitung des Probenmaterials notwendig. Für die Vorbereitung von Droge hat sich eine Schrotung des gesamten gerenteten Materials bei gleichzeitiger Homogenisierung bewährt (vgl. IV 2.1.1). Die Blütenproben werden vor der Extraktion lyophilisiert.

Extraktion

Bei der Extraktion der Proben gibt es einen erheblichen Standardisierungsbedarf, der mit einem sehr hohen Einsparungspotential verbunden ist. Bereits das Einwiegen einer definierten Menge pulverisierter Droge erfordert einen höheren Arbeitsaufwand als das Abwiegen einer Blütenprobe. Durch die Wahl von Methanol 80 % als Lösungsmittel, das für den Einsatz auf der HPLC geeignet ist, konnte auf das Einrotieren und Wiederaufnehmen der Proben verzichtet werden. Gleichzeitig wurde das Verhältnis von Lösungsmittel zu Einwaage stets so gewählt, dass weder die eingesetzte Lösungsmittelmenge angepasst werden musste (vgl. IV 2.1.2) noch Verdünnungsschritte notwendig wurden. Mit der Festlegung der Extraktionsdauer auf 24 Stunden bzw. sieben Tage wurden Zeiträume gewählt, die sowohl ein aussagekräftiges Ergebnis erwarten lassen (vgl. IV 2.1.1) als auch die exakte Einhaltung der Zeiten erleichtern.

Die einfache Prozedur zur Extraktion ermöglicht durch die Reduktion von Arbeitsschritten einerseits einen hohen Probendurchsatz. Andererseits wird durch den Ausschluss von möglichen Fehlerquellen eine höhere Standardisierung und in der Folge eine bessere Selektionschärfe erreicht. Besonders deutlich werden die Vorteile der eingesetzten Extraktionsmethode beim Vergleich mit anderen Methoden. So wurden die Proben bei DENKE (1998) einer 16stündigen Soxhlett-Extraktion unterzogen, anschließend einrotiert und dann wiederaufgenommen. Bei HÖLZL und OSTROWSKI (1987) wurde zuerst für zehn Minuten im Ultraschallbad mit Methanol extrahiert und dann für zehn Minuten mit Aceton nachextrahiert. Schließlich wurden die Extrakte vereinigt, einrotiert und wiederaufgenommen.

2.2.2 HPLC-Analyse der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe

HPLC-Methode

Aus der Perspektive der Züchtung muss die eingesetzte HPLC-Methode nicht notwendigerweise in der Lage sein, alle vorhandenen Inhaltsstoffe des Johanniskrautes zu identifizieren oder die Entdeckung neuer Inhaltsstoffe zu ermöglichen. Vielmehr muss sie dazu geeignet sein, mit vertretbarem zeitlichem und ökonomischem Aufwand eine sichere Aussage über den pharmakologischen Zuchtwert einer Herkunft zu erlauben. Ausgehend von diesen speziellen Anforderungen wurde in Anlehnung an HÖLZL und OSTROWSKI (1987) eine HPLC-Methode (vgl. II 4.4) entwickelt, die alle pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe in einem Messdurchgang erfasst und gleichzeitig sehr zuverlässige und reproduzierbare Messergebnisse liefert. Dadurch kann in Abhängigkeit von der Art des untersuchten Ausgangsmaterials eine hohe Selektionsschärfe zur züchterischen Bewertung der jeweiligen Herkunft erreicht werden.

Flavonoide

Die Quercetinglykoside Hyperosid und Isoquercitrin konnten aufgrund ihrer hohen chemischen Ähnlichkeit (vgl. Abbildung 3) nicht zuverlässig aufgetrennt werden und wurden deshalb stets als Summe der beiden Inhaltsstoffe dargestellt. In der Literatur finden sich keine Hinweise auf Unterschiede in der pharmakologischen Wirksamkeit der beiden Flavonolglykoside, die den Aufwand für eine bessere Auftrennung gerechtfertigt hätten. Amentoflavon erreichte bei den eingesetzten Extraktions- und Analysemethoden keine nachweisbaren Konzentrationen und ist deshalb in den Auswertungen nicht enthalten.

Naphthodianthrone

Für die Bestimmung des Gesamthypericingehaltes existieren zwar zahlreiche photometrische Alternativen zur HPLC-Analyse. Dennoch wurde der HPLC der Vorzug gegeben, da sie eine Differenzierung zwischen Pseudohypericin und Hypericin erlaubt. Auf eine Belichtung der Proben zur Umwandlung vom Protopseudohypericin und Protohypericin in die jeweiligen Endstufen wurde aus zweierlei Gründen bewusst verzichtet. Zum einen gibt das Vorhandensein der Protoformen einen Hinweis darauf, ob die Probenaufbereitung und Extraktion auf eine schonende Art und Weise erfolgt ist. Zum anderen konnte bei den Versuchen zur Quantifizierung der Protohypericine festgestellt werden, dass eine Belichtung der Proben die messbare Konzentration des Quercetins in etwa halbiert und zu einem vollständigen Abbau der Phloroglucinderivate Hyperforin und Adhyperforin führt (vgl. Abbildung 56). Deshalb wäre stets die Messung einer belichteten und einer unbelichteten Teilprobe notwendig gewesen.

Zur Analytik der Naphthodianthrone ist anzumerken, dass die höchste Empfindlichkeit beim Absorptionsmaximum im UV-Bereich ($\lambda = 254 \text{ nm}$) erreicht wird. Die höchste Genauigkeit und Reproduzierbarkeit wird hingegen aufgrund der charakteristischen Absorption der Naphthodianthrone bei einer Wellenlänge von $\lambda = 585 \text{ nm}$ erzielt.

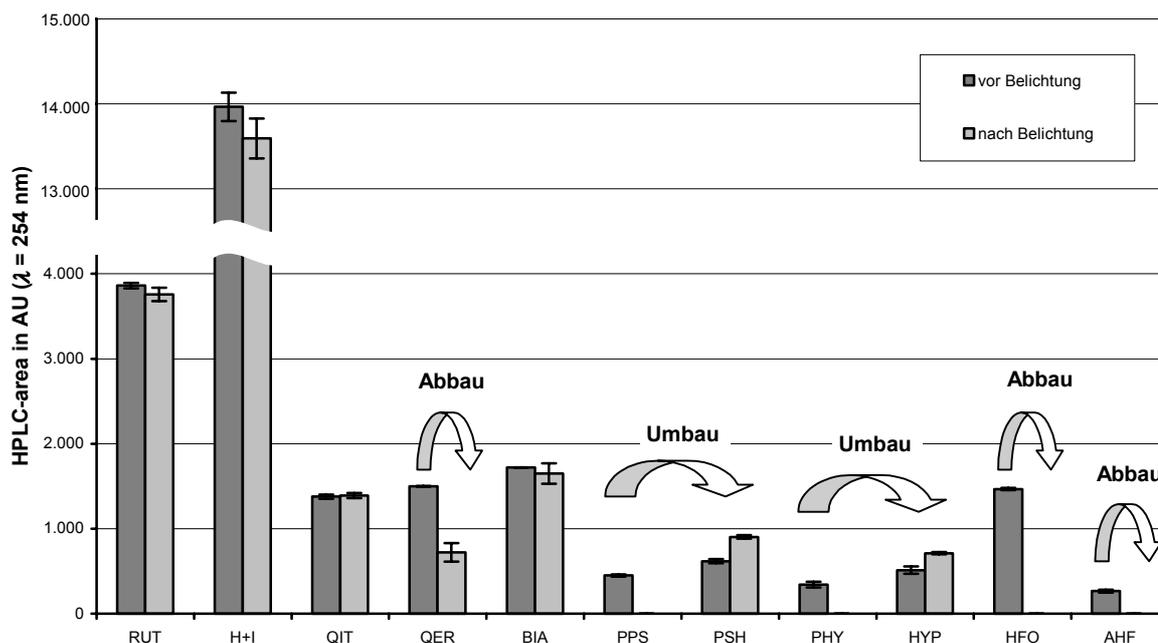


Abbildung 56: Effekt der Belichtung auf das Inhaltsstoffspektrum von 'Taubertal' ($n = 3$)

Phloroglucinderivate

Die Phloroglucinderivate Hyperforin und Adhyperforin konnten mit der gewählten HPLC-Analysemethode zuverlässig aufgetrennt werden. Die gemessenen Gehalte zeigen, dass diese empfindlichen Inhaltsstoffe während der gewählten Probenaufbereitung, Extraktion und HPLC-Analyse schonend behandelt wurden.

weitere Inhaltsstoffe

Die zahlreichen weiteren Inhaltsstoffe, die in Johanniskraut vorkommen, wurden trotz vorhandener Hinweise auf eine Beteiligung an der pharmakologischen Wirksamkeit von der Analyse ausgeschlossen. So konnte beispielsweise nachgewiesen werden, dass die Gruppe der kondensierten Tannine eine bedeutende Rolle als Lösungsvermittler für Naphthodianthrone einnimmt (BUTTERWECK 1997). Auch eine Beteiligung der Xanthone an der pharmakologischen Wirksamkeit von *Hypericum*-Extrakten wird diskutiert (SPARENBERG 1993). Dennoch reichen die Befunde gegenwärtig nicht aus, einen direkten quantitativen Zusammenhang zur pharmakologischen Wirksamkeit herzustellen, der eine Ausrichtung der Selektion neuer Sorten auf diese Inhaltsstoffe rechtfertigen würde.

Die hohe Variabilität bezüglich der untersuchten pharmakologisch relevanten Einzelsubstanzen lässt eine ähnlich hohe Variabilität auch bei den in den Analysen nicht berücksichtigten weiteren Inhaltsstoffen erwarten. Sollten seitens der medizinischen Forschung künftig neue Erkenntnisse über bislang zurückhaltend bewertete Inhaltsstoffe oder Substanzgruppen vorliegen, sind sowohl die Selektionskriterien als auch die Analysemethoden dementsprechend anzupassen.

3. Physiologie der Ertragsbildung

Die wirksamkeitsbestimmenden Inhaltsstoffe von Johanniskraut sind besonders hoch in den Knospen und Blüten konzentriert. Deshalb wird nur der Blühhorizont geerntet, der getrocknet das Produkt *HYPERICI HERBA* ergibt. Es enthält neben Blüten und Knospen in verschiedenen Entwicklungsstadien auch Blätter, Stängel und unreife Kapseln. Um eine Aussage über die Drogenqualität und deren Entstehung treffen zu können, ist es notwendig, den Entwicklungsverlauf der Pflanzen und die Vorgänge in den Knospen und Blüten während der Blühperiode zu verstehen. Sie stehen deshalb im Mittelpunkt der Untersuchungen zur Ertragsbildung.

In diversen Untersuchungen (BRAUNEWELL 1991, MÁRTONFI and REPČÁK 1994, TEKEL'OVÁ et al. 2000) wurden bereits die Inhaltsstoffe einzelner Pflanzenorgane wie Stängel, Blätter, Knospen, Blüten und Kapseln analysiert, deren Anteile an der Droge zu verschiedenen Ernteterminen bestimmt und so Rückschlüsse auf die Drogenqualität gezogen. In dieser Arbeit werden erstmals detaillierte Untersuchungen zur Physiologie der Ertragsbildung durchgeführt, Zusammenhänge zwischen den einzelnen Aspekten hergestellt und Empfehlungen für den praktischen Anbau und die züchterische Bearbeitung von Johanniskraut erarbeitet.

3.1 Blühverlauf

Da in den Blüten die höchsten Konzentrationen an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen gebildet werden, lässt sich über die Anzahl der Blüten ein direkter Zusammenhang zum Ertragspotential einer Herkunft ableiten. Die Eigenart des Johanniskrautes, dass die Blüten nur für jeweils einen Tag aufblühen, eröffnet die Möglichkeit über das tägliche Zählen der offenen Blüten wertvolle Informationen zur Physiologie der Ertragsbildung zu gewinnen. Zum einen kann das Ertragspotential aus der Gesamtzahl der Blüten hergeleitet werden. Zum anderen lässt sich eine klare Aussage über die zeitliche Entwicklung des Ertrages treffen.

Abbildung 57 zeigt die Anzahl der geöffneten Blüten als gleitenden Mittelwert über einen Zeitraum von fünf Tagen¹. Dadurch werden im Unterschied zu den Einzelwerten (vgl. III 4.1, Abbildung 29) die täglichen Schwankungen rechnerisch ausgeglichen, so dass die charakteristischen Merkmale der untersuchten Herkünfte bezüglich ihres Blühverhaltens zutage treten.

Die graphische Darstellung macht deutliche Unterschiede in der Anzahl der täglich geöffneten Blüten und der insgesamt gebildeten Blüten sichtbar, die in der Tabelle zu den phänologischen Daten ihre Bestätigung finden (vgl. Tabelle 53). Trotz des Umstandes, dass pro Herkunft lediglich zwei bzw. drei Pflanzen untersucht wurden, ist festzustellen, dass SN-1 und 'Topaz' insgesamt mehr Blüten bilden als die Sorte 'Taubertal'.

¹ Ab dem dritten Tag berechnet als Mittelwert aus dem aktuellen Tag, den beiden vorigen und den beiden kommenden Tagen.

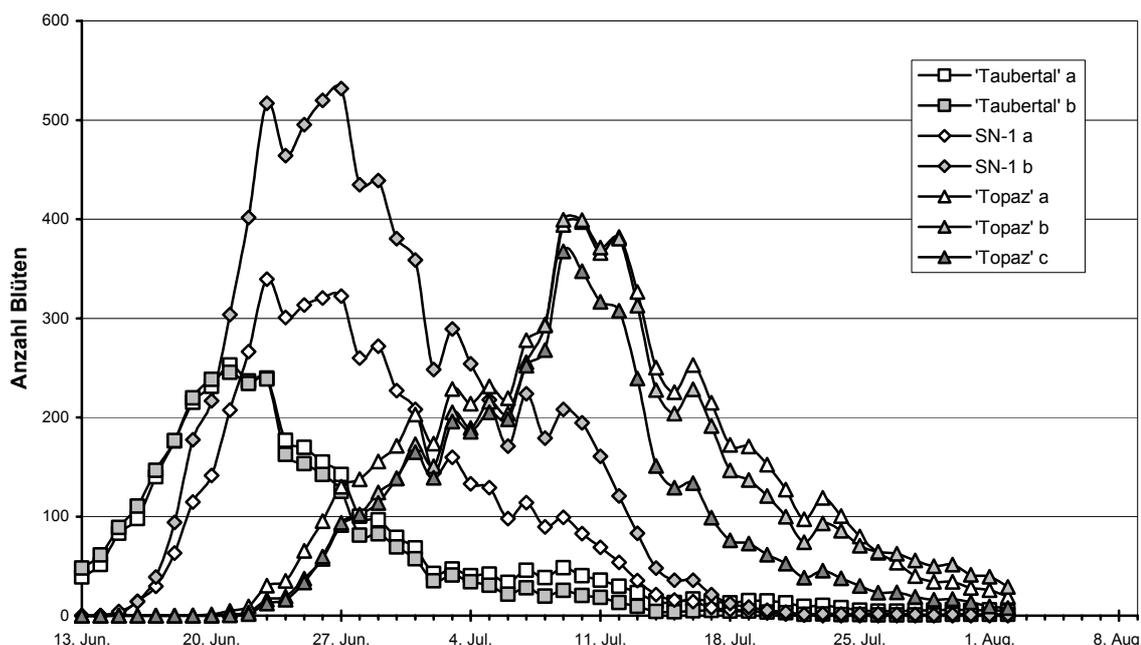


Abbildung 57: Blühverlauf von 'Taubertal', SN-1 und 'Topaz'; gleitender Mittelwert über 5 Tage

Für das Aufblühverhalten der einzelnen Genotypen, das im Mittelpunkt der Untersuchung steht, ist die Summe aller Blüten nur bedingt relevant. Die Blüte setzt bei 'Taubertal' zwölf Tage und damit fast zwei Wochen früher ein als bei der spätblühenden Sorte 'Topaz'. Die Herkunft SN-1 blüht vier Tage später als 'Taubertal'. Der viel steilere Anstieg der gemittelten Blühverlaufskurve belegt anschaulich, dass SN-1 sehr viel schneller aufblüht als die beiden Sorten. Damit hat sich der optische Eindruck, dass SN-1 eine kürzere Blühdauer hat und weniger Blüten bildet als 'Taubertal', nicht bestätigt. 'Topaz' weist im Vergleich zu den linkschiefen Kurven von 'Taubertal' und besonders SN-1 eine fast symmetrische Glockenkurve ähnlich der Gauß'sche Normalverteilungskurve auf. Somit blüht 'Topaz' nicht nur später, sondern auch viel länger als SN-1 und vor allem 'Taubertal'.

Die untersuchten Einzelpflanzen einer Herkunft verhalten sich nahezu identisch. Zudem ist zu beobachten, dass sich auch die täglichen Schwankungen unabhängig von der Herkunft und dem jeweiligen Blühbeginn auffallend parallel entwickeln (vgl. Abbildung 29). Dieser Zusammenhang ist auf das jeweilige Tagesklima zurückzuführen. Generell blüht Johanniskraut an sonnigen und warmen Tagen besonders stark. Im Verlauf längerer Schönwetterperioden fällt die tägliche Zahl der offenen Blüten jedoch ab, um dann nach Regen wieder merklich zuzunehmen. Darüber hinaus öffnen sich an Tagen mit kühlerer Witterung weniger Blüten. Eine Schwankung, die sich aus dem abfolgenden Aufblühen verschiedener Ordnungen innerhalb eines Blütenstandes ergeben könnten, kann aus den erhobenen Daten nicht abgeleitet werden. Diese Einflussgröße mag zwar für den einzelnen Trieb vorhanden sein, wird aber innerhalb einer Pflanze durch die asynchrone Entwicklung der Triebe (im Zentrum der Pflanze blühen sie in der Regel zuerst auf) und das Wetter überlagert.

3.2 Entwicklung der Inhaltsstoffe in der Droge

Hintergrund für die Untersuchungen zur Entwicklung der Inhaltsstoffe in der Droge waren einerseits Überlegungen zur Standardisierung der Probenahme für die Züchtung. Andererseits tritt im praktischen Anbau immer wieder die Frage nach dem idealen Erntezeitpunkt auf.

BRAUNEWELL (1991) empfiehlt auf Basis eines maximalen Hypericingehaltes die Ernte zum Zeitpunkt der "Vollblüte", die dann erreicht sei, wenn sich die terminale Blüte bereits zu einer deutlichen grünen Kapsel entwickelt habe. Entscheidend für eine definitive Aussage zum idealen Erntetermin ist zuerst die Beantwortung der Frage, ob sich durch die Verschiebung der Ernte um wenige Tage überhaupt nennenswerte Qualitätsunterschiede in der Droge ergeben. Dabei wurde im Unterschied zu BRAUNEWELL (1991) nicht nur der Gesamthypericingehalt, sondern das gesamte Spektrum pharmakologisch relevanter Inhaltsstoffe untersucht.

Zuerst ist es sinnvoll, die gewählten Probetermine zu erläutern und die physiologischen Stadien der Sorte 'Taubertal' mit den Ergebnissen zum Blühverhalten in Beziehung zu setzen (vgl. Abbildung 58). Die eng gestaffelte Probenahme wurde in der Periode der augenscheinlich intensivsten Blüte vorgenommen, die auch in der Praxis für die Ernte eines Johanniskrautbestandes in Frage kommt. Die Darstellung zeigt, dass die sieben Probetermine (weisse Pfeile) mit der höchsten Blühintensität übereinstimmen. Die Termine der Probenahme über die gesamte generative Phase orientieren sich an den physiologischen Entwicklungsstadien des Bestandes (vgl. Tabelle 24). Sie sind in der Darstellung durch graue Pfeile markiert. Die Abbildung zeigt im Nachhinein, dass sowohl für die Probenahme während der Blühperiode als auch für die Probenahme über die gesamte generative Phase Termine gewählt wurden, die markanten Bereichen und Punkten des Blühverlaufs entsprechen.

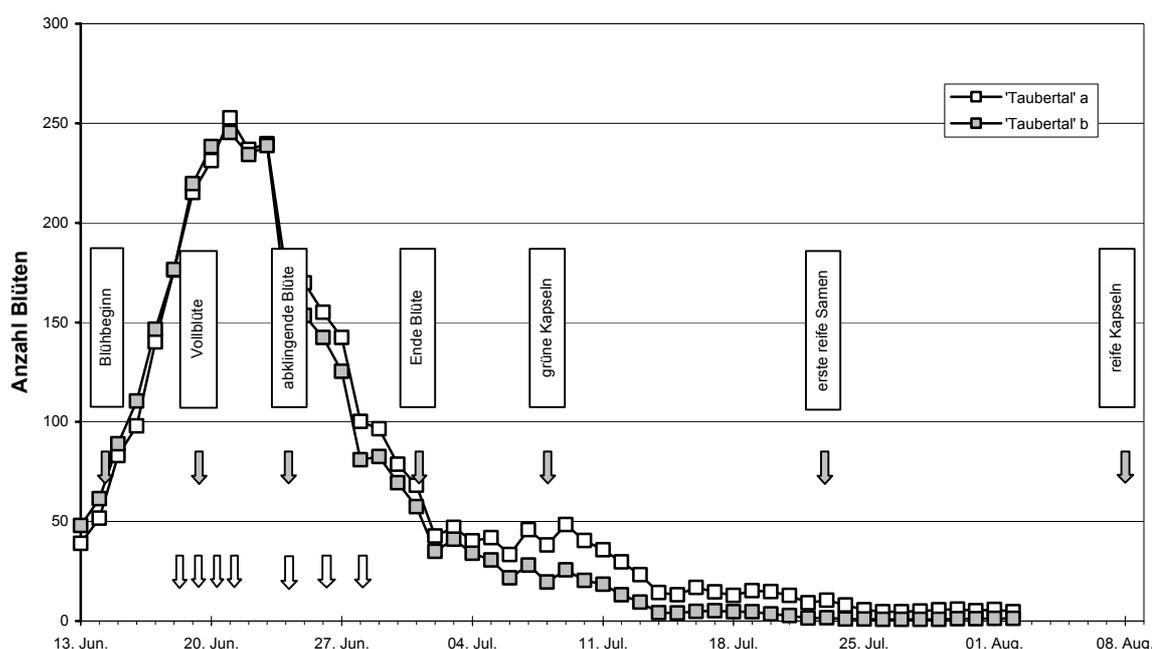


Abbildung 58: Erntetermine und physiologische Stadien im Blühverlauf von 'Taubertal'

In Abbildung 59 sind die Einzelpflanzenenerträge und die entsprechenden Mittelwerte (vgl. Tabelle 54 und Tabelle 55) zu den jeweiligen Probeterminen graphisch dargestellt. Trotz der erheblichen Streuung der Messwerte und der relativ kleinen Anzahl von acht Proben pro Erntetermin lassen die Daten eine deutlich steigende Tendenz erkennen. Dabei fällt auf, dass während des zweiwöchigen Zeitraums der Blüte nur ein schwacher Ertragszuwachs festzustellen ist. Erst im langfristigen Zusammenhang wird ein beachtlicher Ertragsanstieg erkennbar, der sich durch eine polynomische Funktion beschreiben lässt. Als Ursache dafür ist anzunehmen, dass erst die Kapselbildung zu einer signifikanten Zunahme des Trockengewichtes führt, die mit der Samenreife ihr Maximum erreicht. Diese Datenlage deckt sich mit den Beobachtungen im Feldbestand. Bei einem Einzelpflanzenenertrag von 25 bis 35 g Droge und einer Pflanzdichte von 50.000 Pfl./ha (vgl. II 2) liegt der Ertrag von 12,5 bis 17,5 dt/ha im unteren Bereich der in der Praxis erreichten Größenordnung von 10 bis 70 dt/ha (BOMME 1997).

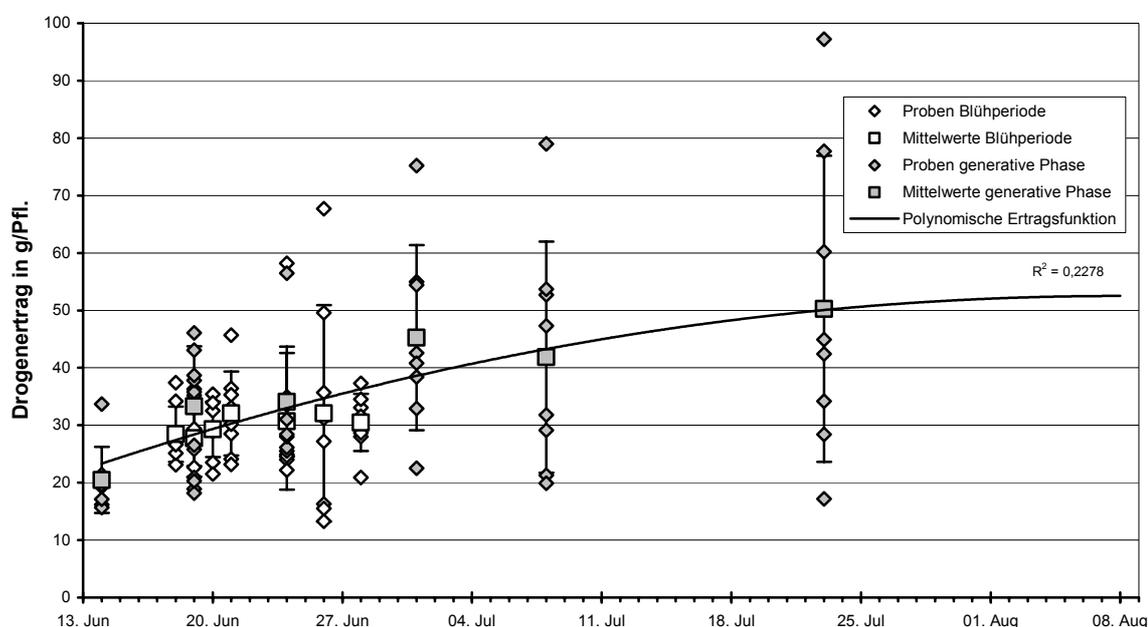


Abbildung 59: Drogenertrag zu den jeweiligen Ernteterminen, Einzel- und Mittelwerte ($n = 8$)

In den folgenden Abbildungen sind die Analysewerte der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe aus Tabelle 54 und Tabelle 55 zur besseren Verdeutlichung und Interpretation der Entwicklungsverläufe und im Hinblick auf eine Einordnung der Blühperiode in den Zusammenhang der generativen Phase graphisch dargestellt. Der Vergleich der Inhaltsstoffentwicklung im Verlauf der Blühperiode und der generativen Phase ergibt eine weitgehende Übereinstimmung der Daten im Überschneidungsbereich (vgl. Abbildung 60 bis Abbildung 63). Die in kurzem Abstand durchgeführte Beprobung während der Blühperiode liefert somit ein gutes Detailbild für den Zeitraum, der für die Entscheidung über den Erntetermin relevant ist. Die Beprobung über die generative Phase stellt hingegen den größeren Zusammenhang zu den physiologischen Vorgängen vom Blühbeginn über die Vollblüte bis hin zur Samenreife her.

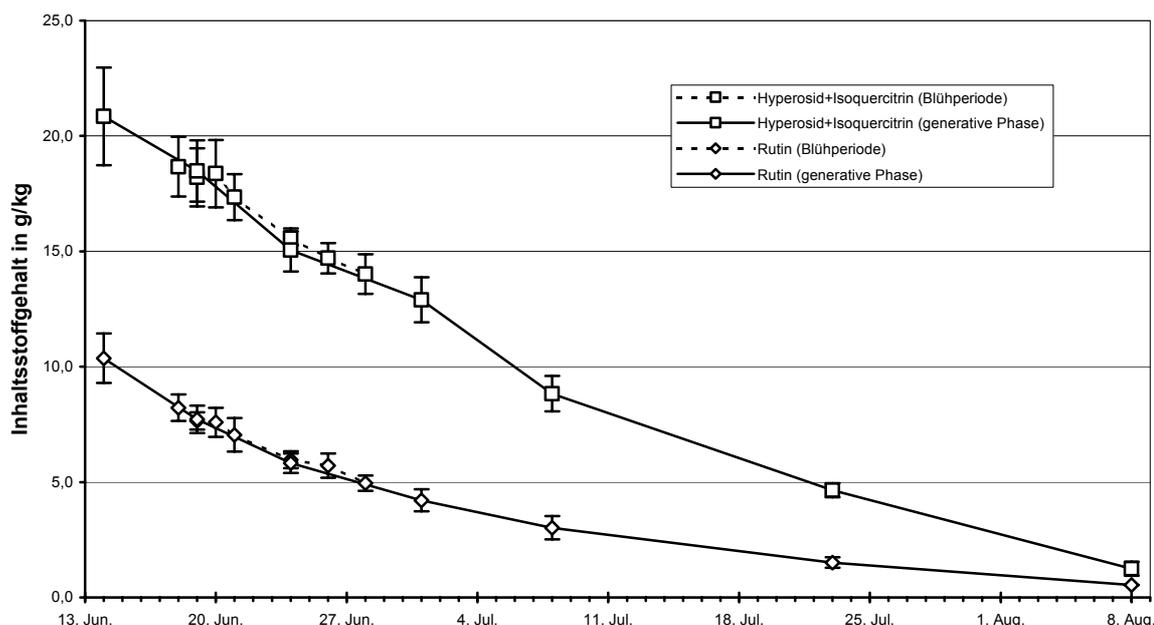


Abbildung 60: Entwicklung von Rutin und Hyperosid+Isoquercitrin ($n = 8$)

Für die Quercetinglykoside Rutin und Hyperosid+Isoquercitrin wurden zum Zeitpunkt des Blühbeginns die höchsten Gehalte in der Droge gemessen (vgl. Abbildung 60). Mit fortschreitender Blüte ist ein kontinuierlicher Rückgang der Messwerte festzustellen, der aber keine signifikanten Unterschiede zwischen zwei aufeinanderfolgenden Tagen erwarten lässt. Der sehr stringente Zusammenhang über den gesamten untersuchten Zeitraum unterstreicht jedoch die Aussage, dass bezüglich Rutin, Hyperosid und Isoquercitrin mit einem täglichen Qualitätsverlust zu rechnen ist. Ursache dafür ist, dass die grünen Pflanzenteile und Knospen, die erheblich zum Gehalt an Rutin, Hyperosid und Isoquercitrin beitragen (vgl. IV 3.3), zum Blühbeginn dominieren und bei fortschreitender Blüte anteilmäßig abnehmen.

Die höchsten Gehalte von Quercitrin, Quercetin und Biapigenin werden nicht schon bei Blühbeginn, sondern erst mit Eintreten der Vollblüte gemessen (vgl. Abbildung 61). Quercitrin erreicht in der ersten Woche der Blühperiode sein Maximum und nimmt dann kontinuierlich ab. Obwohl die Standardabweichungen relativ groß sind, ist klar zu erkennen, dass bereits eine Woche später ein Rückgang von ca. 25 % zu verzeichnen ist. Eine parallele Entwicklung ist bei den Gehalten von Quercetin festzustellen. Allerdings fällt der Rückgang weniger stark aus. Das unterschiedliche Verhalten im Vergleich zu Rutin und Hyperosid+Isoquercitrin liegt darin begründet, dass Quercitrin und Quercetin fast ausschließlich in den Petalen und Stamina lokalisiert sind (vgl. Abbildung 65). Biapigenin erreicht die höchsten Konzentrationen bereits zu Beginn der Blühperiode. Danach fällt der Biapigeningehalt drastisch ab. Der Grund für diesen Effekt liegt darin, dass Biapigenin fast ausschließlich in den Pollen enthalten ist, die im Verlauf der Blüte von den Insekten geerntet werden oder bei der Trocknung verloren gehen (vgl. IV 3.3).

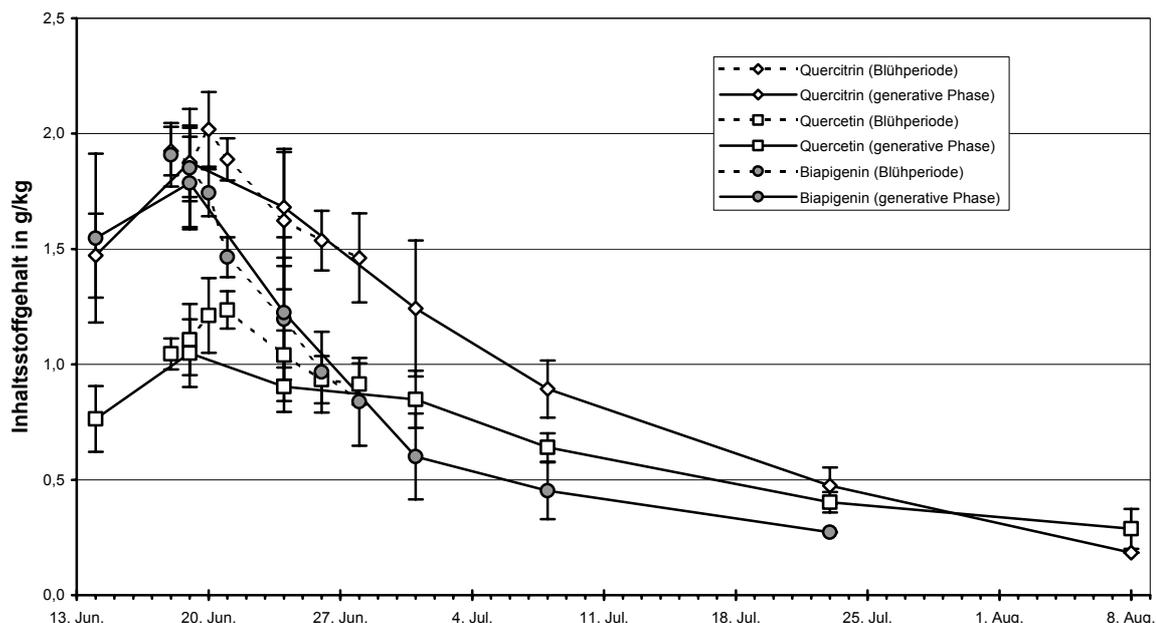


Abbildung 61: Entwicklung von Quercitrin, Quercetin und Biapigenin ($n = 8$)

Die höchsten Konzentrationen an Protoformen der Hypericine werden zu Beginn der Blüte gemessen (vgl. Abbildung 62). Mit dem Ende der Blühperiode unterschreiten die Protohypericine aufgrund des fortschreitenden natürlichen Umbaus in die Endstufen ihre Nachweisgrenze in der Droge. Die Hypericin- und Pseudohypericingehalte erreichen mit der Vollblüte einen Höhepunkt und gehen dann allmählich zurück. Die gewonnenen Ergebnisse decken sich mit den Daten von SOUTHWELL and BOURKE (2001), die den Hypericingehalt im Jahresverlauf vor dem Hintergrund der Toxizität (Hypericismus) für Weidetiere untersucht haben.

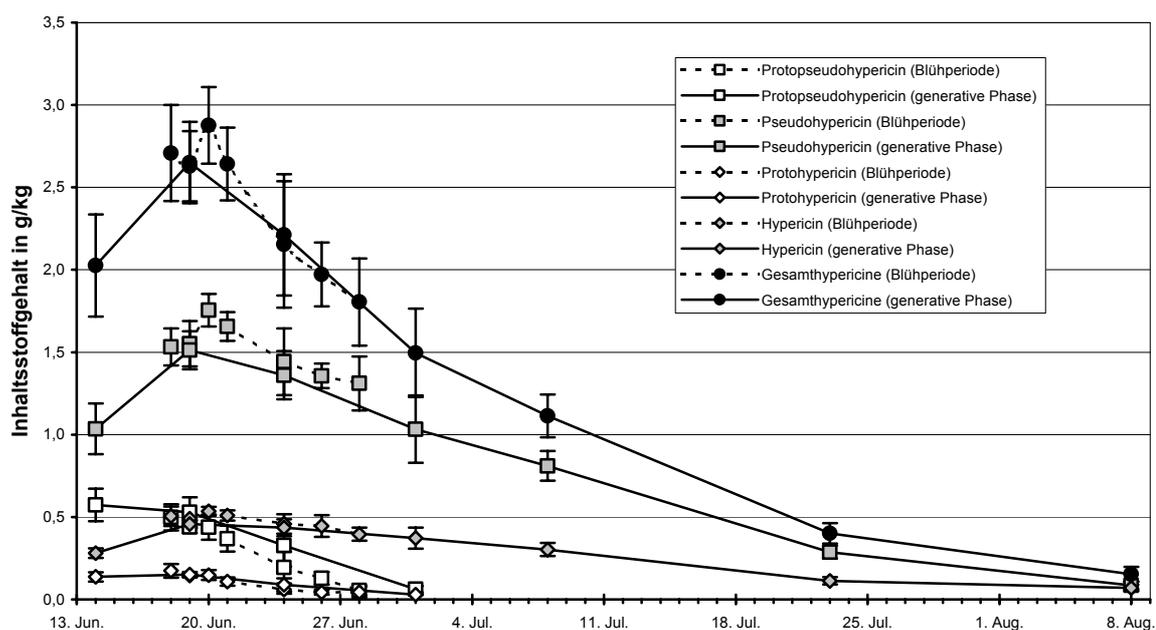


Abbildung 62: Entwicklung der Naphthodianthrone mit Gesamtgehalt ($n = 8$)

Das Verhältnis von Hypericin zu Pseudohypericin sowie von Protohypericin zu Protopseudohypericin bleibt aufgrund des parallelen Kurvenverlaufs konstant bei ca. 1:3. Da die Naphthodianthrone genauso wie Quercitrin und Quercetin hauptsächlich in den Petalen und Stamina konzentriert sind, treten deutliche Parallelen in der Entwicklung der Gehalte auf.

Addiert man die gemessenen Konzentrationen aller Naphthodianthrone, so stellt man fest, dass der geforderte Gehalt von mindestens 0,25 % Gesamthypericine (vgl. I 3.2.2) nur an den vier Ernteterminen während der intensivsten Blüte erreicht werden kann. Nach diesem kurzen Zeitfenster ist im Hinblick auf den Gesamthypericingehalt der Droge mit einem drastischen Qualitätsverlust zu rechnen.

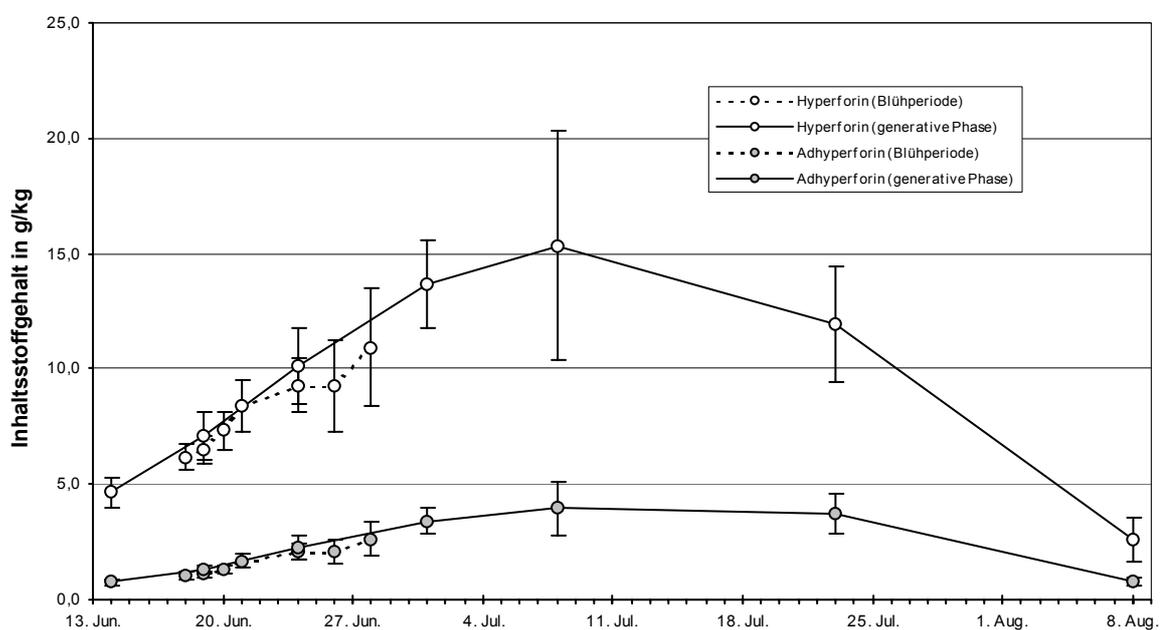


Abbildung 63: Entwicklung der Phloroglucinderivate ($n = 8$)

Es ist bekannt, dass der Gehalt an Phloroglucinderivaten in der Droge mit dem Wachstum und Anteil der Samenkapseln korreliert, die Samen selbst allerdings keine Hyperforine enthalten (MÁRTONFI and REPČÁK 1994). Ausgehend vom Blühbeginn erreicht Hyperforin bis zum physiologischen Stadium, in dem die Pflanzen fast ausschließlich grüne Kapseln aufweisen, die dreifache Konzentration. Mit Beginn der Samenreife geht der Hyperforingehalt wieder zurück und fällt mit der Kapselreife bis auf das Ausgangsniveau.

3.3 Entwicklung der Inhaltsstoffe in Einzelblüten

Neben der Entwicklung der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe in der Droge ist die Entwicklung in den Einzelblüten aus züchterischer Sicht von besonderem Interesse. Dabei wurde zuerst die Entwicklung während der Blühperiode und im Tagesverlauf untersucht. Das Vorhandensein möglicher Auswirkungen der Position innerhalb des Blütenstandes auf die Inhaltsstoffgehalte der Blüten wurde ebenfalls überprüft. Schließlich wurde die Lokalisation der Inhaltsstoffe in den Blütenorganen und die Inhaltsstoffbildung während der Knospent-entwicklung eingehend untersucht.

Blühverlauf

Das Trockengewicht der einzelnen Blüten nimmt vor allem in den ersten Tagen der Blühperiode ab (vgl. Abbildung 30). Das ist zu erwarten, da die terminalen Blüten einer Infloreszenz besonders gut entwickelt sind und die folgenden Blüten in der Regel kleiner ausfallen. Diese Beobachtung korrespondiert mit den Befunden zum Einfluss der Blütenposition auf das Blütengewicht (vgl. Abbildung 32).

Die Inhaltsstoffgehalte der Blüten ($n = 20$) unterliegen im Verlauf von 25 Tagen zwar gewissen Schwankungen. Ihr Mittelwert bleibt aber im Vergleich zu den Gehalten der Droge weitgehend konstant. Tabelle 62 zeigt die Veränderungen (Δ in %) der Inhaltsstoffgehalte in der Droge während der Blühperiode (11 Tage) bzw. vom Blühbeginn bis zur Ausbildung grüner Kapseln (25 Tage). Gleichzeitig sind die Schwankungen der Inhaltsstoffgehalte in den Blüten von 'Taubertal' in Form der prozentualen Standardabweichung (s_e in %) über einen Zeitraum von ebenfalls 25 Tagen dargestellt (vgl. Abbildung 31).

Tabelle 62: Vergleich zur Entwicklung der Inhaltsstoffgehalte in Droge und Blüten

Zeitraum g/kg	Droge Blühperiode			Droge "Blühbeginn" bis "grüne Kapseln"			Blütenproben ($n = 20$)
	11 Tage			25 Tage			25 Tage
	Max.	Ende	Δ in %	Max.	Ende	Δ in %	s_e in % ($n = 2*17$ Proben)
RUT	8,22	4,95	-39,8 %	10,37	3,02	-70,9 %	± 6,0
H+I	18,67	14,01	-25,0 %	20,85	8,83	-57,6 %	± 7,5
QIT	2,02	1,46	-27,7 %	1,88	0,89	-52,7 %	± 11,0
QER	1,24	0,91	-26,6 %	1,05	0,64	-39,0 %	± 13,4
BIA	1,91	0,84	-56,0 %	1,79	0,45	-74,9 %	± 44,6
PPS	0,50	0,05	-90,0 %	0,57	-	-100,0 %	± 37,4
PSH	1,76	1,31	-16,5 %	1,51	0,81	-46,4 %	± 22,6
PHY	0,17	0,04	-76,5 %	0,15	-	-100,0 %	± 37,0
HYP	0,50	0,40	-20,0 %	0,46	0,30	-34,8 %	± 11,6
HFO	6,17	10,93	+77,1 %	4,63	15,35	+231,5 %	± 17,2
AHF	1,04	2,61	+151,0 %	0,74	3,95	+433,8 %	± 16,1

Bei einer Messung der Inhaltsstoffe in der Droge ist bereits bei einer Verschiebung des Erntetermins um wenige Tage mit einer absehbaren Entwicklung der Gehalte nach unten bzw. oben zu rechnen. Die Gehalte der Inhaltsstoffe in den Blüten unterliegen dagegen über die Blühperiode nur einer vergleichsweise geringen Schwankung um einen festen Mittelwert. Während diese Schwankung durch Vergrößerung des Probenumfangs von 20 auf beispielsweise 50 Blüten nachhaltig verkleinert werden kann, hängen die Gehalte der Droge in erster Linie vom Erntetermin ab. Die hohe Standardabweichung bei Biapigenin und den Protoformen der Hypericine ist aufgrund des Pollenverlustes beim Trocknen (siehe unten) und der raschen Umwandlung der Protohypericine unter Lichteinwirkung zu erwarten.

Tagesverlauf

Über den Tagesverlauf bleiben die Konzentrationen der untersuchten Inhaltsstoffe im Wesentlichen gleich (vgl. III 4.3.2). Eine Ausnahme bildet Biapigenin, dessen Gehalte im Verlauf des Vormittags innerhalb von vier Stunden um ca. 60 % zurückgehen (vgl. Abbildung 64). Dieser Effekt bestätigt die Vermutung von TEKEL'OVÁ et al. (2000), dass das Biapigenin, welches vorwiegend in den Stamina (siehe Abbildung 65) lokalisiert ist, dort wiederum in den Pollen gebildet wird. Mit der fortschreitenden Öffnung der Antheren und dem Abtrag des Pollens durch Bienen und Hummeln nimmt also der Biapigeningehalt der Blüten bis zur Mittagszeit drastisch ab. Dieser Zusammenhang erklärt – in Verbindung mit dem hohen Verlust von Pollen während der Trocknung und Verarbeitung der Droge – die generell hohen Schwankungen von Messwerten für den Biapigeningehalt verschiedener Proben.

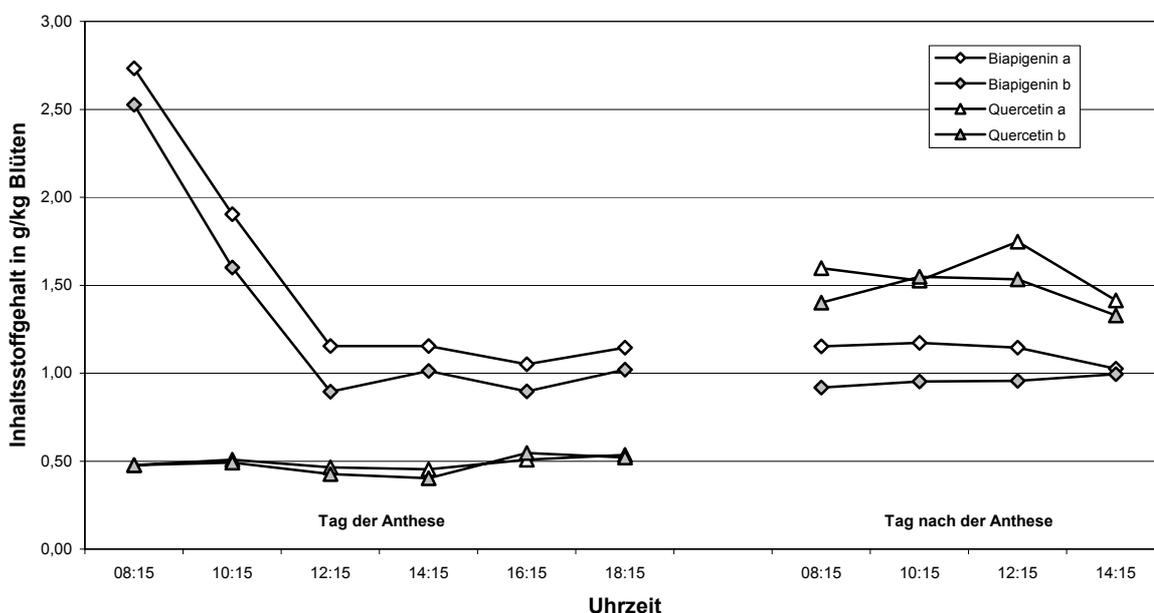


Abbildung 64: Entwicklung von Biapigenin und Quercetin im Tagesverlauf bei 'Topaz'

Für den Tag nach der Anthese ist festzustellen, dass die meisten Inhaltsstoffe ihre Konzentration nicht verändern. Eine Ausnahme bilden Quercetin, Protoseudohypericin und die

Phloroglucinderivate Hyperforin und Adhyperforin. Ursache dafür, dass Quercetin am folgenden Tag in der dreifachen Konzentration vorliegt, könnte zum einen eine biochemische Freisetzung des Aglykons durch Hydrolyse der Quercetinglykoside sein, deren Gehalte jedoch nicht den infolgedessen zu erwartenden Rückgang zeigen. Zum anderen kommt als Ursache eine erhöhte Löslichkeit bei der Extraktion aufgrund der fortgeschrittenen Dekompartimentierung der Zellstruktur in Frage (vgl. IV 2.1.1). Der Verlust von Protopseudohypericin im Verlauf des Vormittags zeigt den vollständigen Umbau der Protoform durch Lichteinwirkung in die Endstufe Pseudohypericin. Die bereits am Tag nach der Anthese ansteigenden Hyperforin- und Adhyperforingehalte weisen auf das einsetzende Wachstum des Fruchtknotens hin.

Positionseffekte

Die Beobachtung, dass Blüten innerhalb einer Infloreszenz mit zunehmender Ordnung kleiner werden, konnte bei der Untersuchung von Positionseffekten bestätigt werden (vgl. Abbildung 32). Ein deutlicher Einfluss der Blütenposition auf die Inhaltsstoffgehalte wurde jedoch nur für Quercitrin und Quercetin nachgewiesen (vgl. Tabelle 57).

Lokalisation in den Blütenorganen

Die Untersuchung zur Lokalisation der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe in der Blüte von NF-1 zeigt, dass die Sepalen, Petalen, Stamina und Pistille jeweils ein spezifisches Inhaltsstoffmuster aufweisen (vgl. Abbildung 35). Verrechnet man die Konzentrationen der einzelnen Organen mit dem Anteil ihres Gewichtes an der gesamten Blüte, wird sichtbar, welchen individuellen Beitrag sie zum Gesamtgehalt eines jeden Inhaltsstoffes leisten (vgl. Abbildung 65).

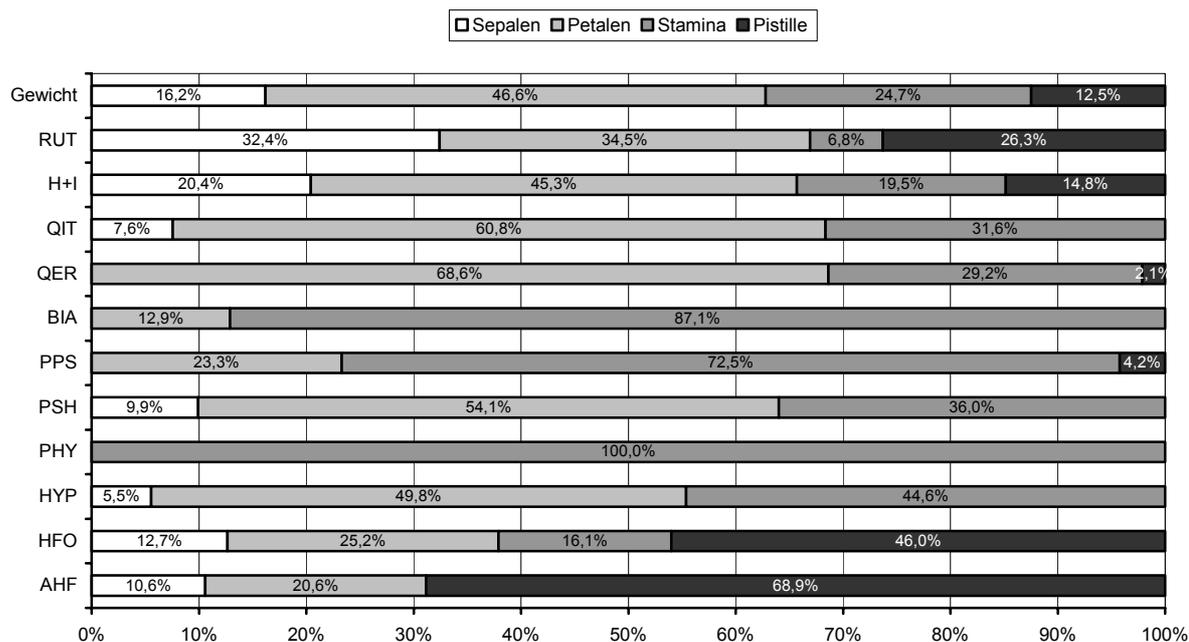


Abbildung 65: Verteilung der Inhaltsstoffe und des Gewichtes auf die Blütenorgane von NF-1

Rutin kommt in allen Blütenorganen vor, wobei die relativ hohen Mengen in Sepalen und Pistill auffallen. Da die Konzentration von Hyperosid+Isoquercitrin in allen Organen eine vergleichbare Größenordnung aufweist, spiegelt deren Beitrag zum Gesamtgehalt in etwa die Gewichtsverteilung wider. Quercitrin und Quercetin kommen vorwiegend in den Petalen und Stamina vor. Für den Biapigeningehalt einer Blüte sind mit einem Anteil von fast 90 % hauptsächlich die Stamina verantwortlich.

Das Vorkommen von Pseudohypericin und Hypericin beschränkt sich auf Sepalen, Petalen und Stamina, also die Blütenorgane, die reich an streifen- oder punktförmigen Hypericinbehältern sind. Obwohl die Stamina eine höhere Konzentration aufweisen, tragen die Petalen aufgrund ihres größeren Anteils am Gewicht auch am meisten zum Gesamthypericingehalt der Blüte bei. Im Fruchtknoten von NF-1 kommen keine nachweisbaren Mengen an Hypericinen vor, da die Hypericingehalte der Narbenpapillen sehr gering sind und diese Herkunft keine Hypericinbehälter im Fruchtknoten aufweist (vgl. Abbildung 71). Die Protoformen der Naphthodianthronen erreichten nur in den Stamina nennenswerte Gehalte.

Die Phloroglucinderivate zeigen bezüglich ihrer Lokalisation in den Blüten deutliche Unterschiede. Hyperforin kommt zwar in allen Blütenorganen vor, der Pistill stellt jedoch aufgrund der etwa sechsfachen Konzentration den größten Anteil am Gesamtgehalt. Für Adhyperforin liegen die selben Verhältnisse vor mit dem Unterschied, dass sich in den Stamina keine Spuren dieses Phloroglucinderivates nachweisen lassen. Obwohl die Befunde in erster Linie für NF-1 gelten, stimmen sie in ihrer Grundaussage mit denen von REPČÁK and MÁRTONFI (1997) überein und können deshalb auf die meisten *H.-perforatum*-Herkünfte übertragen werden.

Knospenentwicklung

Im Verlauf der Entwicklung einer Knospe bis zur Anthese findet die Bildung der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe auf höchst unterschiedliche Weise statt (vgl. Abbildung 36). Rutin und Quercitrin werden in gleichem Maße gebildet wie die Gewichtszunahme der Knospen vonstatten geht. Deshalb steigt ihre Konzentration nur langsam an. Der drastische Rückgang des Quercetingehaltes ab Stadium IV korreliert mit der starken Zunahme von Hyperosid+Isoquercitrin. Dies ist ein deutliches Anzeichen dafür, dass die Biosynthese von Quercetin nach ihrem Höhepunkt in Stadium III und IV abnimmt und der aufgebaute Vorrat an Quercetin verstärkt durch Glykosylierung in Rutin, Quercitrin und vor allem Hyperosid+Isoquercitrin umgesetzt wird. Davon unabhängig steigt die Konzentration von Biapigenin im Verlauf der Knospenentwicklung enorm an. Der niedrigere Wert für Biapigenin zur Anthese (Stadium VI) lässt sich durch den Verlust des biapigeninhaltigen Pollens erklären (vgl. oben).

Die Gehalte der Naphthodianthronen zeigen sehr charakteristische Verläufe (vgl. Abbildung 37). Der deutliche Rückgang von Pseudohypericin und Hypericin im Stadium II hängt vermutlich mit dem Zuwachs der Petalen und dem damit verbundenen anteilmäßigen Rückgang der hypericinholdigen Sepalen zusammen. Die Protoformen der Hypericine nehmen im Ver-

lauf der Knospenentwicklung beständig zu, zeigen aber bei Anthese einen starken Rückgang. Dieser erklärt sich aus dem postulierten Biosyntheseweg für Naphthodianthron, der bei den Protohypericinen endet. Die oxidative Umsetzung in die Endstufen findet im Anschluss allein durch Lichteinfluss statt (WALKER 2004). Für den starken Abfall der Protohypericine im Stadium der Anthese ist sicher zum einen der Rückgang der Biosynthese verantwortlich. Zum anderen werden die zunächst vor Lichteinfall geschützten Hypericinbehälter an den Antheren bei der Blütenöffnung dem Sonnenlicht exponiert. Dadurch werden relativ große Mengen der akkumulierten Protoformen innerhalb kurzer Zeit in ihre jeweiligen Endstufen umgewandelt.

Der anfänglich leichte Rückgang der Konzentration von Hyperforin und Adhyperforin lässt sich ebenfalls aus der Verschiebung der Verhältnisse zwischen Petalen und Sepalen erklären. Mit dem Wachstum des Fruchtknotens nimmt dann die Konzentration der Naphthodianthron wieder zu. Für den Abfall des Hyperforingehaltes während der Anthese ist vermutlich eine teilweise Zerstörung des empfindlichen Hyperforins bei Lichtexposition verantwortlich.

3.4 Konsequenzen für die Anbaupraxis

Für die Herstellung von Extrakten und Arzneimitteln sind vor allem die Knospen und Blüten des Johanniskraut interessant, da sich dort die höchsten Konzentrationen der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe befinden. Als Zugeständnis an die Erntetechnologie wird in der Praxis der blütenreiche obere Teil der Pflanzen, der sogenannte Blühhorizont geerntet. Sowohl bezüglich der Wahl des Erntetermins während der bis zu drei Wochen dauernden Blühperiode als auch bezüglich der Abgrenzung des Blühhorizontes befinden sich Erzeuger, Abnehmer und Züchter in einem Spannungsfeld zwischen Definition und Realität. BRAUNEWELL (1991) gibt als optimalen Erntetermin das Stadium der "Vollblüte" an, das dann erreicht ist, wenn sich „die terminale Blüte in eine Kapsel verwandelt hat“.

In der Praxis ergeben sich trotz dieser Empfehlung Probleme bei der Festlegung des Erntetermins. Einer der Gründe liegt darin, dass sich die Untersuchungen von BRAUNEWELL (1991) ausschließlich auf den Hypericingehalt beziehen und die Probestermine im wöchentlichen Abstand gewählt wurden. Weitere Gründe liegen in den unterschiedlichen Vorstellungen seitens der Erzeuger und Abnehmer über Ertrag und Qualität der Droge.

Zuerst sind von allen Seiten die als Mindestanforderungen geltenden Vorschriften der Monographie für HYPERICI HERBA des PH. EUR. (2005) einzuhalten. Dazu kommen Anforderungen der pharmazeutischen Industrie, die meist Bestandteil der Vereinbarungen zum vertraglichen Anbau von Johanniskraut sind (vgl. Tabelle 2). Trotz vertraglicher Vereinbarungen und gegenseitiger Zusicherungen treffen an dieser Schnittstelle die ökonomischen Interessen von Erzeuger und Abnehmer aufeinander. Während für den Produzenten nach Erfüllung der Qualitätsnormen vor allem die quantitativen Aspekte des Ertrages zur Steigerung des ökonomi-

schen Erfolges beitragen, sind es auf Seiten der Abnehmer hohe pharmakologische Qualitäten zu erschwinglichen Preisen.

Für die Ermittlung des optimalen Erntetermins sind daher sowohl quantitative als auch qualitative Gesichtspunkte zu berücksichtigen, nämlich der Drogenenertrag und der Gehalt an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen. Aus den vorgestellten Untersuchungen zur Physiologie der Ertragsbildung lassen sich daher zahlreiche Konsequenzen für den Anbau von Johanniskraut ableiten. So konnten sowohl für die einzelnen Inhaltsstoffe als auch für die Substanzklassen charakteristische Verläufe ihrer Gehalte festgestellt werden (vgl. IV 3.2). Tabelle 63 zeigt die Stadien mit den maximalen Gehalten der Inhaltsstoffe in der Droge. Da bei den Flavonoiden durch die hohen Konzentrationen von Rutin, Hyperosid und Isoquercitrin der spätere Anstieg der restlichen Flavonoide komplett überlagert wird, erreicht der Gesamtgehalt der Flavonoide sein Maximum bereits bei "Blühbeginn". Die Naphthodianthrone liegen während des physiologischen Stadiums der "Vollblüte" in ihrer höchsten Konzentration vor. Die Phloroglucinderivate erreichen ihre höchsten Gehalte im Stadium "grüne Kapseln".

Tabelle 63: Stadien mit den maximalen Gehalten der Inhaltsstoffe in der Droge

Flavonoide:	
Rutin, Hyperosid+Isoquercitrin	Blühbeginn
Quercitrin, Quercetin, Biapigenin	Vollblüte
<i>Flavonoide gesamt</i>	<i>Blühbeginn</i>
Naphthodianthrone:	
Protopseudohypericin, Protohypericin	Blühbeginn
Pseudohypericin, Hypericin	Vollblüte
<i>Naphthodianthrone gesamt</i>	<i>Vollblüte</i>
Phloroglucinderivate:	
Hyperforin, Adhyperforin	grüne Kapseln

Diese Ergebnisse zeigen sehr klar, dass der Erntetermin sowohl den Inhaltsstoffgehalt als auch das Verhältnis der drei Substanzklassen zueinander in direkter Weise bestimmt. Da bereits eine Verschiebung der Ernte um wenige Tage gravierende Auswirkungen auf die Qualität der gewonnenen Droge hat, muss der Frage nach dem idealen Erntetermin die entsprechende Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Falls von der verarbeitenden Industrie einer bestimmten Inhaltsstoffgruppe der Vorzug gegeben wird, liefern die gewonnenen Daten zur Inhaltsstoffentwicklung in der Droge eine klare Antwort auf die Frage nach dem idealen Erntetermin. Wird aufgrund der immer noch unklaren Wirkungsweise von Johanniskraut ein ausgewogenes Verhältnis angestrebt, muss eine Ernte im physiologischen Stadium der Vollblüte durchgeführt werden.

Während des physiologischen Stadiums "Vollblüte", das sich über einen Zeitraum von etwa vier Tagen erstreckt, liegen die pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe sowohl in hoher Konzentration als auch in einem ausgewogenen Verhältnis zueinander vor. Die Naphthodianthrone erreichen bei der Sorte 'Taubertal' nur in diesen vier Tagen den geforderten Gesamtgehalt von mind. 0,25 % in der Droge. Für den optimalen Erntetermin ergibt sich dadurch ein Zeitfenster von maximal vier Tagen, so dass ausreichend Spielraum für die logistische Bewältigung der Ernte gegeben ist. Die gewonnenen Daten belegen, dass in diesem Zeitraum auch der Ertrag weitgehend konstant bleibt (vgl. Abbildung 59). Gegen Ende der Blüte ist zwar mit einem Ertragsanstieg zu rechnen, allerdings rechtfertigt dieser keine spätere Ernte, da der Ertragszuwachs mit einem Verlust an Flavonoiden und Naphthodianthronen erkauft wird (vgl. Tabelle 62). Im Hinblick auf Gesamtertrag der Kultur ist ebenfalls zu berücksichtigen, dass je nach verwendeter Sorte und der individuellen Neigung zur Nachblüte der Erntetermin über die Möglichkeit einer zweiten Ernte entscheidet.

Objektiv betrachtet ist die Erzeugung qualitativ hochwertiger Droge anzustreben. Die praktische Umsetzung dieser Erkenntnis scheitert jedoch dann, wenn zwischen Erzeuger und Abnehmer keine Absprachen bezüglich der Inhaltsstoffgehalte getroffen oder lediglich Mindestgehalte vereinbart werden. Für den Fall, dass die Abnehmer auf bessere pharmakologische Qualität bei gleichem Preis spekulieren, wird der Erzeuger seinerseits dazu tendieren, eine möglichst hohe Menge gerade noch verkaufsfähiger Droge abzuliefern. Die Erzeugung und Verarbeitung von Droge mit möglichst hoher Qualität bietet jedoch bei entsprechendem finanziellen Anreiz für beide Seiten große arbeitswirtschaftliche und ökonomische Vorteile.

Besonders wenn die Droge als Ausgangsmaterial für die Herstellung von Trockenextrakt bestimmt ist, wirkt sich ein hoher Inhaltsstoffgehalt durch Einsparung von Lösungsmittel und Energie für die Trocknung positiv für die Extraktersteller aus. Eine spätere Ernte (z. B. auch der sogenannte "Hyperforin-Schnitt") führt zu einer Droge mit einem höheren Anteil an bereits ausgereiften Samenkapseln. Die Kapseln enthalten mit ihren Oberflächenwachsen, ihren Harzen und Ölen, die in speziellen Harzkanälen lagern, und mit den fetten Ölen der Samen eine Reihe lipophiler Begleitstoffe. Diese werden in Abhängigkeit vom Zerkleinerungsgrad der Droge, der Polarität des Extraktionsmittels und weiteren Extraktionsparametern in größerer Menge extrahiert und erschweren später die Trocknung und Formulierung des Extraktes (SCHMIDT 2003). Vermutlich spielen dabei auch Alterungsprozesse der Harze und Öle eine entscheidende Rolle.

Für den Produzenten bietet die Ernte von weniger Pflanzenmaterial mit höheren Inhaltsstoffgehalten ebenfalls Vorteile. So können schon bei der Ernte und dem innerbetrieblichen Transport Maschinen- und Arbeitsstunden eingespart werden. Weniger Erntegut mit besserer Qualität führt zu einer effizienteren Nutzung der hohen Energiekosten, die für die Trocknung aufgewendet werden müssen. Mit der zügigeren Verarbeitung können Qualitätsverluste und mikrobiologische Belastungen, die durch langes Zwischenlagern des frischen Pflanzenmateri-

als auftreten, nachhaltig vermieden werden. Schließlich lassen sich durch eine hohe Qualität der Droge sowohl auf Seiten der Produzenten als auch auf Seiten der Abnehmer Kosteneinsparungen bei Verpackung, Transport und Lagerung realisieren.

Einsparpotentiale durch qualitativ hochwertige Droge:

Produzent:

Ernte Maschinen- und Arbeitsstunden

Logistik Transport, schnelle Verarbeitung

Verarbeitung Trocknung, Verpackung, Lagerung

Abnehmer:

Logistik Transport, Lagerung

Extraktion Lösungsmittel, Trocknung

Das vorliegende Datenmaterial zeigt sehr deutlich, dass bereits die Verschiebung des Erntetermins um wenige Tage einen gravierenden Einfluss auf die pharmakologische Qualität der Droge hat. Davon sind sowohl die absoluten Gehalte der einzelnen Inhaltsstoffe als auch das Mengenverhältnis der wichtigsten Inhaltsstoffgruppen zueinander betroffen. Die Festlegung des optimalen Erntetermins setzt daher zuerst auf Seiten der pharmazeutischen Industrie eine intensive Auseinandersetzung mit der gewünschten Qualität der Droge voraus. Im Anschluss daran empfiehlt es sich, in partnerschaftlicher Zusammenarbeit mit dem Erzeuger den optimalen Erntezeitpunkt im Hinblick auf die angestrebte Drogenqualität festzulegen. Als Anhaltspunkt kann dabei eine bestimmte Anzahl von Tagen nach Blühbeginn oder die Wahl eines definierten Blühstadiums dienen. Im vorliegenden Fall erstreckt sich die Vollblüte vom vierten bis zum achten Tag nach Blühbeginn. Gleichzeitig blühen in diesem Zeitraum bei den meisten Trieben die Blüten dritter und vierter Ordnung der obersten Teilinfloreszenz (Blühstadien C1 und D1) beziehungsweise die Blüten zweiter und dritter Ordnung der darunterliegenden Teilinfloreszenz (Blühstadien B2 und C2) auf (vgl. Abbildung 12).

Der Biapigeninverlust der offenen Blüten durch Bienen und Hummeln (vgl. Abbildung 64) rechtfertigt keine Empfehlung zur ausschließlichen Ernte von Johanniskraut in den Morgenstunden. Die Pollen der bereits geöffneten Blüten würden während des Trocknungs- und Aufbereitungsprozesses mit hoher Wahrscheinlichkeit ohnehin verloren gehen. Vielmehr steht der Gehalt an Biapigenin aufgrund seines spezifischen Vorkommens in den Antheren in direktem Bezug zum Knospenanteil in der Droge. Daher kann der Biapigeningehalt als Qualitätskriterium für knospenreiche Droge herangezogen werden. Dieser Zusammenhang zwischen der Anzahl geöffneter Blüten (gleitender Mittelwert über 5 Tage) und dem Biapigeningehalt ist in Abbildung 66 dargestellt. Die Linksverschiebung der Werte für die Biapigeninkonzentration gegenüber der Anzahl geöffneter Blüten macht deutlich, dass die Knospen vor der Anthese die höchste Konzentration an Biapigenin aufweisen (vgl. Abbildung 36).

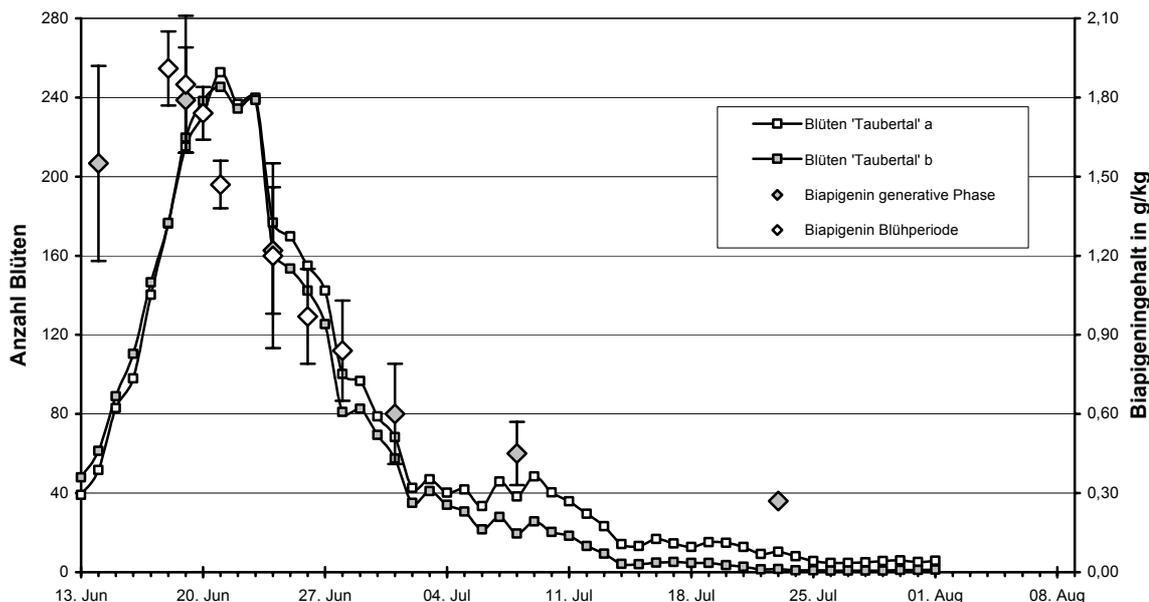


Abbildung 66: Zusammenhang zwischen Anzahl geöffneter Blüten und Biapigeningehalt

Im Zusammenhang mit der Diskussion zum optimalen Erntezeitpunkt verlangt das Thema Hyperforin besondere Aufmerksamkeit. Manche Extrakthersteller bevorzugen eine späte Ernte, die auch Hyperforin-Schnitt genannt wird. Die Droge wird dabei innerhalb eines Zeitraumes geerntet, der zwischen den physiologischen Stadien "Ende Blüte" und "grüne Kapseln" liegt. Da für den Hyperforin-Schnitt nicht mehr das "blühende Kraut" von *Hypericum perforatum* geerntet wird, kann die Droge nicht mehr als arzneibuchkonform bewertet werden¹. Die Tatsache, dass die Droge nicht nur rein äußerlich, sondern auch innerlich eine substanziell veränderte Qualität aufweist, unterstreicht diesen Einwand. In dieser Phase erreicht der Hyperforingehalt zwar etwa das Doppelte im Vergleich zur Vollblüte. Gleichzeitig halbieren sich jedoch die Gehalte an Flavonoiden und Naphthodianthronen. Es ist daher kritisch zu hinterfragen, ob aus medizinischer und pharmakologischer Sicht hinreichende Erkenntnisse zur Wirksamkeit von Hyperforin vorliegen, die eine Maximierung des Gehaltes auf Kosten der zahlreichen anderen pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe rechtfertigen. Solange kein alleiniger Zusammenhang zwischen Hyperforingehalt und pharmakologischer Wirksamkeit als erwiesen gilt, ist zu prüfen, inwieweit der Hyperforingehalt des Extraktes nicht einseitig über die Wahl des Schnittzeitpunktes, sondern stattdessen über die Sortenwahl und die Optimierung der Verarbeitungs- und Extraktionstechnik gesteigert werden kann, ohne größere Verluste beim Flavonoid- und Hypericingehalt hinnehmen zu müssen. Schließlich gilt es zu bedenken, dass Hyperforin, über die Aktivierung enzymatischer Entgiftungsmechanismen des menschlichen Körpers für die Interaktionen von Johanniskrautpräparaten mit anderen Arzneimitteln verantwortlich ist (vgl. I 2.4).

¹ PH. EUR. (2005): "Definition: Johanniskraut besteht aus den blühenden, getrockneten, ganzen oder geschnittenen Triebspitzen von *Hypericum perforatum* L."

3.5 Konsequenzen für die Züchtungsarbeit

Wenn die Empfehlung für den optimalen Erntetermin von BRAUNEWELL (1991) für den praktischen Anbau Schwierigkeiten bereitet, dann gilt das umso mehr für die Erarbeitung klarer Selektionskriterien in der Züchtung. Dabei steht die Standardisierung der Probenahme zur Gewinnung reproduzierbarer Messergebnisse im Mittelpunkt. Die Herausforderung liegt hier zum einen in der Wahl des richtigen Erntezeitpunktes für die zu sehr unterschiedlichen Zeitpunkten blühenden Herkünfte. Zum anderen ist der Gehalt der Inhaltsstoffe in der Droge vom Verhältnis der generativen zu den vegetativen Pflanzenteilen abhängig.

In Kapitel IV 2 wird der Vorschlag diskutiert, die Probenahme zu Züchtungszwecken auf die Ernte von Blüten zu reduzieren. Die Vorgehensweise von HÖLZL und OSTROWSKI (1987), zur Untersuchung der Variabilität von Inhaltsstoffgehalten nur eine einzige, und zwar die terminale, Blüte zu analysieren, wurde nicht übernommen, da sich die einzelnen Blüten einer Pflanze in ihren Inhaltsstoffgehalten massiv unterscheiden. Dies wird bereits makroskopisch in Form der unterschiedlichen Anzahl der Hypericinbehälter sichtbar. Um Positionseinflüsse und natürliche Schwankungen im Inhaltsstoffgehalt auszugleichen, wurden für Proben mit 50 Blüten jeweils 10 Blüten von fünf Pflanzen einer Parzelle geerntet. Die Untersuchungen zur Ertragsbildung zeigten, dass die Inhaltsstoffgehalte so gewonnener Blütenproben über die gesamte Blühperiode konstant bleiben. Die Analyse von Blüten liefert somit repräsentative Ergebnisse, die im Unterschied zur Analyse von Droge vom Erntetermin weitestgehend unabhängig sind. Da die einzelnen Blüten nur für einen Tag geöffnet bleiben, kann der Erntezeitpunkt auf ein klar definiertes Stadium festgelegt und so eine hohe Selektionsschärfe erzielt werden. Neben den analytischen Aspekten bietet die Ernte von Blüten aus züchterischer Sicht weitere Vorteile gegenüber der Ernte des vollständigen Blühhorizontes. Die restlichen Blüten verbleiben zur weiteren Beobachtung an der Pflanze und es kann Saatgut für die folgenden Versuchsjahre gewonnen werden. Auch aus arbeitswirtschaftlicher Sicht stellt die Ernte von Blüten eine wesentliche Vereinfachung dar. Aufgrund des geringeren Volumens kann die Ernte, Trocknung und Extraktion zahlreicher Proben sehr effizient bewältigt werden. Schließlich liefert das Abwiegen der Blütenproben gleichzeitig Daten über das Blütengewicht.

Vorteile der Analyse von Blüten:

klar definierter Probenumfang (im Vergleich zum Blühhorizont)
klar definierter Erntetermin (Blüte nur für einen Tag geöffnet)
hohe Selektionsschärfe (konstanter Inhaltsstoffgehalt)
ressourcenschonender Probenumfang (im Vergleich zur Abernte)
Gewinnung von Saatgut möglich
einfache Verfahrenstechnik bei der Verarbeitung und Extraktion
gleichzeitige Erfassung des Blütengewichtes

Nachteil: keine Erfassung der tatsächlichen Qualität der Droge möglich

Für die einzelnen pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe konnten zwar Korrelationen zwischen ihrem Gehalt in den Blüten und in der Droge (vgl. Tabelle 52) festgestellt werden, außer bei Rutin ($R^2 = 0,83$) sind diese jedoch nicht stark genug, um anhand der untersuchten Blütenproben eine zuverlässige Aussage über den späteren Inhaltsstoffgehalt der Droge treffen zu können. POUTARAUD and GIRARDIN (2004) fanden zwischen Blüten- und Drogenproben für Hypericin und Hyperforin Korrelationskoeffizienten ($R^2 = 0,57$ bzw. $0,60$) in vergleichbarer Größenordnung wie in der vorliegenden Arbeit ($R^2 = 0,53$ bzw. $0,48$). Sie kommen zu dem Schluss, dass die Analyse von Blütenproben nicht für die Selektion von Johanniskraut geeignet sei. Dem ist insofern zuzustimmen, als tatsächlich keine ausreichenden Korrelationen vorliegen, um ausschließlich auf der Basis von Blütenproben zu selektieren. Es ist jedoch dagegen einzuwenden, dass die Inhaltsstoffgehalte von Blüten- und Drogenproben im Kontext der Ertragsbildung a priori als eigenständige Parameter zu bewerten und deshalb unabhängig voneinander für den Selektionsprozess relevant sind.

Die pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe von Johanniskraut werden überwiegend in den Knospen synthetisiert. Da sie folglich in den Knospen und Blüten in maximaler Konzentration vorliegen, erfasst die Analyse der Blütenproben sozusagen das pharmakologische Potential einer Herkunft. Die Gesamtzahl der gebildeten Knospen und Blüten, die Blütengröße, die Blühintensität und die Ausprägung des Blühhorizontes bestimmen jedoch, wie gut dieses Potential von der Pflanze realisiert wird. Schließlich legt der Erzeuger bzw. Züchter bei der Ernte des Blühhorizontes durch die Wahl des Erntetermines und der Schnitthöhe sowie durch die weitere Verarbeitung fest, welcher Anteil des maximal möglichen Inhaltsstoffgehaltes in der Droge erreicht wird (vgl. Abbildung 67).

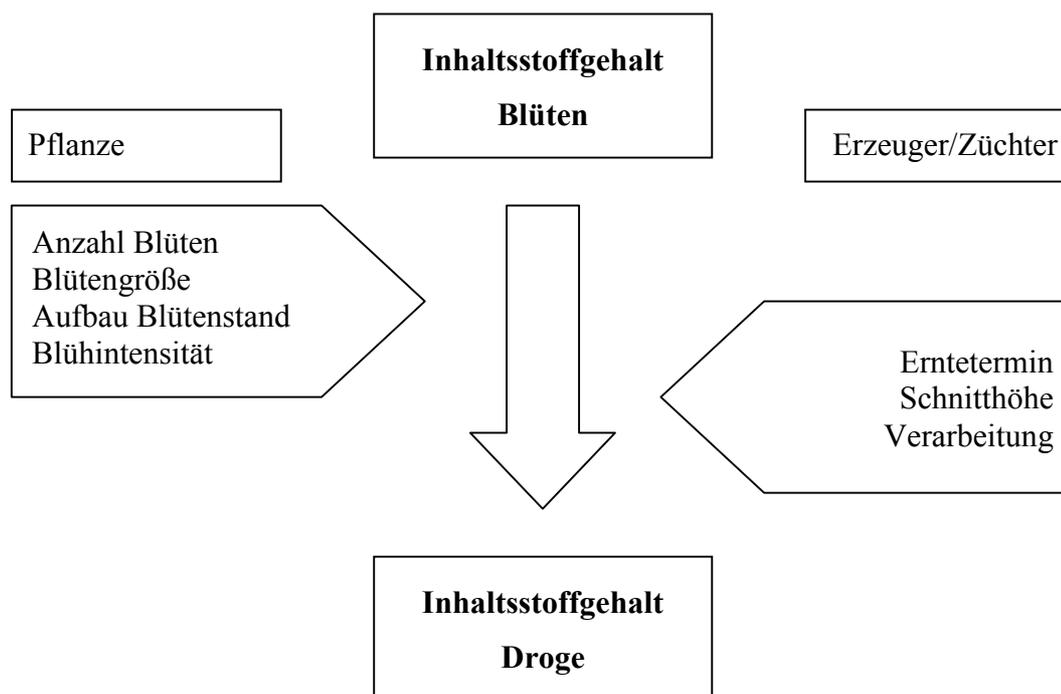


Abbildung 67: Modulierende Einflüsse auf den Inhaltsstoffgehalt der Droge

Die Analyse von Blüten ist eine wichtige Methode, um das pharmakologische Potential zuverlässig und unabhängig von allen anderen modulierenden bzw. mindernden Einflüssen erfassen zu können. Das Selektionskriterium "pharmakologisches Potential" wird durch die Analyse von Blüten aus dem komplexen Zusammenhang herausgelöst, der bei der Gewinnung von Drogenproben mitwirkt, wodurch eine höhere Selektionsschärfe für dieses wichtige Merkmal erreicht wird. Um die gleiche Selektionsschärfe mit Drogenmaterial erreichen zu können, wäre es notwendig, über die gesamte Blühperiode im Abstand von wenigen Tagen zahlreiche Drogenproben zu ernten und zu untersuchen.

Es ist anzunehmen, dass aus dem unterschiedlichen Blühverlauf der Herkünfte, wie zum Beispiel der Sorten 'Taubertal' und 'Topaz', auch eine unterschiedliche Entwicklung der Inhaltsstoffgehalte in der Droge resultiert. Deshalb ist es ungeachtet des hohen Aufwandes notwendig, ab einem bestimmten Selektionsfortschritt Untersuchungen zur Ertragsphysiologie durchzuführen. Dadurch kann der sortenspezifische Spielraum für die Ernte ausgetestet und eine verbindliche Empfehlung für den idealen Erntetermin einer neuen Sorte gegeben werden. Aus Sicht des praktischen Anbaus könnte es durchaus von Interesse sein, eine Sorte zur Verfügung zu haben, die bei gleichbleibender pharmakologischer Qualität der Droge eine längere Ernteperiode erlaubt.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass sich die Analyse von Blütenproben besonders für das effektive Screening heterogener Saatgutherkünfte und Sämlingspopulationen auf Einzelpflanzen mit einem hohen pharmakologischen Potential eignet. Die Analyse von Droge liefert hingegen eine für den Selektionsprozess wichtige Aussage darüber, wie gut dieses Potential von der Pflanze umgesetzt wird. Schließlich kann mit Hilfe von Untersuchungen zur Inhaltsstoffentwicklung in der Droge der optimale Erntetermin einer neuen Sorte bestimmt werden.

4. Entwicklung von Selektionskriterien

Die Entwicklung von Selektionskriterien geht von der natürlichen Variabilität des züchterisch zu bearbeitenden Materials aus und orientiert sich an den gesteckten Zuchtzielen. Dazu wurden zahlreiche morphologische und physiologische Merkmale erfasst, die den vegetativen und generativen Teil der Pflanze betreffen. Aus den charakteristischen Merkmalen lassen sich einzelne Kriterien ableiten, nach denen Herkünfte selektiert werden können, die den eingangs definierten agronomischen Zuchtzielen (siehe I 3.2) entsprechen. Merkmale, die zwar eine hohe Variabilität aufweisen, aber nicht in einen direkten Bezug zu den definierten Zuchtzielen gesetzt werden können, eignen sich zwar nicht als Selektionskriterien, stellen aber wichtige Kriterien zur Unterscheidung der Herkünfte dar. Die Analysen der Inhaltsstoffgehalte bilden die Basis für die Entwicklung pharmakologischer Selektionskriterien.

Abbildung 68 gibt einen Überblick zu den untersuchten Merkmalen und teilt sie in Unterscheidungs- und Selektionskriterien ein. Je nachdem, ob die Merkmale den vegetativen oder den generativen Teil der Pflanzen betreffen, wurden sie dunkel bzw. hell hinterlegt. Generell gilt, dass Selektionskriterien umso mächtiger sind, je direkter der Zusammenhang zu den entsprechenden Zuchtzielen ist. Obwohl sich bei weitem nicht alle morphologischen Unterschiede als Selektionskriterien eignen, können im umgekehrten Fall einige Selektionskriterien, wie zum Beispiel die Anzahl der Hypericinbehälter auf den Petalen, zusätzlich zur Unterscheidung der Herkünfte herangezogen werden.

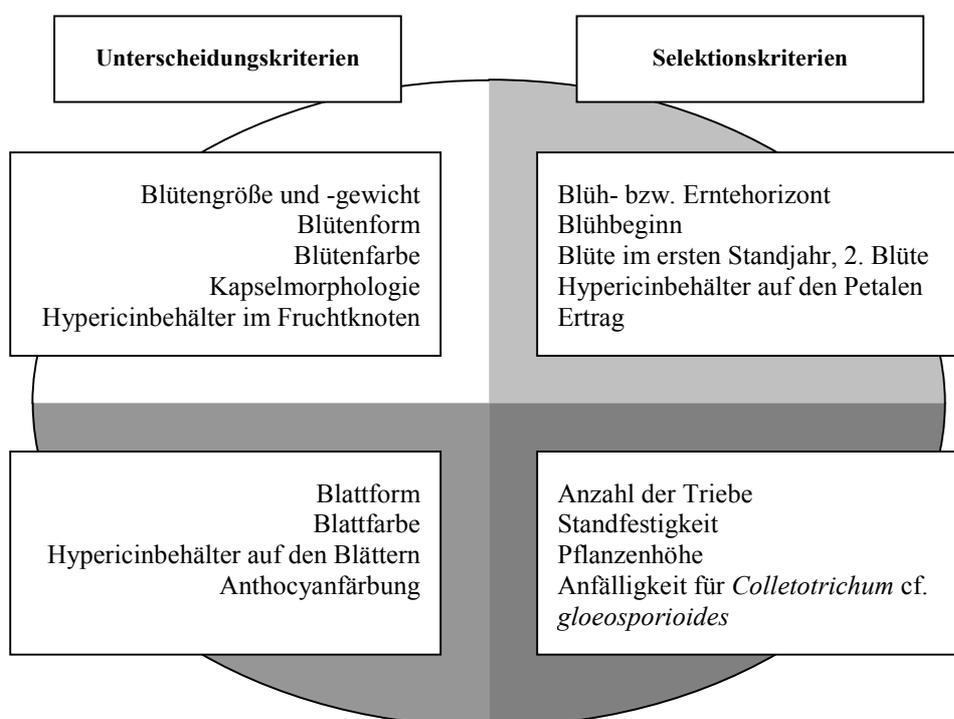


Abbildung 68: Einteilung der Merkmale in Unterscheidungs- und Selektionskriterien

4.1 Morphologische Unterscheidungskriterien

Die zahlreichen Unterscheidungskriterien lassen sich aus der morphologischen Variabilität der verschiedenen Pflanzenorgane ableiten. Dazu zählen die Blattmorphologie, die Blütenmorphologie sowie die Morphologie der Kapseln.

Eine wichtige Anwendung finden Unterscheidungskriterien bei der Sammlung von Herkünften am Wildstandort. Zuerst dienen sie dazu, *Hypericum perforatum* L. zu identifizieren und von anderen *Hypericum*-Arten zu unterscheiden. Am Naturstandort treten in der Regel kleine Populationen mit wenigen Genotypen auf, die sich apomiktisch vermehren. Je nach morphologischer Ähnlichkeit können anhand der aufgezeigten Kriterien verschiedene Typen unterschieden und die gesamte genetische Variabilität erfasst werden. Somit ist es möglich, eine breite Variabilität zu nutzen, ohne denselben Genotyp mehrere Male aufzunehmen.

Innerhalb hochgradig homogener Nachkommenschaften ermöglichen morphologische Unterscheidungskriterien die Identifikation von Abweichlern, die nicht apomiktisch entstanden sind, sondern auf befruchtete reduzierte oder unreduzierte Eizellen zurückgehen. Dabei spielt einerseits die Identifikation erfolgreicher Kreuzungen bei der Kombinationszüchtung eine wichtige Rolle. Andererseits dienen die morphologischen Unterscheidungskriterien bei der Erhaltungszüchtung von Sorten dazu, Abweichler zu eliminieren.

Schließlich können die gezeigten Unterscheidungskriterien zur Klärung sortenschutzrechtlicher Fragen herangezogen werden. Dabei ist zum einen die Überprüfung der Homogenität einer Sorte zu nennen. Zum anderen werden die Kriterien zur Feststellung der Unterscheidbarkeit von bereits vorhandenen Sorten angewendet.

Relevanz von Unterscheidungskriterien

- ① Abgrenzung der Art *Hypericum perforatum* L.
- ② Differenzierung von Herkünften am Wildstandort
- ③ Identifizierung von Kreuzungsnachkommen
- ④ Klärung sortenschutzrechtlicher Fragen

4.1.1 Blattmorphologie

Blattform

Bei Johanniskraut zeigt die Blattform und dabei besonders die Blattbreite eine hohe Variabilität (vgl. Abbildung 69). Dieser Formenreichtum führte zur Unterteilung der Spezies *H. perforatum* in mehrere Subspezies. Eine davon ist *H. perforatum* ssp. *angustifolium* (DC.) FROEHLICH, der die Herkünfte PM-9 und SN-1 zuzuordnen sind. Da die Blattform stark von der Position an der Pflanze beeinflusst wird, ist die Bonitur zuverlässiger als die metrische Erfassung dieses Merkmals.



Abbildung 69: Variabilität der Blattform (PM-9, SN-1, AS-28, BB-1, WE-1)

Abbildung 69 zeigt die Variabilität der Blattform anhand der Sprossspitze und der darauffolgenden fünf Blattpaare. Neben den Unterschieden in der Blattlänge fällt besonders die unterschiedliche Breite der Blätter auf.

Blattfarbe

Die verschiedenen Herkünfte zeigen deutliche Unterschiede in ihrer Blattfarbe. Die Variabilität reicht dabei von einem frischen hellgrün über dunklere Grüntöne bis hin zu blaugrün bereift. Dabei ist zu beobachten, dass breitblättrige Herkünfte zu hellgrünen Blättern tendieren, während schmalblättrige Herkünfte oft bläulich bereifte Blätter besitzen.

Hypericinbehälter auf den Blättern

Die Variabilität der Hypericinbehälter auf den Blättern ist sehr hoch und zeigt deutliche Positionseinflüsse. Außerdem kann beobachtet werden, dass die Anzahl der Hypericinbehälter auf den Blättern auf wesentlich geringerem Niveau mit denen auf den Petalen korrespondiert. Aufgrund dieser Beobachtungen kommt diesem Merkmal für die Unterscheidung verschiedener Herkünfte nur eine ergänzende Funktion zu.

Anthocyanfärbung

Vor allem in der Phase des stärksten vegetativen Wachstums im Frühling zeigen einige Herkünfte eine starke Anthocyanfärbung an den jungen Blättern und Trieben. Eine hohe Einstrahlung und die kühlen Temperaturen begünstigen die Ausbildung der Schutzpigmente. Während dieser Phase der stärksten Ausprägung stellt die Anthocyanfärbung der Triebspitzen ein deutliches Unterscheidungskriterium dar. Mit dem Übergang zum Frühsommer und den steigenden Temperaturen geht die Färbung bei vielen Herkünften fast vollständig zurück.

4.1.2 Blütenmorphologie

Blütengröße und -gewicht

Die Blütengröße und das Blütengewicht einer Herkunft unterliegen hohen natürlichen Schwankungen. Bei der Messung ist zu berücksichtigen, dass die Größe der Einzelblüten im Blühverlauf von Position A1 nach D1 innerhalb der Infloreszenzen abnimmt (vgl. IV 3.3). Allerdings reicht die Vermessung von 10 Blüten erfahrungsgemäß aus, um zuverlässige Werte gewinnen zu können. Die Blütengröße ist in erster Linie als beschreibendes Merkmal zu bewerten, das zur Unterscheidung von Herkünften dient. Sie steht jedoch in unmittelbarem Zusammenhang zum Blütengewicht (vgl. Abbildung 47) und geht über die Anzahl der Einzelblüten in den Blüterertrag ein. Deshalb können Blütengröße und Blütengewicht als positive Selektionskriterien zwischen Herkünften mit gleicher Anzahl von Blüten nützlich sein.

Blütenform

Neben der Blütengröße unterscheiden sich die untersuchten Herkünfte auch hinsichtlich ihrer Petalenform. Die Variabilität der Petalenbreite reicht dabei von sehr schlank bis sehr breit. Dabei können die Petalen im Extrem völlig frei stehen oder aber stark überlappend angeordnet sein. Der Petalenrand variiert in seiner Ausprägung zwischen vollkommen glatt bis deutlich gezähnt.

Blütenfarbe

In der Blütenfarbe sind kaum Unterschiede festzustellen, da die Petalen von *Hypericum* in der Regel satt leuchtendgelb gefärbt sind. Bei guten Lichtverhältnissen, also bei bewölktem Himmel mit hohem indirekten Lichtanteil, können jedoch manche Herkünfte anhand einer hellgelben Blütenfarbe unterschieden werden. Einen Sonderfall bilden die Linien MB-CS und GZ-4, da sie deutlich grüne, chlorophyllhaltige Streifen auf den sonst gelben Petalen besitzen.

Die Anzahl der Hypericinpunkte und -streifen auf den Petalen stellt zum einen ein sehr gutes Merkmal zur Unterscheidung von Herkünften dar. Zum anderen stehen sie in Zusammenhang mit der in der Droge enthaltenen Menge an Hypericinen und sind somit zu den pharmakologischen Selektionskriterien zu rechnen (siehe IV 4.3.1).

Sepalen

Die Form und Ausprägung wird zur Unterscheidung der verschiedenen *Hypericum*-Arten und Subspezies von *H. perforatum* herangezogen. Eine Besonderheit weisen die Herkünfte PF-02 und PF-05 auf. Bei beiden Herkünften tritt am Seitenrand der Sepalen gelb gefärbtes Gewebe auf, das eine eindeutig petaloide Physiologie aufweist (vgl. Abbildung 70).



Abbildung 70: Petaloides Gewebe am Rand der Sepalen von PF-02 und PF-05

4.1.3 Kapselmorphologie

Auch in der Morphologie der Kapseln unterscheiden sich die untersuchten Herkünfte deutlich. Neben der Größe variiert besonders die Form sehr stark. Während schmalblättrige Herkünfte meist schlanke Kapseln besitzen, treten bei den breitblättrigen Herkünften eher gedrungene Kapseln mit blasig verdickten Kammern auf. Analog zur Anthocyanfärbung der Triebspitzen im Frühjahr zeigen die Kapseln zahlreicher Herkünfte eine starke Färbung der sonnenexponierten Kapselteile, während die Kapseln anderer Herkünfte rein grün bleiben.

Hypericinbehälter im Fruchtknoten

Bei den Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie von Johanniskraut (NEBELMEIR 2000) konnte festgestellt werden, dass manche Herkünfte Hypericinbehälter im Fruchtknoten bilden. Diese sind an der Plazenta entlang der Samenanlagen lokalisiert. Abbildung 71 zeigt Querschnitte durch unreife Johanniskrautkapseln. Die Kapseln werden von drei Fruchtblättern gebildet. Im rechten Bild sind die Hypericinbehälter deutlich als schwarze Punkte an den Flanken der drei Plazenten zu sehen. Daneben sind abgestorbene Samenanlagen und heranreifende Samen erkennbar. Bei den meisten untersuchten Genotypen fehlen – wie im linken Bild – diese Hypericinbehälter im Fruchtknoten vollständig. Daher kommen für die Erfassung dieses Merkmals nur die Ausprägungen "vorhanden" oder "nicht vorhanden" in Frage.



Abbildung 71: Fruchtknoten ohne (links) und mit (rechts) Hypericinbehälter im Querschnitt

Obwohl die Hypericinbehälter im Fruchtknoten durchaus zum Gesamthypericingehalt der Droge beitragen mögen, ist dieses Merkmal in erster Linie als weiteres morphologisches Unterscheidungskriterium zwischen verschiedenen Herkünften zu bewerten.

4.2 Agronomische Selektionskriterien

Als agronomische Selektionskriterien kommen grundsätzlich nur jene morphologischen Merkmale in Frage, die in direktem oder indirektem Zusammenhang zu den agronomischen Zuchtzielen stehen (vgl. I 3.2.1). Dazu zählen alle Merkmale, die in ihrer Ausprägung die technologische Eignung einer Sorte beeinflussen. Außerdem sind dazu die morphologischen und physiologischen Merkmale zu rechnen, die an der Ertragsbildung beteiligt sind. Schließlich nimmt bei den agronomischen Selektionskriterien die Resistenz gegenüber *Colletotrichum cf. gloeosporioides* eine wichtige Stellung ein.

agronomische Zuchtziele

- ① technologische Eignung
- ② hohe und stabile Erträge
- ③ Resistenz gegen *Colletotrichum cf. gloeosporioides*

4.2.1 Technologische Eignung

Bei den Selektionskriterien für eine gute technologische Eignung einer Herkunft steht die Erleichterung der mechanisierten Produktion im Mittelpunkt. Dabei ist zum einen der aktuelle Stand der Produktionstechnologie zu berücksichtigen und zum anderen die zukünftige Entwicklung und Anwendung neuer Anbau- und Erntemethoden zu unterstützen. Zentrales Ziel der Weiterentwicklung von Produktionstechniken und geeigneten Sorten ist letzten Endes immer die Erzeugung höchster Qualität bei vertretbarem technologischen und finanziellem Auf-

wand. Da die innere Qualität der Droge direkt von einem hohen Blütenanteil abhängt, wird nur der Blühhorizont des Feldbestandes abgeerntet. Für eine gute praktische Umsetzung mit den Erntegeräten kommt es deshalb vor allem auf die Homogenität des Bestandes an.

Grundsätzlich kann bei einer Johanniskrautsorte mit einem homogenen Feldbestand gerechnet werden, weil aufgrund der apomiktischen Fortpflanzungsweise nahezu alle Pflanzen genetisch gleich sind. Dennoch kommt es auch darauf an, dass die jeweiligen Merkmale einen einheitlichen Bestand erlauben und in gleicher konstanter Weise zur Ausprägung kommen.

Anzahl der Triebe

Die Anzahl der blühenden Triebe ist ein guter Indikator für die technologische Eignung einer Herkunft. Eine gute Bestockung und damit höhere Triebzahl führt zu einem schnelleren Bestandsschluss. Dadurch wird zum einen die Homogenität des Feldbestandes verbessert, zum anderen werden Unkräuter unterdrückt. Höhere Triebzahlen treten bevorzugt bei schmalblättrigen Herkünften auf (vgl. Abbildung 14). Der positive Effekt kehrt sich jedoch ins Gegenteil, wenn der Bestand nicht mehr ausreichend belichtet und durchlüftet wird.

Standfestigkeit

Im Hinblick auf die technologische Eignung einer Johanniskrautsorte stellt die Standfestigkeit ein wichtiges Selektionskriterium dar. In der Boniturnote für Standfestigkeit spiegelt sich der Habitus der Pflanzen und die Widerstandsfähigkeit gegenüber Witterungseinflüssen wider. Damit hängt sie gleichzeitig mit dem Anteil liegender Triebe zusammen. Abbildung 72 verdeutlicht diese Korrelation auf Basis der Daten des Zweisatzgitters im ersten Standjahr für 64 untersuchte Herkünfte. Die Boniturnote für die Standfestigkeit gibt also einen guten Anhaltspunkt für die maschinelle Beerntbarkeit der jeweiligen Herkunft.

Trotz der deutlichen positiven Korrelation der Daten umfasst die Boniturnote für die Standfestigkeit wesentlich mehr Aspekte als nur die Anzahl liegender Triebe. Das Merkmal resultiert im ersten Jahr aus der Kombination von charakteristischer Wuchsform, Bestockungsdichte und dem Abgangswinkel der Triebe. Im zweiten Standjahr treten die Triebe aufgrund der zunehmenden Bestockung mit einem deutlich steileren Winkel aus dem Boden und zeigen eine erhöhte Standfestigkeit. Soll die Sorte später vorwiegend im Überwinterungsanbau eingesetzt werden, relativiert sich daher die Bedeutung dieses Selektionskriteriums. Soll allerdings eine Sorte mit besonderer Eignung für die Beerntung im ersten Standjahr entwickelt werden, tritt das Kriterium Standfestigkeit stark in den Vordergrund.

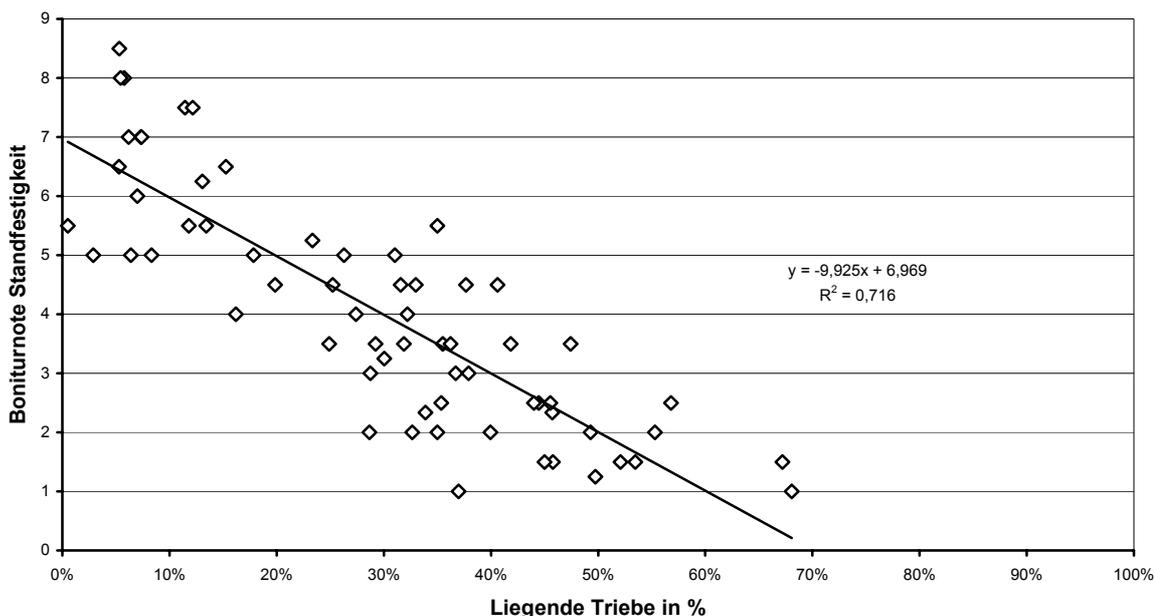


Abbildung 72: Korrelation Anzahl liegender Triebe und Boniturnote Standfestigkeit ($n = 64$)

Pflanzenhöhe

Eine geringe Pflanzenhöhe ist aus Sicht der technologischen Ansprüche, die an eine Sorte gestellt werden, von Vorteil. Zum einen investiert die Pflanze nicht unnötig viel Kraft in die vegetative Entwicklung, zum anderen wird der Bestand auch in den unteren Schichten besser belichtet und durchlüftet. Außerdem sind der Bestandeshöhe durch die Möglichkeiten, die Schnitthöhe des Lademähers bzw. anderer Erntegeräte einzustellen, technische Grenzen gesetzt. Neben der absoluten Pflanzenhöhe kommt auch der homogenen Ausprägung des Merkmals über den gesamten Feldbestand eine große Bedeutung zu.

Blüh- und Erntehorizont

Da der Blütenanteil in der Droge die pharmakologische Qualität bestimmt, stellt die Ausbildung eines homogenen und deutlich abgegrenzten Blühhorizontes ein sehr wichtiges Selektionskriterium dar. Werden die Blüten über den gesamten Feldbestand in einer definierten Zone gebildet, wird die maschinelle Ernte der Blüten erheblich erleichtert und ein niedriger Anteil an minderwertigen Stängeln und Blättern in der Droge erreicht (vgl. Abbildung 14). Als positiver Nebeneffekt verbleiben weniger Blüten an den Pflanzen, sodass auch weniger Kapseln heranreifen. Dadurch wird die Ausbildung einer zweiten Blüte gefördert.

Die Ausdehnung des Blühhorizontes kann am einfachsten als Distanz zwischen oberster und unterster Blüte innerhalb einer Pflanze gemessen werden. Die Boniturnote für den Blühhorizont gibt zusätzliche Informationen über die klare Abgrenzung des Blühhorizontes zum vegetativen Teil der Pflanzen und über die Ausbildung eines einheitlichen Feldbestandes. Der Ern-

tehorizont ist dagegen eine Messgröße, die sich aus der Differenz der Pflanzenhöhe vor und nach der Ernte errechnet und Auskunft über den tatsächlich geernteten Blühhorizont gibt.

Schlussfolgernd aus den oben dargestellten Zusammenhängen kann ein kurzer Blühhorizont bei gleicher Ertragsbildung als positives Merkmal bewertet werden. Eine klare Abgrenzung des Blühhorizontes vom vegetativen Teil der Pflanzen und die Ausbildung eines homogenen Feldbestandes stehen jedoch im Vordergrund.

Aus praktischer Sicht muss festgestellt werden, dass eine Bonitur des Blühhorizontes im ersten Standjahr nur schwer möglich ist. Die geringere Standfestigkeit, die niedrige Pflanzenhöhe und eine relativ lockere Bestandesdichte im ersten Standjahr führen dazu, dass keine räumlich klar abgegrenzte Zone mit Blüten gebildet wird. Dennoch können auch im ersten Standjahr positive und negative Tendenzen festgestellt werden. Im zweiten Standjahr lässt sich mit gleichzeitig eingetretenem Bestandsschluss die Ausprägung des Blühhorizontes sicher bewerten.

4.2.2 Ertragsbildung

Die agronomischen Selektionskriterien, die sich auf die Ertragsbildung beziehen, lassen sich in zwei wichtige Gruppen einteilen. Zum einen ist hier die Höhe des Ertrages in Form des geernteten Frischgewichtes oder als vermarktungsfähige Droge pro Flächeneinheit zu nennen. Zum anderen sind in diesem Zusammenhang die physiologischen Merkmale der Ertragsbildung von Bedeutung. Dazu zählen der Blühbeginn, die Blüte im Pflanzjahr und die Bildung einer zweiten Blüte nach dem ersten Schnitt.

physiologische Merkmale der Ertragsbildung

Der Blühbeginn stellt in zweierlei Hinsicht ein wichtiges Selektionskriterium dar. Zuerst ist aus Sicht der Produktionstechnologie ein gleichmäßiger Verlauf der Blüte über den gesamten Feldbestand anzustreben. Zusätzlich wünscht der Produzent die Möglichkeit, aus früheren und späteren Sorten so wählen zu können, dass die Ernte über einen längeren Zeitraum geplant und bewerkstelligt werden kann.

Der Blühbeginn im Pflanzjahr wird vom Pflanztermin und der herkunftsspezifischen Dauer der vegetativen Entwicklung bis zum Einsetzen der Blüte bestimmt. Die Daten der Feldversuche zeigen, dass der Blühbeginn im zweiten Standjahr nicht mit dem des Pflanzjahres korreliert (vgl. Abbildung 45), der Blühbeginn im dritten Standjahr hingegen sehr stark mit dem des zweiten Jahres (vgl. Abbildung 40). Diese Befunde sprechen dafür, dass das Merkmal Blühbeginn genetisch festgelegt ist und durch Umwelteinflüsse moduliert wird. Es ist anzunehmen, dass der Blühbeginn ab dem zweiten Standjahr unabhängig davon ist, ob im Vorjahr eine Frühjahrspflanzung, Sommer- oder Herbstpflanzung durchgeführt wurde.

Wird eine Frühjahrspflanzung durchgeführt und eine erste Ernte im Sommer angestrebt, ist es von entscheidender Bedeutung, dass die Sorte bereits im Pflanzjahr eine vollwertige Blüte mit

ausreichender pharmakologischer Qualität liefert. Bei Pflanzung im Sommer bzw. Herbst ist dagegen eine gute vegetative Entwicklung von Vorteil. Es ist sogar denkbar, eine Herkunft zu selektieren, die im ersten Jahr auch bei Frühjahrspflanzung keinen nennenswerten Ertrag liefert, aber durch ein stärkeres vegetatives Wachstum besser bestockt und so im zweiten Jahr einen weitaus höheren Ertrag erzielt.

Falls nach dem ersten Schnitt eine zweite Ernte angestrebt wird, ist eine Sorte mit früher Blüte zu bevorzugen. Bei günstiger Witterung und guter Nährstoffversorgung der Pflanzen bleibt dann noch genügend Zeit zur Entwicklung eines üppigen zweiten Flors. Bei späterer Blüte treten nach dem ersten Schnitt in der Regel nur noch unbedeutende Mengen an Nachblüten auf, die eine Ernte nicht mehr rechtfertigen. Die Selektion bezüglich der physiologischen Faktoren der Ertragsbildung (Blühbeginn, Blüte im Pflanzjahr und zweite Blüte) ist also von der geplanten Kulturführung abhängig. Es ist aber auch die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, die Kulturführung an die Bedürfnisse einer hervorragenden Selektion anzupassen.

Ertrag

Der geerntete Ertrag pro Flächeneinheit in Form der frischen Pflanzenteile bzw. der gewonnenen Droge muss für eine wirtschaftliche Produktion ausreichend hoch sein. Definiert sich die Größe "Ertrag" in Abhängigkeit von den Gehalten an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen, dann tritt die Menge des geernteten Pflanzenmaterials zugunsten der geernteten Inhaltsstoffmenge pro Flächeneinheit in den Hintergrund (vgl. IV 3.4).

Um eine statistisch gesicherte Aussage über den Ertrag einer Herkunft treffen zu können, müssen bei genetisch einheitlichem Material pro Teilstück etwa 50 bis 60 Pflanzen stehen (SCHUSTER und LOCHOW 1979). In der praktischen Züchtungsarbeit stößt die Messung des Ertrages jedoch an natürliche Grenzen. Zum einen kann während der ersten Selektionsschritte aufgrund limitierter Kapazitäten für den Anbau und die Aufbereitung der Droge nur mit relativ kleinen Parzellen gearbeitet werden. Zum anderen ist eine vollständige Beerntung der Pflanzen aus züchterischer Sicht wenig sinnvoll, da vor allem bei neu untersuchten Herkünften das erste Versuchsjahr zur Gewinnung von Saatgut genutzt werden muss. In den folgenden Versuchsjahren bzw. Selektionsschritten ist dann in der Regel ausreichend Material vorhanden, um aussagekräftige Ertragsdaten gewinnen zu können. Bei der züchterischen Bewertung des Ertrages ist darauf zu achten, dass nicht in erster Linie das Ergebnis einer Ernteperiode, sondern vielmehr der Ertrag über die gesamte Kulturdauer als Selektionskriterium heranzuziehen ist. Besonders in Bezug auf die Ernte der zweiten Blüte muss sichergestellt sein, dass Aufwand und Ertrag in einem betriebswirtschaftlich sinnvollen Verhältnis zueinander stehen. Schließlich ist der Inhaltsstoffertrag pro Fläche entscheidend für die Wirtschaftlichkeit einer neuen Sorte.

4.2.3 Resistenz gegen *Colletotrichum cf. gloeosporioides*

Die Resistenz gegen *Colletotrichum cf. gloeosporioides* nimmt unter den agronomischen Selektionskriterien einen sehr hohen Stellenwert ein, da ein massives Auftreten der Pilzkrankheit zu enormen Verlusten bis hin zum Totalausfall der Ernte führen kann. Weil auch auf längere Sicht keine wirksamen Pflanzenschutzmittel zur Verfügung stehen werden, ist es eine sehr wichtige Aufgabe der Züchtung, resistente Herkünfte auszulesen.

Auf allen Versuchsflächen trat ein natürlicher Befall mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* auf, der im Verlauf der folgenden Vegetationsperioden zu einem massiven Infektionsdruck im jeweiligen Bestand führte. Somit konnte die Beobachtung des natürlichen Befalls als Selektionskriterium für die Anfälligkeit der einzelnen Herkünfte herangezogen werden. Auf die Durchführung von Versuchen zur gezielten Infektion (Resistenztests) wurde verzichtet, da die Arbeiten von SCHENK und GÄRBER (2002) zeigten, dass Infektionsversuche an Jungpflanzen gut mit den mehrjährigen Feldergebnissen übereinstimmten. Aufgrund der stets rasch fortschreitenden Krankheitsentwicklung erwies es sich in der vorliegenden Arbeit als sinnvoll, Einzelpflanzen mit Welkesymptomen unabhängig vom Grad des Befalls als krank einzustufen. Obwohl bereits im Pflanzjahr deutliche Unterschiede zwischen den Herkünften in ihrer Anfälligkeit sichtbar wurden, zeigte sich erst im zweiten Standjahr der Feldversuche, wie hoch die Widerstandsfähigkeit einer Herkunft wirklich ist (vgl. Abbildung 48 und Abbildung 49). Ein zu hoher Infektionsdruck, wie er beispielsweise im Feldbestand Zweisatzgitter Gemüsebau aufgetreten ist, kann jedoch zu so starkem Befall führen, dass eine Differenzierung der Herkünfte hinsichtlich ihrer Anfälligkeit nicht mehr möglich ist (vgl. dazu auch GÄRBER und SCHENK 2003).

In der vorliegenden Arbeit konnten keine Herkünfte mit einer absoluten Resistenz gegenüber *Colletotrichum cf. gloeosporioides* selektiert werden. Einige Herkünfte zeigten aber eine vergleichbar hohe Resistenz gegenüber der Johanniskrautwelke wie die gering anfällige¹ Standardsorte 'Taubertal'. Die gewonnenen Daten zur Feldresistenz erlauben, Herkünfte mit einer erheblich höheren Anfälligkeit (Ausfälle über 20 %) auszuschließen. Für den weiteren Selektionsprozess ist es ratsam, die Befunde aus dem Feldversuch anhand von Resistenztests an Jungpflanzen zu verifizieren. Die erforderlichen Methoden stehen durch die Arbeiten von GÄRBER und SCHENK (2002c) zur Verfügung. KÄSTNER et al. (2004) berichten von Fortschritten bei der Entwicklung von Johanniskrautlinien, die im Vergleich zur mittel anfälligen¹ Sorte 'Topaz' eine deutlich erhöhte Welkeresistenz aufweisen. Das bisherige Fehlen einer absoluten Resistenz und die Tatsache, dass weder ein unterschiedliches Verhalten verschiedener Isolate noch eine Differenzierung von Pathotypen beobachtet werden konnte (GÄRBER und SCHENK 2002c), sprechen für das Vorliegen einer polygen veranlagten horizontalen Resistenz. Dieser Resistenztyp bietet gute Voraussetzungen für eine langfristige Beständigkeit.

¹ Einstufung der Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* nach BUNDESSORTENAMT (2002).

4.3 Pharmakologische Selektionskriterien

Die Selektionskriterien, die der Züchter anwenden kann, um die pharmakologischen Zuchtziele zu erreichen, lassen sich in vier Kategorien einteilen, genauer gesagt in morphologische, qualitative, quantitative und die pharmakologische Wirksamkeit betreffende Kriterien. Aus der Gruppe der morphologischen Merkmale ist hier die Anzahl der Hypericinbehälter auf den Blüten von Bedeutung. Bei der HPLC-Analyse der Inhaltsstoffgehalte wurde sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Dimension deutlich. Zum einen konnten verschiedene Inhaltsstoffprofile und Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen einzelner Inhaltsstoffe identifiziert werden. Zum anderen betreffen die hohe Variabilität der Herkünfte, die bezüglich der Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen festgestellt werden konnte, die Problematik der Anreicherung von Cadmium und die Frage der konstanten Rohstoffqualität quantitative Aspekte der pharmakologischen Qualität. Schließlich kann nicht nur das Vorhandensein bestimmter Inhaltsstoffe und deren Konzentration, sondern auch die pharmakologische Wirksamkeit des gewonnenen Extraktes als Selektionskriterium herangezogen werden.

pharmakologische Zuchtziele

- ① hohe Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen
- ② hohe Wirksamkeit des Extraktes
- ③ gleichbleibende Rohstoffqualität
- ④ geringe Cd-Gehalte

4.3.1 Hypericinbehälter auf den Blüten

Innerhalb der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe nehmen die Naphthodianthrone eine Sonderstellung ein, da sich ihr Gehalt in einem morphologischen Merkmal, nämlich der Anzahl der schwarzen Hypericinbehälter auf den Petalen, widerspiegelt. Bereits SOUTHWELL and CAMPBELL (1991) vermuteten bei zwei untersuchten Phänotypen einen Zusammenhang zwischen den beiden Merkmalen. ČELLÁROVÁ et al. (1994) konnten in ihren Untersuchungen zwar keine Korrelation zwischen der Anzahl der Hypericinbehälter auf den Blättern und dem Hypericingehalt der Blätter nachweisen, bestätigten aber einen Zusammenhang der Merkmale. Abbildung 73 zeigt anhand der Drogenproben des Zweisatzgitters (vgl. Tabelle 79) den Zusammenhang zwischen der Boniturnote für die Anzahl der Hypericinbehälter und dem Gesamthypericingehalt (Boniturschlüssel mit Abbildung unter II 3.2). Dabei fällt auf, dass auch Herkünfte mit sehr niedrigen Boniturnoten beachtliche Gehalte an Hypericin erreichen.

Die Gruppe der Herkünfte mit einer Boniturnote von 1 bis 3 erreicht mit durchschnittlich $3,71 \pm 1,76$ g/kg Gesamthypericin in der Droge 43,0 % des gemittelten Gehaltes der Gruppe mit einer Boniturnote von 7 bis 9, der bei $8,62 \pm 2,51$ g/kg liegt. Dieser Effekt lässt sich dadurch erklären, dass auch bei Herkünften mit der Boniturnote 9 wie beispielsweise der

Herkunft NF-1 nur 49,9 % des Hypericins und 53,8 % des Pseudohypericins in den Petalen lokalisiert sind (vgl. IV 3.3, Abbildung 65). In den Sepalen befinden sich weitere Hypericinbehälter, deren Anzahl vermutlich mit der auf den Petalen korreliert. Sie tragen allerdings nur 8,0 % bzw. 10,9 % zum Hypericin- bzw. Pseudohypericingehalt der Blüten bei. Einen mit 42,2 % bzw. 35,3 % weitaus größeren Beitrag zum Gesamthypericingehalt leisten hingegen die zahlreichen Stamina, von denen jedes am Konnektiv einen markanten Hypericinbehälter besitzt. Deshalb weisen auch Herkünfte mit niedriger Boniturnote für die Anzahl der Hypericinbehälter in den Petalen einen "Sockel"-Gesamthypericingehalt auf, der ca. 40 % des Wertes von Herkünften mit extrem vielen Hypericinbehältern auf den Petalen erreicht.

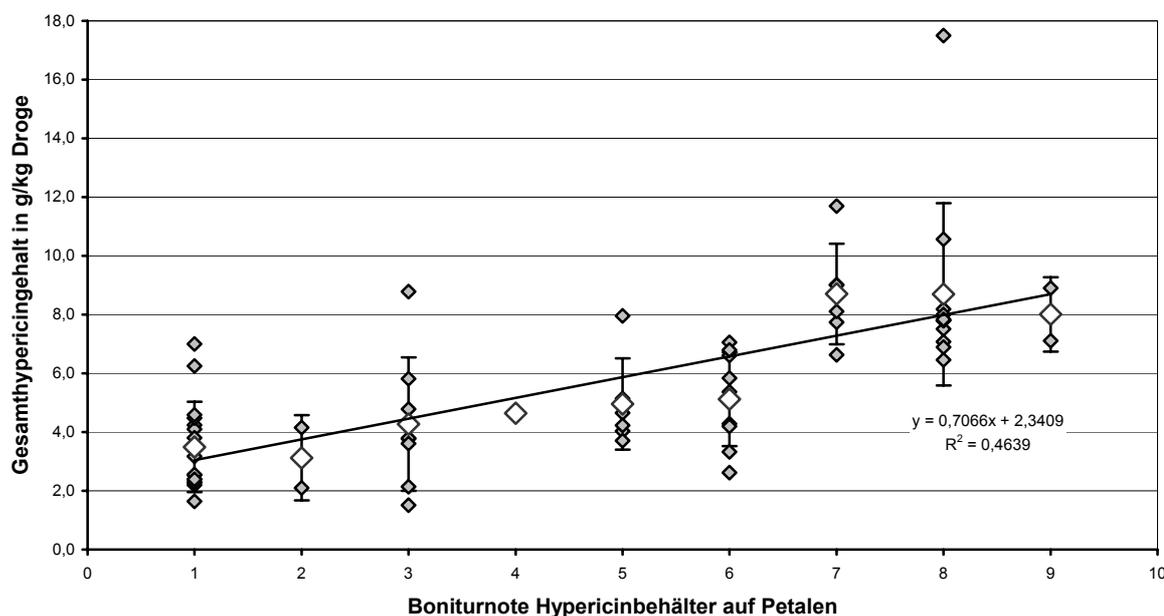


Abbildung 73: Korrelation Hypericinbehälter und Gesamthypericingehalt der Droge ($n = 62$)

Die starke Schwankungsbreite innerhalb einer Boniturnote resultiert aus genetischen und umweltbedingten Unterschieden in der Größe der Hypericinbehälter, der Blütengröße, der Anzahl der Stamina und im Naphthodianthrongehalt der einzelnen Behälter selbst. Dies erklärt, weshalb ČELLÁROVÁ et al. (1994) die Ergebnisse von SOUTHWELL and CAMPBELL (1991) nicht bestätigen konnten.

Die Anzahl der Hypericinbehälter auf den Petalen ersetzt zwar nicht die HPLC-Analyse des Hypericingehaltes, erweist sich jedoch besonders bei der Sammlung von Herkünften am Wildstandort sowie bei der Selektion aus Mischungen und Kreuzungsnachkommenschaften als hilfreiches Selektionskriterium. Ohne aufwändige Inhaltsstoffanalysen können ad hoc gezielt Pflanzen ausgelesen werden, die voraussichtlich auch im späteren Anbau einen hohen Gesamthypericingehalt erwarten lassen.

4.3.2 Inhaltsstoffprofile

Flavonoide

Bei der HPLC-Analyse der Saatgutherkunft M. Bauer wurden Einzelpflanzen identifiziert, deren Inhaltsstoffprofile sich qualitativ im zusätzlichen Vorhandensein bzw. Fehlen einzelner Substanzen unterscheiden. Eine Übersicht zu den charakteristischen Merkmalen der Inhaltsstoffprofile gibt Tabelle 64.

Tabelle 64: Charakteristische Merkmale der identifizierten Inhaltsstoffprofile (vgl. III 3.1.2)

	<i>Rutin</i>	<i>Substanz I</i> <i>Rt = 24,9 min</i>	<i>Substanz II</i> <i>Rt = 25,4 min</i>	<i>Substanz III</i> <i>Rt = 27,9 min</i>	<i>Anzahl</i> <i>(n = 55)</i>	<i>in %</i>
Profil A	✘				4	7,3
Profil B	✘	✘	✘		29	52,7
Profil C	✘			✘	2	3,6
Profil D	✘	✘	✘	✘	5	9,1
Profil E					14	25,5
Profil F			✘	✘	1	1,8

Die Tatsache, dass einige Herkünfte, unter ihnen auch SN-1, kein Rutin enthalten, ist insofern bemerkenswert, als das Vorliegen von Rutin ein wichtiges pharmazeutisches Kriterium zur Überprüfung der Identität einer Drogencharge als *Hypericum perforatum* L. ist (PH. EUR. 2005). Andere *Hypericum*-Arten wie zum Beispiel *H. maculatum* CR. enthalten nämlich im Unterschied zu *H. perforatum* L. kein Rutin (MÁRTONFI et al. 1996a). Die Einzelpflanzen und Herkünfte mit den Inhaltsstoffprofilen E und F konnten jedoch eindeutig als *H. perforatum* L. bestimmt werden. Das Vorkommen von *H. perforatum*-Chemotypen ohne Rutin ist bereits bei anderen Autoren dokumentiert (MÁRTONFI et al. 2001). Dieser Befund legt eine kritische Infragestellung des Vorhandenseins von Rutin als geeignetem Kriterium zur Überprüfung der Identität von Johanniskrautdroge nahe.

Jüngere Untersuchungen weisen darauf hin, dass Rutin im Verhaltensexperiment mit Tieren möglicherweise essentiell für die antidepressive Wirksamkeit des Gesamtextraktes ist (NÖLDNER und SCHÖTZ 2002, siehe IV 4.3.3). Unabhängig davon müssen aufgrund der Vorschriften des PH. EUR. (2005) Herkünfte mit den Inhaltsstoffprofilen E und F verworfen werden.

Eine abschließende Bewertung der Inhaltsstoffprofile mit zusätzlichen Substanzen (Profile B, C, D und F) kann an dieser Stelle nicht vorgenommen werden, da die betreffenden Substanzen nicht genauer identifiziert wurden. Die Position der fraglichen Peaks im Chromatogramm legt jedoch die Vermutung nahe, dass es sich dabei um Flavonol-Glykoside handelt. Aufgrund der entsprechenden Absorptionsspektren (vgl. Tabelle 65) lassen sich die unbekannten Substanzen ebenfalls der Gruppe der Flavonol-Glykoside zuordnen. Alle drei charakteristischen Absorptionsmaxima ($\lambda_{\max.1-3}$) stimmen mit denen der Quercetinglykoside Rutin,

Hyperosid und Quercitrin überein, während zum Aglykon Quercetin und zum Biflavon Biapigenin deutliche Abweichungen festzustellen sind. Mit hoher Wahrscheinlichkeit sind die in den Inhaltsstoffprofilen B, C, D und F zusätzlich vorhandenen Substanzen mit Quercetinglykosiden identisch, die von JÜRGENLIEMK und NAHRSTEDT (2002) in Johanniskraut nachgewiesen und identifiziert wurden.

Tabelle 65: Absorptionsmaxima (λ_{\max}) der Flavonoide und der unbekanntenen Substanzen

	<i>Rutin</i>	<i>Hyperosid+ Isoquercitrin</i>	<i>Quercitrin</i>	<i>Quercetin</i>	<i>Biapigenin</i>	<i>Substanz I</i> <i>Rt = 24,9 min</i>	<i>Substanz II</i> <i>Rt = 25,4 min</i>	<i>Substanz III</i> <i>Rt = 27,9 min</i>
$\lambda_{\max.1}$	196/203 nm	204 nm	193 nm	193 nm	194 nm	192 nm	193 nm	192 nm
$\lambda_{\max.2}$	257 nm	257 nm	257 nm	256 nm	270 nm	257 nm	257 nm	257 nm
$\lambda_{\max.3}$	355 nm	355 nm	349 nm	371 nm	333 nm	354 nm	353 nm	355 nm

Die Ursachen für das Vorkommen von *Hypericum perforatum*-Herkünften ohne Rutin können dabei verschiedener Natur sein. Zum einen kann durch das Fehlen entscheidender Enzyme wie zum Beispiel der 3-Rutinosyltransferase die Biosynthese von Rutin vollständig blockiert sein. Zum anderen besteht auch die Möglichkeit, dass Rutin zwar in ausreichender Menge gebildet wird, aber dann anderen Enzymen als Substrat dient und durch Acylierung, Methylierung oder weitere Glykosylierung in eine Vielzahl anderer Biosyntheseprodukte umgesetzt wird (FORKMANN and HELLER 1999).

Herkünfte, die kein Rutin enthalten bzw. zusätzliche Substanzen bilden, eröffnen wichtige Chancen zur Aufklärung der Wirkmechanismen von Johanniskraut. Durch Substitution des fehlenden Rutins kann die veränderte Wirkung gegenüber dem Ursprungsextrakt ohne Rutin quantifiziert werden, während alle anderen Inhaltsstoffe in exakt der gleichen Konzentration vorliegen (vgl. NÖLDNER und SCHÖTZ 2002). Ebenso besteht die Möglichkeit, dass Extrakte mit zusätzlichen Inhaltsstoffen eine veränderte pharmakologische Wirkung entfalten.

Naphthodianthrone

Die zahlreichen Analysen von Blüten- und Drogenproben zeigte, daß bezüglich der Naphthodianthrongehalte eine hohe natürliche Variabilität vorhanden ist. Dabei war festzustellen, dass das Verhältnis von Pseudohypericin zu Hypericin je nach Herkunft sehr unterschiedlich sein kann. Die Pseudohypericingehalte erreichen in der Regel ein Vielfaches des Hypericingehaltes. POUTARAUD and GIRARDIN (2004) beobachteten, dass das Verhältnis zwischen Pseudohypericin und Hypericin in der Droge innerhalb einer Herkunft über zwei Jahre konstant ($R^2 = 0,78$) blieb. Die Einzelpflanzenanalyse von Droge der Sorte 'Taubertal' und der Selektion SN-1 aus der Blockanlage dokumentiert, dass die Gehalte an Pseudohypericin und Hypericin zwar um einen festen Mittelwert schwanken, aber in einem festen Verhältnis zueinander gebildet werden ($R^2 = 0,9217$ bzw. $0,9185$; vgl. Abbildung 74). Die Analysewerte der heterogenen Saatgutherkunft M. Bauer zeigen hingegen anhand einer deutlichen Streuung,

dass zwischen den Einzelpflanzen Unterschiede im Verhältnis von Pseudohypericin zu Hypericin bestehen.

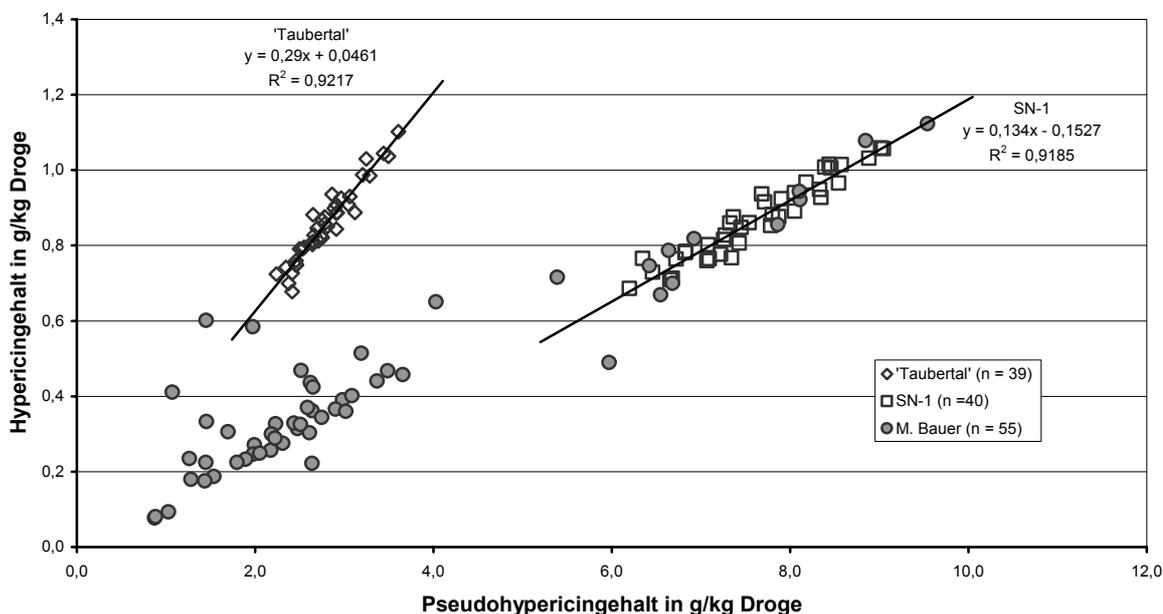


Abbildung 74: Korrelation von Pseudohypericin- und Hypericingehalt in der Droge, Blockanlage

Abbildung 74 macht noch einmal deutlich, dass 'Taubertal' und SN-1 zwar gleich hohe Hypericingehalte aufweisen, SN-1 aber mehr als den doppelten Pseudohypericingehalt erreicht. Der durchschnittliche Quotient aus Pseudohypericin und Hypericin erreicht bei 'Taubertal' 3,3 : 1 und bei SN-1 8,8 : 1 (vgl. Tabelle 66). Damit ist das Verhältnis der Naphthodianthrone in der Droge von SN-1 signifikant¹ höher als in der Droge von 'Taubertal'. HANNIG et al. (1995) geben das Verhältnis von Pseudohypericin zu Hypericin mit ca. 3-4 : 1 an, berichten aber gleichzeitig von einer Herkunft, bei der das Verhältnis nur 1,36 : 1 betrug.

Tabelle 66: Verhältnis von Pseudohypericin- zu Hypericingehalt (c_{PSH}/c_{HYP}), Blockanlage

c_{PSH}/c_{HYP}	\bar{x}	s_e	n
SN-1	8,81	0,36	40
'Taubertal'	3,26	0,11	39
M. Bauer	7,69	1,96	55

¹ Die Nullhypothese $H_0 (\mu_{SN-1} = \mu_{Taubertal})$ ist zugunsten der Alternativhypothese $H_1 (\mu_{SN-1} > \mu_{Taubertal})$ abzulehnen, wenn $t_0 > t_{p\%}^{(f=n_1+n_2-2)}$. Da $t_0 = 2,3836 > t_{99,0\%}^{(77)} = 2,3758$ ist, kann die Nullhypothese mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % abgelehnt werden (Student- bzw. t-Test zum Vergleich zweier Mittelwerte, vgl. PRECHT 1982).

Bei der inhomogenen Saatgutherkunft M. Bauer treten Einzelpflanzen auf, bei denen das Verhältnis von Pseudohypericin zu Hypericin deutlich vom Gruppenmittelwert abweicht. Sowohl die Hypericin- als auch die Pseudohypericingehalte liegen dabei deutlich unter den Gehalten, die von 'Taubertal' und SN-1 erreicht werden. In der Saatgutherkunft sind jedoch ca. 10 Einzelpflanzen auszumachen, die in den Bereich von SN-1 vorstoßen. Betrachtet man, wie in Abbildung 75 dargestellt, die Einzelpflanzen nach ihren Inhaltsstoffprofilen (vgl. Tabelle 64), wird sichtbar, dass es ausschließlich Pflanzen mit dem Inhaltsstoffprofil E sind, die eine Gruppe mit ähnlich hohen Gehalten wie SN-1 bilden. Dies ist vor dem Hintergrund, dass SN-1 ursprünglich aus der Saatgutherkunft M. Bauer selektiert wurde (vgl. Tabelle 72) und ebenfalls das Inhaltsstoffprofil E aufweist, leicht erklärbar. Daneben ist festzustellen, dass die Mehrzahl der Einzelpflanzen mit dem Inhaltsstoffprofil B ebenfalls eine klar definierbare Gruppe bildet, die mit hoher Wahrscheinlichkeit einen genetisch identischen Subtyp innerhalb der Population M. Bauer repräsentiert.

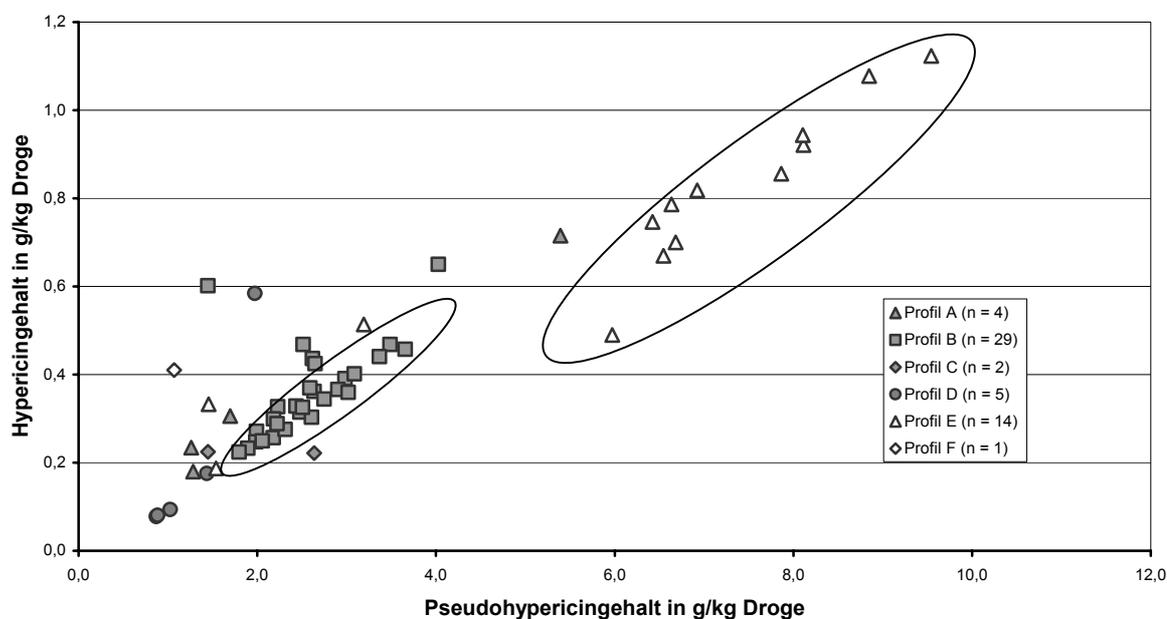


Abbildung 75: Korrelation von Pseudohypericin- und Hypericingehalt nach Profilen (M. Bauer)

Abschließend ist festzustellen, dass das Verhältnis von Pseudohypericin zu Hypericin innerhalb einer apomiktisch vermehrten Herkunft einem sehr starken linearen Zusammenhang folgt und somit stark genetisch fixiert ist, jedoch in Abhängigkeit vom Genotyp sehr unterschiedliche Werte annehmen kann.

Dies gilt analog auch für das Verhältnis der Vorstufen Protopseudohypericin und Protohypericin zueinander. Im Unterschied dazu wird jedoch das Verhältnis der beiden Endstufen der Naphthodianthrone zu ihren jeweiligen biosynthetischen Vorstufen einzig vom Grad der photochemischen Umsetzung von der Ernte bis zur Analyse bestimmt.

Phloroglucinderivate

Analog zu den Naphthodianthronen wurde anhand der Einzelpflanzenanalysen von 'Taubertal', SN-1 und M. Bauer auch das Verhältnis von Hyperforin zu Adhyperforin untersucht. Sowohl hinsichtlich der absoluten Gehalte (vgl. III 3.1.1) als auch hinsichtlich der Relation von Hyperforin zu Adhyperforin (vgl. Tabelle 67) unterscheiden sich die Selektion SN-1 und die heterogene Saatgutherkunft M. Bauer nicht. Die Sorte 'Taubertal' enthält deutlich weniger Phloroglucinderivate in der Droge als die beiden anderen Herkünfte. Das Verhältnis von Hyperforin zu Adhyperforin ist ebenfalls etwas geringer, unterscheidet sich aber nicht statistisch signifikant von SN-1 und M. Bauer.

Tabelle 67: Verhältnis von Hyperforin- zu Adhyperforingehalt ($c_{\text{HFO}}/c_{\text{AHF}}$), Blockanlage

$c_{\text{HFO}}/c_{\text{AHF}}$	\bar{x}	s_e	n
SN-1	4,80	0,50	40
'Taubertal'	3,83	0,56	39
M. Bauer	4,78	0,39	55

Abbildung 76 zeigt anschaulich, dass das Verhältnis von Hyperforin zu Adhyperforin in der Droge im Unterschied zu Pseudohypericin und Hypericin (siehe oben) nicht nur innerhalb einer Herkunft, sondern auch im Vergleich mehrerer Herkünfte annähernd konstant bleibt ($R^2 = 0,9107$). Daraus folgt, dass das Verhältnis der beiden Phloroglucinderivate bei *H. perforatum* mit hoher Wahrscheinlichkeit genetisch festgelegt ist, bzw. dass Adhyperforin in einem festen Verhältnis als Nebenprodukt bei der Hyperforin-Biosynthese entsteht.

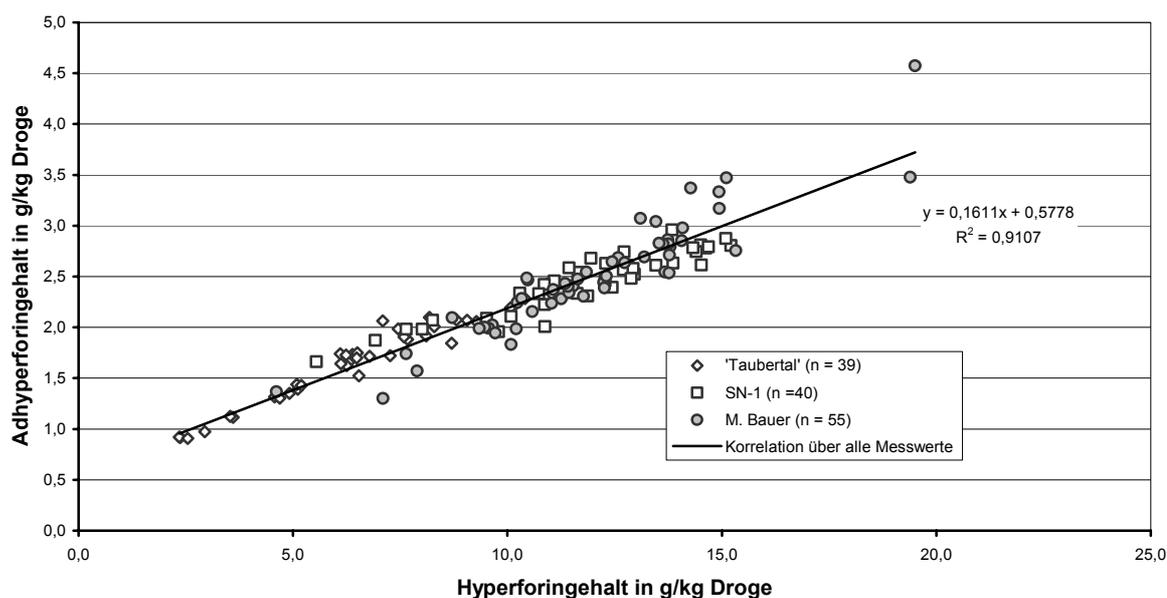


Abbildung 76: Korrelation von Hyperforin- und Adhyperforingehalt in der Droge, Blockanlage

4.3.3 Inhaltsstoffgehalte

Die HPLC-Analysen zeigten erwartungsgemäß, dass die untersuchten Herkünfte eine sehr hohe Variabilität in ihren Inhaltsstoffgehalten aufweisen (vgl. III 3). Im Unterschied zu den morphologischen Merkmalen lassen sich bezüglich der Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen nicht ohne weiteres Selektionskriterien ableiten. Unter der allgemein akzeptierten Prämisse, dass nicht ein einzelner Inhaltsstoff, sondern der Gesamtextrakt das wirksame Prinzip darstellt, scheint es nahezu überflüssig, Inhaltsstoffgehalte als Selektionskriterien einzuführen.

Dennoch lassen sich vier Richtgrößen ausfindig machen, auf deren Basis sich pharmakologische Selektionskriterien definieren lassen. Zuerst gelten die Mindestanforderungen der Monographie des PH. EUR. (2005), die einen Gehalt von mind. 0,08 % Gesamthypericin in der Droge vorschreibt. Dazu kommen die deutlich höheren Anforderungen der pharmazeutischen Industrie, die 0,25 % Gesamthypericin im Blühhorizont verlangen (vgl. I 3.2.2). Somit liegen zwar konkrete Werte zu den Naphthodianthronen vor, für die anderen Inhaltsstoffklassen fehlen diese jedoch. Eine sinnvolle Alternative ist es, als Richtwerte die Gehalte der Sorte 'Taubertal' zu verwenden, da sie als Standardsorte des Feldanbaus gilt und den derzeitigen Status quo markiert. Schließlich gibt die innerhalb der untersuchten Herkünfte gefundene Variabilität eine verlässliche Auskunft über das natürliche genetische Potential und die daraus resultierenden Verbesserungsmöglichkeiten bezüglich der Gehalte einzelner Inhaltsstoffe.

Richtgrößen für pharmakologische Selektionskriterien

- ① Mindestanforderungen nach PH. EUR. (2005)
- ② Anforderungen der pharmazeutischen Industrie (vgl. Tabelle 2)
- ③ Vorgaben der Standardsorte 'Taubertal'
- ④ Möglichkeiten der natürlichen Variabilität

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen zur Ertragsbildung und deren Konsequenz für den praktischen Anbau von Johanniskraut (vgl. IV 3.4) wirken sich auch auf die Entwicklung pharmakologischer Selektionskriterien aus. So sind zwar Herkünfte mit hohen Konzentrationen an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen bei der Selektion von besonderem Interesse. Aus praktischer Sicht ist es jedoch sinnvoller, auf einen hohen Inhaltsstofftrag pro Flächeneinheit zu achten. Die Überlegungen zum Einsparpotential durch Droge mit hohen Inhaltsstoffgehalten legen den Schluss nahe, dass bei gleichem Inhaltsstofftrag aus züchterischer Sicht die Herkünfte zu bevorzugen sind, die bei weniger Flächenertrag über höhere Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen verfügen.

Flavonoide

Innerhalb der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe stellen die Flavonoide eine wichtige Substanzgruppe. Dabei handelt es sich um das freie Flavonol Quercetin und die davon abgeleiteten Flavonolglykoside Rutin, Hyperosid, Isoquercitrin und Quercitrin, die sich bezüglich ihres Zuckerrestes an der 3-O-Position unterscheiden. Im Zusammenhang mit den Flavonolglykosiden fällt das Vorkommen von Inhaltsstoffprofilen auf, die sich durch das zusätzliche Vorhandensein von drei nicht identifizierten Substanzen bzw. durch das Fehlen von Rutin qualitativ vom erwarteten Inhaltsstoffmuster unterscheiden (vgl. IV 4.3.2). Sowohl der Gehalt des Aglykons Quercetin als auch die Konzentrationen der Glykoside zeigen innerhalb der untersuchten Herkünfte eine beachtliche quantitative Variabilität. Es lassen sich jedoch weder zwischen den Glykosiden noch zwischen der Grundsubstanz Quercetin und den einzelnen abgeleiteten Glykosiden Abhängigkeiten in der Konzentration feststellen.

Die Rolle der Flavonoide im Zusammenhang mit der antidepressiven Wirkung von Johanniskraut ist noch nicht hinreichend aufgeklärt, es liegen jedoch zahlreiche Hinweise dafür vor (BUTTERWECK und NAHRSTEDT 2003). Es wird angenommen, dass ihr antioxidatives Potential und die daraus resultierende antiinflammatorische Wirkung einen positiven Einfluss auf den Krankheitsverlauf nehmen, da entzündliche Prozesse an der Entstehung depressiver Zustände beteiligt sind (HUNT et al. 2001).

Die Untersuchungen von NÖLDNER und SCHÖTZ (2002) weisen darauf hin, dass das Vorliegen von Rutin essentiell für die antidepressive Wirksamkeit von Johanniskrautextrakten im Tiermodell ist. Es ist bislang ungeklärt, wie diese Effekte zustande kommen und ob die anderen Quercetinglykoside ebenfalls in der Lage sind, die beschriebenen Effekte zu erzielen. In diesem Zusammenhang nimmt die Resorption der Flavonoidglykoside eine Schlüsselstellung ein. Sie findet vorwiegend über die Epithelzellen im oberen Teil des Dünndarms statt. Dort werden die Flavonoidglykoside mit Hilfe von Glykosidasen in ihre Aglyka umgewandelt und anschließend direkt oder in Form von Glucuroniden in den Blutkreislauf abgegeben. Eine Ausnahme bilden dabei nach RICE-EVANS and SPENCER (2000) Rutin und zu einem bestimmten Grad auch Isoquercitrin, die als Glykoside in den Organismus aufgenommen werden können. Daneben ist nachgewiesen, dass Rutin genauso wie Hyperosid und einige Proanthocyanidine in der Lage ist, die Löslichkeit und damit die Bioverfügbarkeit der Hypericine zu verbessern (PLOSS 2000, BUTTERWECK und NAHRSTEDT 2003). Deshalb ist denkbar, dass Rutin einerseits über die erhöhte Bioverfügbarkeit die Pharmakokinetik anderer Inhaltsstoffe verbessert und andererseits selbst am Wirkort aktiv ist oder aufgrund synergistischer Effekte die Pharmakodynamik des Extraktes beeinflusst. Diese Befunde sprechen zumindest für eine indirekte Beteiligung des Rutins an der antidepressiven Wirkung des Extraktes. Angesichts dieser Sachlage und auch der Tatsache, dass ein großer Teil der untersuchten Herkünfte durchaus in der Lage ist, Rutin zu synthetisieren, müssen Herkünfte ohne Rutin (Inhaltsstoffprofile E und F) von der Verwendung als Sorten ausgeschlossen werden.

Ausgehend vom derzeitigen Stand des Wissens können die Flavonoidglykoside Hyperosid, Isoquercitrin und Quercitrin zu einer Untergruppe zusammengefasst werden. Rutin und das Aglykon Quercetin sind daneben getrennt zu betrachten. Insgesamt kann eine Erhöhung des Flavonoidgehaltes von Johanniskrautextrakten als wünschenswert beurteilt werden. Dies kann zum einen durch die Anpassung des Erntetermins geschehen (vgl. IV 3.4, Tabelle 63). Zum anderen bietet die natürlich vorhandene Variabilität der Flavonoidgehalte ausreichende Möglichkeiten für die züchterische Verbesserung dieses Merkmals.

Biflavone

Aufgrund ihres beschränkten Vorkommens im Pflanzenreich erwecken die Biflavone Biapigenin und Amentoflavon innerhalb der großen Gruppe der Flavonoide ein besonderes Interesse. Allerdings liegen nur wenig Hinweise auf eine antidepressive Wirkung der Biflavone vor. BAUREITHEL et al. (1997) konnten in Rezeptorbindungsstudien einen Effekt von Amentoflavon nachweisen, der in Zusammenhang mit der antidepressiven Wirkung von Johanniskrautextrakten stehen könnte. HANNIG et al. (1995) bringen das Interesse der verarbeitenden Industrie in Form einer generellen Forderung nach einem hohen Gehalt an I3,II8-Biapigenin zum Ausdruck, ohne jedoch die Mengenangabe zu präzisieren.

Bei der Selektion ist zu berücksichtigen, dass aufgrund des spezifischen Vorkommens von Biapigenin im Pollen große Fehler bei der Gehaltsbestimmung auftreten können. Besonders bei der Ernte von Blütenproben kommt es durch den Abtrag des Pollens durch Bienen je nach Erntezeitpunkt zu extrem hohen Schwankungen (vgl. IV 3.3, Abbildung 64). Bei der Ernte des Blühhorizontes tritt dieser Effekt nicht so stark in Erscheinung, da in den Knospen noch große Biapigeninmengen vorliegen. Allerdings können bei der Trocknung des frischen Pflanzenmaterials und der weiteren Verarbeitung der Droge durch Partikelverlust und dem damit verbundenen Pollenverlust erhebliche Mengen an Biapigenin verloren gehen. Für die Selektion auf einen hohen Biapigeningehalt ist deshalb der Vorschlag in Erwägung zu ziehen, statt der offenen Blüten im Stadium der Anthese (Stadium VI) vollständig entwickelte Knospen kurz vor der Anthese (Stadium V, vgl. Abbildung 13) zu ernten und zu analysieren.

Obwohl die Untersuchung zahlreicher Herkünfte eine natürliche Variabilität im Biapigeningehalt zeigte, die eine züchterische Verbesserung des Biapigeningehaltes in der Droge erlaubt, können aufgrund des starken Zusammenhangs zwischen dem Knospenanteil und dem Biapigeningehalt der Droge (vgl. Abbildung 66) durch eine entsprechend frühe Ernte weitaus höhere Biapigeninmengen erzielt werden.

Da Amentoflavon nur in sehr geringen Konzentrationen in den Blüten zu finden ist, wurde dieser Inhaltsstoff in den Analysen der vorliegenden Arbeit nicht quantifiziert. Vermutlich wird Amentoflavon analog zu Biapigenin vorwiegend in den Antheren synthetisiert. Für die Zukunft wäre es interessant zu klären, ob Amentoflavon und Biapigenin in ähnlicher Weise wie die Phloroglucinderivate Adhyperforin und Hyperforin in einem festen Verhältnis zu-

einander gebildet werden (vgl. IV 4.3.2). In diesem Fall würde eine Erhöhung des Biapigeningehaltes durch züchterische Maßnahmen und Anpassung des Erntetermines gleichzeitig eine Steigerung des Amentoflavongehaltes der Droge bedeuten.

Naphthodianthrone

Wie bereits eingangs erwähnt sind die Naphthodianthrone die einzige Inhaltsstoffgruppe, für die verbindliche Vorgaben zu den Mindestgehalten existieren. Um den Vorschriften der gültigen Monographie für *HYPERICI HERBA* zu genügen, muss Johanniskrautdroge mindestens 0,08 % Gesamthypericine enthalten (PH. EUR. 2005). Die verarbeitende pharmazeutische Industrie fordert darüberhinaus Gehalte von mindestens 0,25 % (HANNIG 1995), an anderer Stelle sogar 0,30 % (HANNIG et al. 1995) im getrockneten Blühhorizont. Da die Sorte 'Tauber-tal' nur an vier Tagen während der Blühperiode einen Gesamthypericingehalt von 0,25 % im Blühhorizont erreichte (vgl. IV 3.2, Abbildung 62), ist dieser Wert als der realistischere von beiden zu betrachten.

Die Rolle der Naphthodianthrone im Zusammenhang mit der antidepressiven Wirkung von Johanniskrautextrakten ist noch nicht abschließend geklärt. Allerdings steht fest, daß sie keineswegs alleine dafür verantwortlich sind. Untersuchungen von FOX et al. (2001) haben sogar gezeigt, dass Hypericin selbst bei hohen Dosen von 2 bzw. 5 mg Hypericin pro kg Körpergewicht nicht (d.h. weniger als 1 %) in der Lage war, die Blut-Hirn-Schranke von Primaten zu überwinden. PLOSS (2000), BUTTERWECK und NAHRSTEDT (2003) konnten jedoch zeigen, dass die Löslichkeit von Hypericin in wässrigem Medium durch das Proanthocyanidin B2 sowie die Quercetinglykoside Rutin und Hyperosid drastisch erhöht wird. Aufgrund dieser Befunde muss für Hypericin, wenn es im Pflanzenextrakt verabreicht wird, eine veränderte Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik angenommen werden.

Da keine Hinweise dafür vorliegen, dass Pseudohypericin und Hypericin oder deren biosynthetische Vorstufen Protopseudohypericin und Protohypericin eine unterschiedlich hohe pharmakologische Aktivität aufweisen, können derzeit nur Selektionskriterien definiert werden, die sich auf den Gesamthypericingehalt der Droge beziehen. Dieser sollte mindestens 0,25 % betragen oder deutlich höher liegen, jedoch nicht zu Lasten anderer Inhaltsstoffgruppen maximiert werden.

Phloroglucinderivate

Da die Phloroglucinderivate in Lösung instabil sind und vor allem unter Lichteinfluss (vgl. Abbildung 56) leicht abgebaut werden, kommt einer schonenden Aufbereitung und Verarbeitung der Droge bei der Optimierung ihrer Gehalte eine besonders große Bedeutung zu (SCHMIDT 2003). Die höchsten Hyperforin- und Adhyperforingehalte werden in grünen Kapseln erreicht, weshalb die Wahl des Erntetermins einen entscheidenden Einfluss auf den Phloroglucinderivatgehalt der Droge hat (vgl. IV 3.4, Tabelle 63). Dennoch konnten zwischen den untersuchten Herkünften deutliche Unterschiede im Hyperforin- und Adhyperforingehalt

der Blüten bzw. der Droge festgestellt werden. Besonders die unterschiedlichen Phloroglucinderivatgehalte in den Blüten sprechen dafür, dass deren Höhe nicht nur wie im Fall der Droge durch den Erntezeitpunkt, sondern auch durch genetische Faktoren bestimmt wird.

Der Gruppe der Phloroglucinderivate wird sowohl in Bezug auf die traditionelle als auch auf die moderne Anwendung von Johanniskrautpräparaten eine wichtige Bedeutung beigemessen. So gilt eine antibakterielle Wirkung von Hyperforin gegen antibiotikaresistente *Staphylococcus aureus* und gram-positive Bakterien als Bestätigung der volksmedizinisch überlieferten Anwendung von Hypericum-Extrakten zur Behandlung infizierter Wunden und ekzematischer Hauterkrankungen (SCHEMPP CM et al. 1999a).

In Zusammenhang mit der modernen Anwendung von Johanniskrautextrakten gegen leichte bis mittelschwere depressive Zustände wird dem Hyperforin von einigen Forschungsgruppen eine zentrale Rolle bei der antidepressiven Wirkung zugeschrieben (CHATTERJEE et al. 1998). Positive Befunde für die antidepressive Wirkung von Hyperforin liegen sowohl auf der Ebene der Symptome im Verhaltensmodell von Versuchstieren (BHATTACHARYA et al. 1998) als auch auf der molekularen bzw. neuronalen Ebene aus *in-vitro*- und *ex-vivo*-Testsystemen vor (MÜLLER et al. 1998 und BUCHHOLZER et al. 2002). SINGER et al. (1999) wiesen nach, dass Hyperforin in der Lage ist, die Serotoninwiederaufnahme durch eine Erhöhung der Konzentration freier interzellulärer Na^+ -Ionen im synaptischen Spalt zu hemmen und so die Serotinkonzentration zu erhöhen. Neben Hyperforin trägt auch Adhyperforin zu positiven Resultaten in biochemischen Modellen zur antidepressiven Wirkung von Johanniskrautextrakten bei (JENSEN et al. 2001). Hyperforin und Adhyperforin können deshalb bezüglich ihrer Wirkung als gleichwertig eingestuft werden.

Mittlerweile gilt es als gesichert, dass Hyperforin nicht nur an der antidepressiven Wirkung von Johanniskrautpräparaten beteiligt, sondern gleichzeitig auch für deren Interaktionen mit anderen Arzneimitteln verantwortlich ist. Als Ursachen wurden eine Beeinflussung des PGP-Transportersystems und eine Induktion des Entgiftungsenzyms CYP3A4 nachgewiesen (SCHMIDT 2002 und KOMOROSKI et al. 2004). Infolge der möglichen Interaktionen mit anderen Arzneimitteln wurden Johanniskrautpräparate mit einer Tagesdosis von über 1 mg Hyperforin unter die Apothekenpflicht gestellt (vgl. I 2.4).

Aus züchterischer Sicht ist interessant, dass die untersuchten Herkünfte eine beachtliche Variabilität bezüglich ihrer Hyperforingehalte aufweisen. Der Gehalt der Droge wird zwar durch die genetische Disposition einer Herkunft beeinflusst, hängt aber vor allem vom Anteil der grünen Kapseln in der Droge und damit vom Erntetermin ab. Die Art der Verarbeitung und Extraktion sowie die Konservierung der in Lösung instabilen Phloroglucinderivate bestimmt schließlich deren Gehalt im fertigen Präparat. Aufgrund dessen und des nachgewiesenen Zusammenhangs zwischen Hyperforingehalt und Interaktionen mit anderen Arzneimitteln ist eine starke Erhöhung des Phloroglucinderivatgehaltes in der Droge durch züchterische Maßnahmen nicht ratsam.

Kriterien für die Selektion

Abschließend ist festzustellen, dass derzeit aus pharmakologischer Sicht keine klar definierten Vorgaben hinsichtlich der Gehalte einzelner Inhaltsstoffe vorliegen. Deshalb ist es Aufgabe des Züchters, die Qualität der Droge über eine generelle Erhöhung der wichtigsten Inhaltsstoffgruppen im Vergleich zu vorhandenen Marktsorten zu verbessern. Gleichzeitig muss er zeitnah auf neue Erkenntnisse der Forschung reagieren und die pharmakologischen Zuchtziele den jeweiligen Anforderungen des Abnehmermarktes anpassen. Auf jeden Fall bedarf es einer sorgfältigen Abwägung aller Gesichtspunkte, bevor durch züchterische Maßnahmen der Gehalt einzelner Substanzen oder Substanzgruppen auf Kosten anderer erhöht wird. Tabelle 68 enthält Vorschläge für Mindestgehalte von Blütenproben und Droge, die als Kriterien zur Selektion neuer Sorten herangezogen werden können. Die genannten Werte basieren auf den tatsächlich erreichten Gehalten der Sorte 'Taubertal' unter gleichzeitiger Berücksichtigung der möglichen natürlichen Variabilität aller in diesem Projekt untersuchten Herkünfte. Die Werte sind so gewählt, dass Herkünfte mit zu geringen Gehalten eliminiert werden und Herkünfte mit vergleichbar guten Gehalten wie 'Taubertal' im Selektionsprozess verbleiben.

Wie bereits im Zusammenhang mit den Inhaltsstoffprofilen (IV 4.3.2) angesprochen, ist es abweichend von diesen Empfehlungen sinnvoll, Herkünfte mit sehr niedrigen Gehalten einzelner Substanzen bzw. Substanzgruppen zu selektieren, um gezielte Versuche zur Aufklärung der Wirkmechanismen durchzuführen. Durch schrittweise Supplementierung eines defizienten Extraktes mit der fehlenden Substanz kann so ceteris paribus der Beitrag dieses Inhaltsstoffes zur Gesamtwirksamkeit bewertet werden.

Tabelle 68: Pharmakologische Selektionskriterien für Inhaltsstoffgehalte von Blüten und Droge

	Blüten		Droge	
Flavonoide:				
Rutin	mind.	2,5 g/kg	mind.	5,0 g/kg
Quercetinglykoside gesamt	mind.	25,0 g/kg	mind.	25,0 g/kg
Quercetin	mind.	0,75 g/kg	mind.	1,0 g/kg
Biapigenin	mind.	1,0 g/kg	mind.	2,0 g/kg
Naphthodianthron:				
Gesamthypericin	mind.	5,0 g/kg	mind.	2,5 g/kg
Phloroglucinderivate:				
Hyperforin mit Adhyperforin	ca.	5,0 – 20,0 g/kg	ca.	5,0 – 20,0 g/kg

Eine gezielte züchterische Verbesserung der Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen in der Blüte und eine überlegte Wahl des Erntetermins schaffen zusammen mit einer hohen technologischen Eignung für den Feldanbau die besten Voraussetzungen zur Erzeugung qualitativ hochwertiger Droge.

Einen nicht zu unterschätzenden Aspekt stellen in diesem Zusammenhang die zur Extrakt-herstellung angewandten Methoden dar. Die innere Qualität der eingesetzten Rohdroge, definiert über die enthaltenen Inhaltsstoffe, entscheidet zwar über die höchstmöglich erreichbare Qualität des Extraktes. Welche Qualität jedoch tatsächlich erreicht wird, hängt unmittelbar von der Wahl der Extraktionsmethode und der verschiedenen Parameter ab. Dabei spielen vor allem der Zerkleinerungsgrad der Droge, Art und Konzentration des Lösungsmittels, die Temperatur und die gewählte Extraktionsdauer eine wichtige Rolle (GAEDCKE 1997).

Grundsätzlich gilt auch für die pharmakologischen Kriterien, dass technologische Aspekte, welche die anschließende Aufbereitung und Extraktion der Droge betreffen, nach Möglichkeit zu berücksichtigen sind. Zur Zeit liegen jedoch keine gesicherten Ergebnisse dafür vor, dass sortenbedingte Unterschiede hinsichtlich der Effizienz verschiedener Extraktionsmethoden zu erwarten sind.

Vor diesem Hintergrund ist für die Selektion als erster Anhaltspunkt eine Untersuchung der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe in den Blüten zu empfehlen. Die Ergebnisse zeigen das genetisch festgelegte Potential zur Bildung der verschiedenen Substanzen. Anschließend muss sorgfältig überprüft werden, wie gut die Ausprägung des Blühhorizontes, der Drogenertrag pro Flächeneinheit, die Wahl des optimalen Erntetermins, die Erntetechnik und die eingesetzten Extraktionsmethoden zur bestmöglichen Realisierung des biochemischen Potentials der Pflanzen beitragen.

Cd-Problematik

Die Einhaltung des Cadmiumgrenzwertes von max. 0,5 ppm Cd (vgl. Tabelle 2) stellt aufgrund des spezifischen Anreicherungsvermögens der Akkumulatorpflanze Johanniskraut in der Praxis ein Problem dar. Dabei besitzen verschiedene Herkünfte ein unterschiedliches Aneignungsvermögen für Cd und erlauben so eine züchterische Lösung dieses Problems (SCHNEIDER und MARQUARD 1996). Allerdings können auch ackerbauliche Vorkehrungen und die Vermeidung des Anbaus auf Cd-reichen Böden zur Lösung des Problems beitragen (BOMME 1997). Daneben können die Vermeidung einer Verschmutzung des Erntegutes mit Cd-haltigem Bodenmaterial sowie die Optimierung von Extraktionsmethoden ebenfalls zu einem reduzierten Übergang von Cd in den fertigen Extrakt beitragen. Angesichts dieser Möglichkeiten und dem Vorliegen von Herausforderungen weitaus höherer Priorität, wie beispielsweise die Entwicklung einer Sorte mit ausreichender Resistenz gegen *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides*, kommt der Cd-Problematik derzeit ein weniger dringlicher Stellenwert im Selektionsprozess zu.

gleichbleibende Rohstoffqualität

Um einen reproduzierbaren therapeutischen Erfolg eines zugelassenen Präparates garantieren zu können, muss der Hersteller eine von Charge zu Charge konstante Qualität des Extraktes sicherstellen. Dazu ist eine gleichbleibende Rohstoffqualität der Ausgangsdroge notwendig. Sie wird dann erreicht, wenn eine Sorte genetisch stabil ist und eine geringe umweltabhängige Variabilität in ihren agronomischen und pharmakologischen Merkmalen zeigt.

Die Untersuchungen zur Ertragsphysiologie von Johanniskraut haben gezeigt, dass die innere Qualität der Droge und dabei besonders das Verhältnis der verschiedenen pharmakologisch relevanten Substanzklassen zueinander maßgeblich von der Wahl des Erntetermins abhängt (vgl. IV 3.4, Tabelle 63). Um die Qualität der gewonnenen Droge über die Chargen und Jahre konstant zu halten, muss die Ernte jeweils im selben physiologischen Entwicklungsstadium der Pflanzen erfolgen. Für die verarbeitende Industrie besteht darüberhinaus die Möglichkeit, verschiedene Drogenchargen so miteinander zu verschneiden, dass das erzeugte Fertigarzneimittel die verlangte gleichbleibende Qualität aufweist (GAEDCKE 2003). Dabei ist es unter Anwendung der gewonnenen Erkenntnisse über die Inhaltsstoffentwicklung in der Droge von großem Vorteil, neben früh geernteter Droge mit einem hohen Flavonoidgehalt, auch zu Beginn der Vollblüte geerntete Droge mit einem hohen Naphthodianthrongehalt und spät geerntete Droge mit einem hohen Hyperforingehalt vorrätig zu haben.

4.3.4 Pharmakologische Wirksamkeit

Die pharmakologische Wirksamkeit von Johanniskrautpräparaten bei leichten bis mittelschweren Depressionen gilt mittlerweile als hinreichend erwiesen (vgl. I 2.3), auch wenn die Wirkmechanismen selbst noch nicht im Detail aufgeklärt werden konnten. In Zusammenhang mit der züchterischen Bearbeitung von Johanniskraut stellt sich die Frage, ob sich die Extrakte unterschiedlicher Herkünfte hinsichtlich ihrer pharmakologischen Wirksamkeit unterscheiden und inwieweit diese Unterschiede als Kriterien für die Selektion neuer Sorten herangezogen werden können.

Johanniskrautextrakte gelten als rationale Phytopharmaka. Das bedeutet, dass ein kausaler Zusammenhang zwischen den Inhaltsstoffen der Droge und der medizinischen Wirkung des Extraktes zugrunde gelegt wird. Deshalb ist anzunehmen, dass sich die verschiedenen Herkünfte nicht nur in ihren Inhaltsstoffgehalten, sondern infolgedessen auch mit hoher Sicherheit in der Wirksamkeit ihrer Extrakte unterscheiden.

Intensive Forschungsbemühungen haben – ausgehend von verschiedenen Modellen zur Entstehung und dem Krankheitsverlauf einer Depression – die Rolle nahezu aller in Frage kommenden Inhaltsstoffe von Johanniskraut beleuchtet und zu einer kontroversen Diskussion der postulierten Wirkmechanismen geführt.

In der Tat ist es bemerkenswert, dass Johanniskraut mit den Naphthodianthronen, Phloroglucinderivaten, Biflavonen und Xanthonen eine Reihe von sekundären Pflanzenstoffen enthält, die in der Natur von Haus aus nur selten vorkommen (vgl. I 2.1) und in dieser einzigartigen Kombination ausschließlich bei Johanniskraut zu finden sind.

Diese Ausgangslage und die kontroverse Diskussion der hypothetischen Wirkmechanismen zeigen, dass bei der pharmakologischen Beurteilung eines Extraktes nicht ohne weiteres von einem linearen bzw. kausalen Zusammenhang zwischen der Dosis bestimmter einzelner Bestandteile des Extraktes und dessen medizinischer Wirkung ausgegangen werden kann. Im Gegenzug verdichten sich die Hinweise darauf, dass sich die Wirksamkeit eines Johanniskrautextraktes aus weitaus mehr zusammensetzt als aus der Summe der Wirksamkeiten seiner einzelnen Bestandteile. Dieser Sachlage wird bereits seit Längerem insofern Rechnung getragen, als gemäß Schreiben des BfArM vom 07. 09. 1995 (sog. "BÜHLER-Brief") der Gesamtextrakt als wirksamer Bestandteil von Johanniskrautpräparaten angesehen wird (FAH 1998).

Um die pharmakologische Wirksamkeit von Johanniskrautextrakten ganzheitlich zu erfassen, stehen neben klinischen Studien an Patienten und Tests im Verhaltensmodell von Versuchstieren auch biochemische Testsysteme zur Verfügung (vgl. I 2.3). Hinweise darauf, dass phänotypisch verschiedene Herkünfte auch in biochemischen Testsystemen, die in Verbindung zum Krankheitskomplex der Depression stehen, differenzierbar sind, geben bereits DENKE et al. (1999b).

In Bezug auf die Nutzung biochemischer Testsysteme zur Bewertung von medizinisch genutzten Arzneipflanzenextrakten sei an dieser Stelle auf die Arbeiten der Arbeitsgruppe Biochemische Phytopathologie am Lehrstuhl für Phytopathologie der TU München-Weihenstephan (KLEBER et al. 1999, DENKE et al. 1999a, SCHEMP H et al. 1999, DENKE et al. 1999b, DENKE et al. 2000) und die Untersuchungen von MANN (2003) verwiesen.

Die Bewertung der pharmakologischen Wirksamkeit von Extrakten mit Hilfe biochemischer Testsysteme stellt aus Sicht der Züchtung eine wertvolle Ergänzung zur rein analytischen Erfassung der Inhaltsstoffgehalte dar. Es ist dabei durchaus denkbar, dass auch Extrakte mit geringeren Inhaltsstoffgehalten eine vergleichbar hohe oder sogar höhere Wirksamkeit in biochemischen Testsystemen entfalten, als Extrakte mit hohen Inhaltsstoffgehalten. Ursache hierfür können Begleitsubstanzen aus dem primären Stoffwechsel der Pflanzen sein. Darüber hinaus können Inhaltsstoffe dafür verantwortlich sein, die zwar in Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze vorkommen, dafür aber eine hohe Potenz im gewählten Testsystem entfalten. Schließlich können neben dem absoluten Gehalt der einzelnen Substanzen auch die Verhältnisse der Substanzen bzw. Substanzgruppen zueinander über synergistische Effekte einen Einfluss auf die Wirksamkeit im Testsystem ausüben.

Je nachdem, ob die biochemischen Testsysteme zeitaufwändig und kostspielig sind, oder ob sie nach entsprechender Vereinfachung auch zur Testung zahlreicher Proben geeignet sind

(vgl. DENKE et al. 1999a und SCHEMP H et al. 1999), können biochemische Testsysteme früher oder später im Selektionsprozess eingesetzt werden.

Analog zur Analyse der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe bereiten auch beim Test von Extrakten jene Einflussgrößen Schwierigkeiten, die über die genetische Disposition der Herkünfte hinaus die innere Qualität der Droge bestimmen. Hierzu zählen agronomische Einflüsse, die durch die Anlage der Feldversuche nach statistischen Methoden minimiert werden können. Weiterhin gehören dazu die beschriebenen Auswirkungen der Wahl des Erntetermines auf das Verhältnis der verschiedenen Substanzgruppen zueinander und der Schnitthöhe auf das Verhältnis vegetativer und generativer Pflanzenteile. Ausgehend von der fertigen Droge sind außerdem alle Einflüsse zu berücksichtigen, die bei der Extrakterstellung auftreten können. Dazu zählen der Zerkleinerungsgrad der Droge, die Art des Lösungsmittels, das Verhältnis von Einwaage zu Lösungsmittel, die Temperatur und die Extraktionsdauer (GAEDCKE 1997 und 2003). Die Parameter im Herstellungsverfahren des fertigen Extraktes lassen sich jedoch wesentlich einfacher standardisieren als der Erntetermin und die Schnitthöhe. Deshalb ist die Verwendung von Blütenproben zur Extrakterstellung und für die Untersuchung der Wirksamkeit einzelner Herkünfte in biochemischen Testsystemen in Betracht zu ziehen (vgl. IV 3.5).

Besonders die Kombination mehrerer biochemischer Testsysteme, die verschiedene Aspekte und Mechanismen der antidepressiven Wirkung beleuchten, liefert wertvolle Aussagen über das pharmakologische Potential eines Extraktes. Wesentlich aufwändiger, aber bei einer Eingrenzung auf wenige Herkünfte durchaus realistisch, ist die Überprüfung der pharmakologischen bzw. therapeutischen Wirksamkeit einzelner Extrakte im Verhaltensmodell von Versuchstieren (vgl. I 2.3). Tierversuche bieten die Möglichkeit, die Auswirkung von Johanniskrautextrakten auf definierte Verhaltensweisen, die in Bezug zu typischen Symptomen der Depression stehen, untereinander und mit synthetischen Antidepressiva zu vergleichen.

Mit Hilfe von biochemischen Testsystemen und Verhaltensmodellen im Tierversuch kann zusätzlich zur analytischen Bewertung der Inhaltsstoffgehalte eine Aussage über die pharmakologische Wirksamkeit von Extrakten verschiedener Johanniskrautherkünfte gewonnen und zur Selektion neuer verbesserter Sorten herangezogen werden.

5. Zuchtmethodik und Selektionsschema

5.1 Zuchtmethodik

Innerhalb der vier Züchtungskategorien (vgl. Tabelle 69) ist das Johanniskraut aufgrund seiner apomiktischen und damit vegetativen Fortpflanzung über genetisch muttergleiche Samen dem Sortentyp "Klonsorte" zuzuordnen.

Tabelle 69: Die vier Züchtungskategorien (nach BECKER 1993)

<i>natürliche Fortpflanzungsweise</i>	<i>Vermehrungsprozeß</i>	<i>Sortentyp</i>
asexuelle Fortpflanzung	Vegetative Vermehrung	Klonsorte
Selbstbefruchtung	Selbstbefruchtung	Liniensorte
Fremdbefruchtung	Kontrollierte Kreuzung	Hybridsorte
	Offenes Abblühen	Populationsorte

Der Vorteil einer vegetativ vermehrten Klonsorte besteht darin, dass Genotypen mit positiven Eigenschaften trotz ihres hohen Heterozygotiegrades über viele Anbauperioden konstant erhalten werden können. Beispiele für Kulturpflanzen, die als Klonsorten gezüchtet, vermehrt und kultiviert werden, sind die Kartoffel, Obstgehölze, viele Zierpflanzenarten und tropische Arten wie beispielsweise Banane, Cassava und Zuckerrohr. Das grundlegende Prinzip der Klonzüchtung besteht nun darin, die vegetative Fortpflanzungsweise durch eine sexuelle Kreuzung ausgewählter Elternpflanzen zu durchbrechen. Da diese hochgradig heterozygot sind, kommt es bei der Gametenbildung zu einer starken Aufspaltung und die Nachkommen zeigen eine große genetische Variabilität. Im weiteren Zuchtverlauf werden in mehreren Selektionsschritten Genotypen ausgelesen, die den Zuchtzielen entsprechen und in der Folge wieder ausschließlich auf vegetativem Wege vermehrt werden (vgl. BECKER 1993).

Wie in I 4.2 dargelegt, ist die Möglichkeit einer Neukombination verschiedener Merkmale durch Kreuzung und die damit verbundene Erzeugung neuer Variabilität sehr stark limitiert. Deshalb müssen bei der züchterischen Bearbeitung von Johanniskraut andere Wege beschritten werden, um Material mit neuer genetischer Variabilität zu gewinnen (vgl. I 4.3).

Als Ausgangsmaterial für die vorliegende Arbeit wurden Selektionen aus *H. perforatum*-Populationen in Form von kommerziell erhältlichen Saatgutherkünften und inhomogenen Sorten genutzt. Darüber hinaus wurde die genetische Diversität durch mehrere Sammlungen verschiedener Wildherkünfte vom Naturstandort ergänzt (vgl. II 1). Schließlich wurden aus den Selektionen und Wildherkünften phänotypisch abweichende Einzelpflanzen ausgelesen, Saatgut geerntet und deren Nachkommenschaften untersucht. Dabei war festzustellen, dass drei Nachkommenschaften einen homogenen Bestand bildeten, während fünf weitere in unterschiedliche Phänotypen aufspalteten. Das Auftreten von abweichenden Phänotypen in der

Ursprungsherkunft geht auf die Befruchtung reduzierter Eizellen zurück, die durch den fakultativen Charakter der Apomixis mit einer geringen Häufigkeit auftreten kann. Die so entstandenen, genotypisch neuen Individuen vermehren sich ihrerseits wieder apomiktisch. In seltenen Fällen wird der apomiktische Reproduktionsmodus komplett aufgegeben und die Samen entstehen von da an auf sexuellem Wege (MATZK et al. 2001).

Auch unter den Sämlingen bereits früher durchgeführter Kreuzungsexperimente zwischen den morphologisch sehr unterschiedlichen Selektionen BB-1 und SN-1 (NEBELMEIR 2000) wurden Pflanzen mit abweichendem Phänotyp identifiziert. Durch eine Untersuchung mit Hilfe molekularer Marker (AFLP = amplified fragment length polymorphisms) konnte nachgewiesen werden, dass ein großer Teil der abweichenden Sämlinge auf befruchtete, unreduzierte tetraploide Eizellen zurückgeht und hexaploid ($2n = 6x = 48$) ist, während ein kleinerer Teil aus befruchteten reduzierten Eizellen entstanden und tetraploid ($2n = 4x = 32$) ist (unveröffentlichte Ergebnisse).

Dieser geringe Prozentsatz an genetischer Neukombination durch die Befruchtung reduzierter Eizellen, der sowohl bei offener Abblüte als auch bei kontrollierter Kreuzung entstehen kann, eröffnet realistische Chancen zur züchterischen Verbesserung von Johanniskrautherkünften durch Kombination wünschenswerter Eigenschaften. Für den Fall, dass die apomiktische Fortpflanzungsweise beibehalten wird, können die Kreuzungsprodukte direkt und konstant als eigenständige Klone weitervermehrt werden. Wenn im anderen Fall ein teilweise oder rein sexueller Reproduktionsmodus vorliegt, sind die neuen Genotypen nicht mehr als Klonsorten zu verwenden und müssen zur Erhaltung vegetativ z.B. über Spross-Stecklinge oder *in-vitro*-Kultur vermehrt werden. Diese sexuell reproduzierenden Genotypen eröffnen jedoch neue Wege für die Züchtung von Johanniskraut, da sie als Mutterpflanzen für Kreuzungen mit apomiktischen Herkünften eingesetzt werden können. Für den Züchtungserfolg ist dabei entscheidend, dass es gelingt, in der F_1 -Generation Individuen zu selektieren, die sowohl positive Eigenschaften der Elternlinien auf sich vereinen als auch einen hohen Apomixiegrad aufweisen. Diese können dann direkt in den Selektionsprozess einfließen, während wertvolle Nachkommen mit sexueller Fortpflanzungsweise im Zuchtprogramm verbleiben und wieder mit apomiktischen Linien gekreuzt werden können (PANK et al. 2003). Es ist vorstellbar, dass es künftig über die Auswahl geeigneter Elternlinien möglich ist, den Reproduktionsmodus der Nachkommen gezielt zu steuern und so das Auftreten von Apomixis züchterisch zu nutzen.

An die Erhaltungszüchtung etablierter Sorten werden aufgrund der Tatsache, dass die Apomixie bei Johanniskraut fakultativer Natur ist und dabei eine hohe Plastizität zeigt (MATZK et al. 2001), hohe Anforderungen gestellt. Die Notwendigkeit, eine Klonsorte mit ausreichend hohem Apomixiegrad zu selektieren und in der Folge konsequent von abweichenden Typen zu bereinigen, wird am Beispiel der beiden inhomogenen Saatgutprovenienzen der Sorte 'Topaz' in eindrucksvoller Weise dokumentiert (vgl. III 1.1.1).

5.2 Selektionsschema

5.2.1 Anbauplanung

Bei Johanniskraut handelt es sich um eine ausdauernde Pflanze mit – im Idealfall – mehrjähriger Kultur. Dieser Aspekt ist bei der Planung von Feldversuchen zur Evaluierung des Zuchtmaterials besonders zu berücksichtigen. Die mehrjährige Standzeit einerseits und das hohe Ausfallrisiko durch Befall mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* andererseits setzen einer Auswertung der gewonnenen Daten nach statistischen Maßstäben sehr enge Grenzen.

Aus diesem Grund hat sich für die erste Einschätzung von Herkünften der Anbau in Form einer Linienanlage mit geeignetem externen und internen Standard als zweckmäßig erwiesen. Nach erfolgter Vorselektion ist bei der detaillierteren Untersuchung der Herkünfte auf ein robustes Versuchsdesign zu achten, bei dem auch der Ausfall ganzer Parzellen bzw. Versuchsglieder eine vernünftige Auswertung der Daten zulässt. Unter diesem Gesichtspunkt hat sich die Wahl einer Blockanlage bewährt.

Als Ausgangsmaterial werden in der Regel vorgezogene Jungpflanzen aus Samen verwendet. Die Pflanzung von Material aus *in-vitro*-Vermehrung ist aufgrund der stark abweichenden Entwicklung der Pflanzen im ersten Jahr nur in Ausnahmefällen zu empfehlen. Dazu zählt zum einen die Erhaltung von Herkünften mit sexueller Fortpflanzungsweise. Zum anderen bietet die *in-vitro*-Kultur die Möglichkeit, gesundes Pflanzmaterial ohne latente Infektion mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* zu produzieren und als Ausgangsmaterial für die Produktion von gesundem Basissaatgut zu verwenden.

Besondere Aufmerksamkeit verdient die Frage, ob eine Frühjahrs- oder eine Herbstpflanzung zu bevorzugen ist. Im feldmäßigen Anbau von Johanniskraut hat sich die von August bis September durchgeführte Herbstpflanzung fest etabliert. Dafür spricht, dass bei Frühjahrs-pflanzung im ersten Sommer nur geringe Flächenerträge mit unbefriedigenden Inhaltsstoffgehalten erzielt werden können. Bei Herbstpflanzung z.B. nach der Sommergerste entwickeln sich die Pflanzen nur noch vegetativ. Im nächsten Jahr liefert der Bestand seinen ersten Ertrag, der dann abhängig von der gewählten Sorte auch die gewünschte Qualität erreicht. Es ist jedoch anzumerken, dass der Ertrag deutlich geringer ist als bei einer Frühjahrs-pflanzung im zweiten Standjahr.

Anders als im Praxisanbau ist für den Versuchsanbau zum Zwecke der züchterischen Bearbeitung die Frühjahrs-pflanzung der Herbstpflanzung vorzuziehen (vgl. Abbildung 77). Die Vorteile für die Züchtung ergeben sich in erster Linie aus der Einsparung einer ganzen Vegetationsperiode und der früheren Saatgutgewinnung. Darüber hinaus können im ersten Jahr Informationen gewonnen werden, die bei einer Herbstpflanzung nicht erfasst werden. Grund dafür ist, dass sich die physiologische Entwicklung der Pflanzen im ersten Jahr besonders in der Ausprägung des Habitus und im Blühverhalten deutlich von der Entwicklung in den folgenden Jahren unterscheidet. Diese Informationen sind aber dann von Interesse, wenn eine

Sorte selektiert werden soll, die bei Frühjahrspflanzung bereits im ersten Jahr einen verwertbaren Ertrag erzielt.

Im zweiten Standjahr verhalten sich die Pflanzen aus Frühjahrspflanzung genauso wie die überwinterten Pflanzen aus dem Herbstanbau, sind jedoch stärker entwickelt. Obwohl sich dadurch die quantitativen Merkmale Pflanzenhöhe, Triebzahl, Bestandsschluss und Ertrag verändern, bleiben die qualitativen Merkmale Standfestigkeit, Blühbeginn, Blühhorizont und Inhaltsstoffgehalt der Blüten weitestgehend gleich. Durch den gleichzeitigen Anbau von Standards wird eine hohe Selektionsschärfe gewährleistet. Die Frühjahrspflanzung ist deshalb in den ersten Selektionsschritten gegenüber der Herbstpflanzung zu bevorzugen. In späteren Selektionsphasen und bei der Überprüfung der Eignung für den praktischen Feldanbau muss dann, je nach beabsichtigter Verwendung, Frühjahrs- oder Herbstanbau durchgeführt werden.

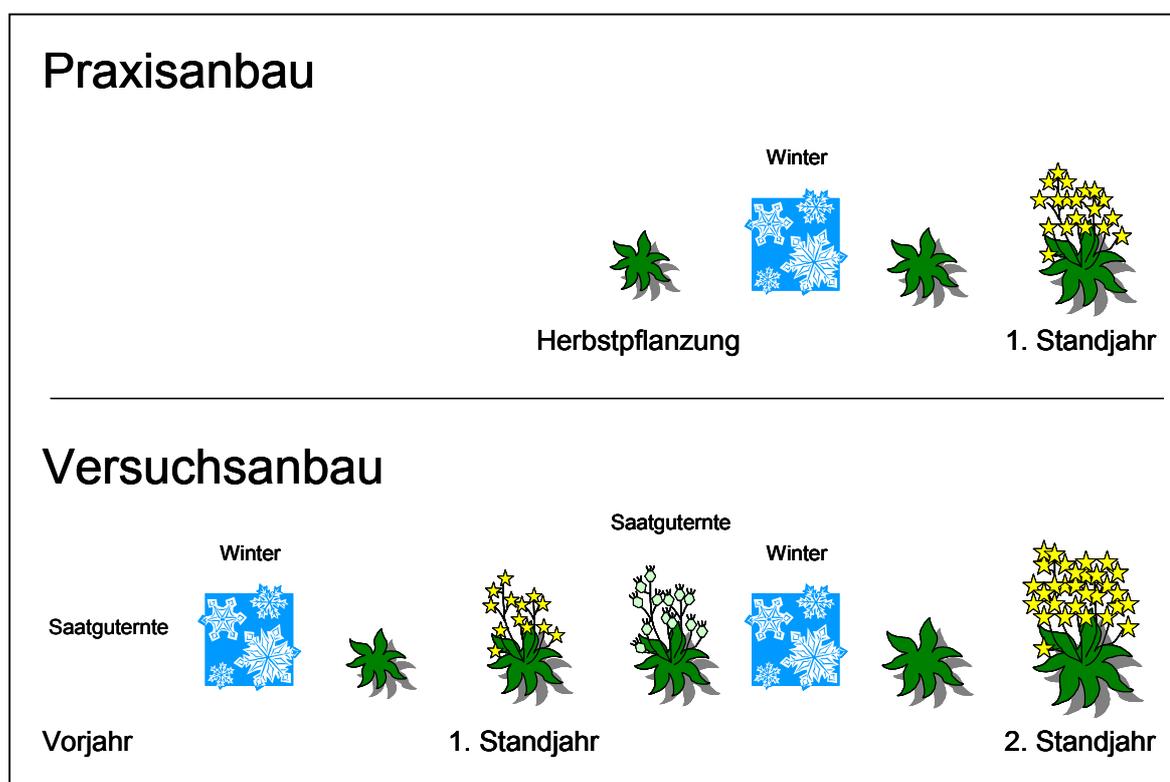


Abbildung 77: Vergleich Praxis- und Versuchsanbau von Johanniskraut

Aufgrund der Tatsache, dass Johanniskraut mehrjährig ist und jeweils erst nach Überwinterung einen Vollertrag liefert, ist für die Entwicklung einer neuen Johanniskrautsorte mit einem Zeitraum von acht bis zwölf Jahren zu rechnen. Durch geschickte Versuchsplanung und parallel laufende Teilprojekte kann im Einzelfall bei der Selektion Zeit eingespart werden. Die Bereitstellung von geeignetem Ausgangsmaterial durch Kreuzung sexueller und apomiktischer Linien kann im Gegenzug mehr Zeit in Anspruch nehmen.

5.2.2 Entwicklung Selektionsschema

Am Anfang eines Züchtungsprojektes steht die Definition von Zuchtzielen. Neben den allgemein gültigen Vorgaben des Arzneibuches, den Forderungen der pharmazeutischen Industrie und den Möglichkeiten der Anbautechnologie können spezielle Anforderungen, wie beispielsweise der erhöhte Gehalt eines bestimmten Inhaltsstoffes oder die Eignung für ein bestimmtes Anbauverfahren, die Zuchtziele festlegen.

Ausgehend von den in Kapitel I 3.2 definierten Zuchtzielen werden im Folgenden die in Kapitel IV 4 dargestellten Unterscheidungs- und Selektionskriterien in einen zeitlich sinnvollen Bezug zueinander gebracht und ein Selektionsschema für die Züchtung von Johanniskraut entwickelt. Eine entscheidende Vorgabe ist dabei die praktische Anwendbarkeit des Selektionsschemas. Dafür muss der Zeitpunkt für die Anwendung bestimmter Selektionskriterien so gewählt werden, dass die Anzahl der zu prüfenden Stämme konsequent eingegrenzt werden und gleichzeitig der Umfang der notwendigen Bewertungen bewältigt werden kann. Dazu lässt sich der Selektionsprozess in mehrere charakteristische Phasen aufteilen. Vor dem eigentlichen Beginn steht die Gewinnung von Ausgangsmaterial. Darauf folgt die Vorselektion, bei der ungeeignete Herkünfte vom weiteren Selektionsprozess ausgeschlossen werden. Die weiteren Phasen der Selektion dienen dazu, nach und nach die Stämme mit den besten Merkmalen auszuwählen. Diese werden dann intensiv auf ihre Anbaueignung überprüft bevor sie schließlich in die Anmeldung zum Sortenschutz und in die Produktion gegeben werden.

Phasen im Selektionsschema von Johanniskraut:

- ① Gewinnung von Ausgangsmaterial
- ① Vorselektion
- ② Selektion I
- ③ Selektion II
- ④ Überprüfung der Anbaueignung
- ⑤ Anmeldung zum Sortenschutz

Phase 0 – Gewinnung von Ausgangsmaterial

Ziel der Phase 0 eines Zuchtprojektes ist es, Ausgangsmaterial in Form von kleinen Saatgutpartien von Einzelpflanzen verschiedener Herkunft mit hoher phänotypischer Variabilität und genetischer Diversität zu gewinnen. Wie in den Kapiteln I 4.3 und IV 5.1 dargelegt, können dabei je nach Ausgangslage verschiedene Wege beschrrieben werden. Am einfachsten ist dabei die Selektion von Einzelpflanzen aus inhomogenen Saatgutpartien von Sorten oder Gemischen, die im Handel erhältlich sind. Wesentlich schwieriger ist die Auslese sexuell entstandener Einzelpflanzen aus der Kreuzung oder offenen Abblüte apomiktischer Linien. Die Erzeugung von Nachkommen aus Kreuzungen von sexuellen Linien mit apomiktischen Linien ist nur dann möglich, wenn das entsprechende genetische Material vorliegt. Schließlich bietet

die Sammlung von Wildherkünften die Möglichkeit, auf die gesamte, in der Natur vorhandene, genetische Vielfalt der Art *Hypericum perforatum* L. zurückzugreifen.

Gewinnung von Ausgangsmaterial:

- ① Einzelpflanzenselektion aus inhomogenen Saatgutpartien
- ② sexuell entstandene Einzelpflanzen aus apomiktischen Linien
- ③ Nachkommen aus Kreuzungen sexueller und apomiktischer Linien
- ④ Sammlungen von Wildherkünften

① Einzelpflanzenselektion aus inhomogenen Saatgutpartien

Bei der Selektion interessanter Einzelpflanzen aus inhomogenen Sorten und heterogenen Saatgutherkünften können bereits agronomische Selektionskriterien angewandt werden. Dabei sind alle Merkmale von Bedeutung, die auf eine gute technologische Eignung schließen lassen. Mit Hilfe gezielter Infektion von Jungpflanzen mit *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides* können eventuell vorhandene Einzelpflanzen mit einer erhöhten Resistenz gegen diese Pilzkrankheit ausgelesen werden (GÄRBER und SCHENK 2002c). Anhand der Hypericinbehälter auf den Petalen lassen sich Pflanzen selektieren, die tendenziell einen höheren Hypericin-gehalt in der Droge aufweisen. Für die Untersuchung zahlreicher Einzelpflanzen aus heterogenen Populationen und inhomogenen Sorten ist die Analyse von Blütenproben geeignet (vgl. IV 3.5). Dadurch kann bereits in einem frühen Stadium eine Aussage über das Inhaltsstoffprofil der ausgewählten Pflanzen und ihr Potential zur Biosynthese der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe getroffen werden.

② sexuell entstandene Einzelpflanzen aus apomiktischen Linien

Innerhalb von Nachkommenschaften, die aus einer offenen Abblüte oder gezielten Kreuzungen apomiktischer Herkünfte stammen, lassen sich theoretisch je nach Ausprägung der fakultativen Apomixis einzelne Pflanzen selektieren, die aus der Vereinigung zweier reduzierter Gameten hervorgegangen sind und eine Neukombination des genetischen Materials der Eltern darstellen. Die Identifizierung dieser sehr wenigen Einzelpflanzen kann abhängig vom Phänotyp der Elternlinien entweder am einfachsten anhand von morphologischen Unterscheidungskriterien (vgl. IV 4.1) oder mit deutlichem Mehraufwand unter Zuhilfenahme von molekularen Markern erfolgen (HALUŠKOVÁ and ČELLÁROVÁ 1997, ARNHOLDT-SCHMITT 2000 und STECK et al. 2001).

③ Nachkommen aus Kreuzungen sexueller und apomiktischer Linien

Bei der Kreuzung sexuell reproduzierender Johanniskrautlinien mit apomiktischen Herkünften (vgl. IV 5.1) ist eine starke Aufspaltung der Nachkommen zu erwarten. Unter ihnen können Einzelpflanzen selektiert werden, die positive Eigenschaften beider Elternlinien auf sich

vereinen. Dazu bieten sich sowohl morphologische Unterscheidungskriterien als auch agronomische Selektionskriterien an, die sich auf die betreffenden Eigenschaften beziehen. Die Analyse von Blütenproben kann herangezogen werden, um Einzelpflanzen mit geeignetem Inhaltsstoffprofil und hohen Gehalten an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen zu selektieren.

④ Sammlungen von Wildherkünften

Die Sammlung von Wildherkünften bietet die Möglichkeit, die natürlich vorhandene genetische Variabilität der Art zu nutzen. Dabei ist Johanniskraut besonders in der Spontanvegetation anthropogen entstandener Ruderalflächen anzutreffen. Da der Verwendung anderer *Hypericum*-Arten als *Hypericum perforatum* L. zur Erzeugung von Johanniskrautdroge durch das Ph. EUR. (2005) sehr enge Grenzen gesetzt sind, ist die Sammlung dieser Arten von rein wissenschaftlichem Interesse. Aufgrund der apomiktischen Fortpflanzungsweise von *H. perforatum* L. ist davon auszugehen, dass die zahlreichen Pflanzen an einem bestimmten Naturstandort nur wenige Genotypen repräsentieren. Die gute Anpassungsfähigkeit des Johanniskrautes an verschiedene Bodenverhältnisse wie zum Beispiel Wasser- oder Nährstoffvorrat führt auch innerhalb eines Standortes zu unterschiedlichen phänotypischen Ausprägungen desselben Genotyps. Dennoch können morphologische Unterscheidungskriterien dazu herangezogen werden, die verschiedenen Typen gegeneinander abzugrenzen. Generell ist zu empfehlen, bei Wildsammlungen eine möglichst breite phänotypische Variabilität aller Merkmale abzudecken. Es lassen sich jedoch bereits am Naturstandort Typen mit offensichtlich negativen Eigenschaften ausgrenzen. Die Anzahl der Hypericinbehälter auf den Petalen gibt bereits bei Wildmaterial einen Hinweis auf den späteren Gesamthypericingehalt der Droge. Am zweckmäßigsten werden von den ausgewählten Wildpflanzen Kapseln geerntet und so Saatgut gewonnen.

Phase 1 – Vorselektion

Das Versuchsfeld für die Vorselektion wird am besten in Form einer Linienanlage mit Einfach- oder Doppelstandard angelegt. Als Standards können Vergleichssorten mit einer hohen Praxisrelevanz (z.B. 'Taubertal') oder gut untersuchte Zuchtlinien herangezogen werden. Die Phase der Vorselektion hat zum Ziel, das Ausgangsmaterial zu sichten, Saatgut zu gewinnen und ungeeignete Linien mit negativen Eigenschaften vom weiteren Selektionsprozess auszuschließen. Dazu kommen vier wichtige Ausschlußkriterien zur Anwendung.

Ausschlusskriterien bei der Vorselektion:

- ① nicht als *H. perforatum* L. identifizierbar
- ② kein Rutin vorhanden (Inhaltsstoffprofil E oder F)
- ③ inhomogene Morphologie der Pflanzen innerhalb einer Herkunft
- ④ hohe Anfälligkeit für die Johanniskrautwelke *C. gloeosporioides*

① nicht als *H. perforatum* L. identifizierbar

Nach dem PH. EUR. (2005) ist nur *Hypericum perforatum* L. als Stammpflanze für HYPERICI HERBA zugelassen. Deshalb muss sichergestellt werden, dass die Herkünfte botanisch eindeutig als *Hypericum perforatum* L. identifizierbar sind. Welcher *H.-perforatum*-Subspezies eine Herkunft angehört, ist dabei unerheblich. Artbastarde mit anderen *Hypericum*-Spezies sind jedoch in der Regel auszusondern. Das natürliche Auftreten von Artbastarden aus *H. perforatum* L. und *H. maculatum* CR. wurde verschiedentlich beobachtet (MÁRTONFI et al. 1996a, SCHULTE et al. 1999). Diese zeigen jedoch nicht immer Merkmale, die eine Einordnung der Droge als HYPERICI HERBA ausschließen. Allerdings spricht bei zweifelhaften Herkünften das oftmals starke Auftreten von Mehltau (*Erysiphe hyperici* (WALLR.) S. BLUMER) für das Vorliegen eines Artbastards unter Beteiligung von *H. maculatum* (BRAUNEWELL 1991).

② kein Rutin vorhanden (Inhaltsstoffprofil E oder F)

Herkünfte, die kein Rutin enthalten – also Herkünfte mit den Inhaltsstoffprofilen E und F – müssen nach der derzeitigen Definition des Europäischen Arzneibuches (PH. EUR. 2005) von der weiteren Verwendung ausgeschlossen werden (vgl. IV 4.3.2). Die Erfassung der Inhaltsstoffprofile geschieht in diesem Stadium des Selektionsprozesses am besten mit Hilfe der Analyse von Blütenproben. Dabei können gleichzeitig Inhaltsstoffprofile mit interessanten Substanzen für weitergehende pharmakologische Untersuchungen ausgelesen werden.

③ inhomogene Morphologie der Pflanzen innerhalb einer Herkunft

Gleich welchen Ursprungs eine neue Herkunft ist, stellt sich die Frage, ob sie nach dem ersten Vermehrungsschritt über Samen phänotypisch homogen bleibt, sich also apomiktisch vermehrt. Ist das der Fall, kann die betreffende Herkunft als Klonsorte verwendet und im weiteren Selektionsprozess belassen werden. Zeigen die Einzelpflanzennachkommenschaften jedoch eine mehr oder weniger stark ausgeprägte phänotypische Variabilität, ist davon auszugehen, dass ein Wechsel von der apomiktischen zur sexuellen Fortpflanzungsweise stattgefunden hat. Deshalb sind diese Herkünfte nicht als Klonsorten geeignet. Für die züchterische Bearbeitung sind sie jedoch von großem Interesse, da sie als mütterliche Kreuzungspartner für apomiktische Linien dienen können (vgl. IV 5.1). Darüberhinaus ist es sinnvoll, in der Phase der Vorselektion Wildherkünfte und Selektionen aus Saatgutherkünften anhand morphologischer Merkmale miteinander zu vergleichen und identische Typen zu gruppieren. Mit Hilfe molekularer Marker können mehrfach vorhandene Genotypen zuverlässig identifiziert und gegebenenfalls aussortiert werden.

④ hohe Anfälligkeit für die Johanniskrautwelke (*C. gloeosporioides*)

Herkünfte die bereits im ersten Pflanzjahr eine hohe Anfälligkeit für *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides* erkennen lassen, sind in jedem Fall auszusortieren. Zusätzlich sind alle Linien zu verwerfen, die eine unzureichende Vitalität in Form von Wuchsdepressionen und fehlender Bestockung zeigen, oder in seltenen Fällen eine ungenügende Winterhärte aufweisen.

Phase 2 – Selektion I

Ziel des ersten Teils der Selektionsphase, die mindestens zwei Vegetationsperioden umfasst, ist es, Herkünfte zu selektieren, die sowohl gute agronomische als auch pharmakologische Eigenschaften auf sich vereinigen. Dazu wird am zweckmäßigsten ein Versuchsanbau im größeren Maßstab in Form einer Gitter- oder Blockanlage durchgeführt. Die Pflanzung erfolgt idealerweise Anfang Mai.

1. Standjahr

Das erste Standjahr entscheidet darüber, ob eine Selektion für den Frühjahrsanbau mit Ernte im ersten Sommer geeignet ist. Die Grundvoraussetzung dafür ist die Ausprägung einer vollwertigen Blüte und eine aufrechte Wuchsform. Daneben sind eine geringe Anfälligkeit für die Johanniskrautwelke, eine zügige und gute Bestockung und eine für die maschinelle Ernte ausreichende Bestandshöhe wichtig. Schließlich ist sicherzustellen, dass die gewonnene Droge bereits im ersten Jahr alle Anforderungen an ihre pharmakologische Qualität erfüllt. Soll die zu entwickelnde Sorte später im Herbst gepflanzt werden, ist im ersten Jahr besonders auf eine gute vegetative Entwicklung mit einer hohen Resistenz gegen *Colletotrichum cf. gloeosporioides* zu achten. Steht von den Herkünften nach der Vorselektion bereits ausreichend Saatgut zur Verfügung, ist im Idealfall ein Resistenztest an Jungpflanzen nach GÄRBER und SCHENK (2002c) durchzuführen.

2. Standjahr

Im zweiten Standjahr kommt eine Vielzahl von wichtigen Selektionskriterien zum tragen. Dazu gehören alle agronomischen Merkmale, die die technologische Eignung der Herkünfte betreffen, also die Pflanzenhöhe, die Triebzahl, die Standfestigkeit und die Ausprägung des Blühhorizontes. Außerdem ist die Feldresistenz gegen die Johanniskrautwelke in die Bewertung einzubeziehen. Desweiteren sind der Blühbeginn, der Drogenertrag und die Ausbildung einer zweiten Blüte von großer Bedeutung. In dieser Selektionsphase sind idealerweise von jeder Herkunft Drogenproben zu gewinnen und auf ihre Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen zu analysieren. Dabei sind bezüglich der Inhaltsstoffgehalte die Selektionskriterien einzuhalten, die in Tabelle 68 definiert wurden. Somit stehen am Ende des ersten Teils der Selektionsphase Herkünfte mit überdurchschnittlichen agronomischen und pharmakologischen Eigenschaften zur weiteren Untersuchung zur Verfügung.

3. Standjahr

In einem weiteren Standjahr kann zum einen die Konstanz der im zweiten Jahr erfassten Merkmale überprüft werden. Zum anderen zeigt sich anhand der Vitalität der Pflanzen und der Entwicklung des Befalls mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides*, inwieweit die Herkünfte für einen mehrjährigen und damit wirtschaftlichen Anbau geeignet sind. Es ist in jedem Fall sinnvoll, bereits parallel zum dritten Standjahr der ersten Selektionsphase die zweite Selektionsphase zu beginnen.

Phase 3 – Selektion II

Im zweiten Teil der Selektion wird ein Vergleichsanbau im größeren Maßstab durchgeführt. Er hat zum Ziel, verlässliche Daten zu gewinnen, die eine statistisch abgesicherte Aussage über das agronomische und pharmakologische Potential der untersuchten Herkünfte im Vergleich zu Standardsorten zulassen. Dazu sind pro Teilstück mindestens 50-60 Pflanzen (SCHUSTER und LOCHOW 1979) notwendig. Im Idealfall kann der Vergleichsanbau an mehreren Standorten stattfinden. Damit die Pflanzung besser mit den Verhältnissen in der Anbau-praxis vergleichbar ist, wird in dieser Phase der Selektion vorzugsweise im Spätsommer bzw. Herbst gepflanzt. Eine Frühjahrspflanzung ist nur dann sinnvoll, wenn die zu entwickelnde Sorte später bereits im Pflanzjahr einen verwertbaren Ertrag liefern soll.

Falls bisher ausschließlich aufgrund der Feldbeobachtungen auf Resistenz gegen *Colletotrichum cf. gloeosporioides* selektiert wurde, sind spätestens in dieser Phase Resistenztests an Jungpflanzen (GÄRBER und SCHENK 2002c) durchzuführen, um die bis dahin vorliegenden Ergebnisse zu verifizieren.

Bei der Bewertung agronomischer Merkmale steht aufgrund der größeren Parzellen jetzt weniger die Einzelpflanze als vielmehr die Entwicklung des Bestandes im Mittelpunkt. Dabei sind besonders jene Merkmale von großem Interesse, die eine leichte maschinelle Ernte des Blühhorizontes erlauben. Dazu zählen eine homogene vegetative Entwicklung, ein kompakter und ebener Blühhorizont sowie ein synchroner Blühbeginn des Bestandes. Die höhere Pflanzenanzahl pro Parzelle erlaubt dabei eine gute Erfassung des Ertragspotentials. In Verbindung mit den Daten aus der Inhaltsstoffanalyse der Droge kann außerdem der Inhaltsstoffgehalt der Herkünfte abgeschätzt und als Selektionskriterium herangezogen werden. Weiterhin ist es in dieser Phase des Selektionsprozesses sinnvoll, die rein analytische Bewertung der Drogen- und Extraktqualität durch die Beurteilung der pharmakologischen Wirksamkeit mit Hilfe von biochemischen Testsystemen zu ergänzen.

Die Phase 3 des Selektionsschemas kann unter der Voraussetzung, dass bereits in Phase 2 genügend Saatgut und Fläche zur Verfügung steht, um die erforderlichen Untersuchungen an einer genügend großen Pflanzenzahl durchzuführen, übersprungen werden. Abgesehen davon, dass diese Entscheidung eine Frage von vorhandenen Ressourcen ist, bietet der zweite Selektionsschritt (Phase 3) jedoch die Möglichkeit, die Sortenkandidaten intensiv zu bewerten. Hier ist es sinnvoll, detaillierte Untersuchungen zur Physiologie der Ertragsbildung und dabei besonders zur Inhaltsstoffentwicklung in der Droge und dem daraus resultierenden Zeitfenster für den idealen Erntetermin durchzuführen. Weiterhin bietet Phase 3 die Möglichkeit, attraktive Herkünfte, die in der Zwischenzeit in parallel laufenden Züchtungsprozessen selektiert wurden, mit in die Bewertung einzubeziehen. Außerdem ist zu bedenken, dass eine Kultur, die über mindestens zwei volle Vegetationsperioden gute Erträge liefern muss, um wirtschaftlich zu sein, einer sorgfältigen züchterischen Bewertung bedarf. Schließlich dient Phase 3 auch dazu, ausreichend Saatgut für die nächste Selektionsphase zu liefern.

Phase 4 – Leistungsprüfung

Vor der endgültigen Entscheidung, welche Herkünfte als Sorten in Verkehr gebracht werden sollen, ist eine Leistungsprüfung im feldmäßigen Anbau unter Praxisbedingungen unverzichtbar. Der Vergleichsanbau wird mit am Markt etablierten Sorten wie zum Beispiel 'Taubertal' und 'Topaz' an verschiedenen Standorten durchgeführt. Diese Phase der Selektion dient dazu, letzte Fragestellungen zur Anbauwürdigkeit der selektierten Herkünfte zu beantworten. Dabei ist von entscheidender Bedeutung, dass sich die neue Sorte auf unterschiedlichen für die Produktion von Johanniskrautdroge geeigneten Standorten mit ökonomischem Erfolg kultivieren lässt und Droge von hoher äußerer und innerer Qualität liefert (vgl. Tabelle 2). Gleichzeitig ist in dieser Phase ausreichend Saatgut für die Sortenanmeldung und die weitere Vermehrung bereitzustellen.

Da die Anzahl der untersuchten Herkünfte in dieser Phase bereits sehr stark eingegrenzt wurde, kann auch die aufwändigere Prüfung der pharmakologischen Wirksamkeit von Extrakten im Verhaltensmodell von Versuchstieren zur Selektion herangezogen werden.

Phase 5 – Sortenanmeldung

Der letzte Schritt zu einer neuen Johanniskrautsorte ist die Anmeldung zum Sortenschutz, der entweder auf nationaler oder europäischer Ebene beantragt werden kann. Voraussetzungen für die Registrierung einer neuen Sorte sind die Neuheit, die Unterscheidbarkeit von allen anderen bereits bekannten Sorten, die Uniformität innerhalb der Sorte und die Konstanz der Sorte über viele Vermehrungszyklen. Dies sind Anforderungen, die eine sorgfältig nach dem vorliegenden Selektionsschema ausgelesene Klonsorte von Johanniskraut erfüllt.

In der Folge ist für die Produktion von gesundem und keimfähigem Saatgut zu sorgen. Dabei ist zu beachten, dass die Sorte durch geeignete Maßnahmen der Erhaltungszüchtung rein gehalten wird; eine Aufgabe, die selbst bei hochgradig apomiktischen Stämmen einer konsequenten Durchführung bedarf (vgl. I 4.2).

Zusammenfassung

Durch die Anforderungen des Anbaus und die Qualitätsbestimmungen des Arzneimittelrechts ergeben sich Selektionskriterien, die qualitativer Natur sind und Mindestanforderungen darstellen. Diese sogenannten Ausschlußkriterien betreffen botanische, pharmakologische, genetische und agronomische Aspekte. Im Unterschied zu diesen lassen alle weiteren Selektionskriterien dem Züchter einen wesentlich größeren Spielraum für seine Entscheidungen auf dem Weg zum Zuchtziel, das bereits vor Beginn sorgfältig zu definieren ist.

Ein Ranking der einzelnen Selektionskriterien nach ihrer Wichtigkeit ist dabei weder notwendig noch sinnvoll. Selektion bedeutet immer einen Kompromiss zwischen vorhandener Variabilität und gewünschter Merkmalskombination. Eine entscheidende Rolle für den Selektionserfolg spielt die Anwendung der jeweiligen Kriterien zum richtigen Zeitpunkt (vgl. Tabelle 70). Zuerst sind die Ausschlusskriterien anzuwenden, bevor die Herkünfte in den

weiteren Selektionsprozess einfließen können. Danach müssen zahlreiche agronomische und pharmakologische Selektionskriterien berücksichtigt werden, die eher quantitativer Natur sind. Diese gilt es zu optimieren (z. B. die technologische Eignung) und maximieren (z. B. die pharmakologische Wirksamkeit), wobei es in der Natur der Sache liegt, dass bei einem Teil der Kriterien größere Kompromisse möglich sind als bei anderen.

Das vorgestellte Selektionsschema zeigt, dass für die Entwicklung einer neuen Johanniskrautsorte je nachdem, wie lange die Gewinnung geeigneten Ausgangsmaterials und das Auffinden bestimmter Merkmalskombinationen dauert, mit einem Zeitraum von etwa acht bis zwölf Jahren zu rechnen ist.

Tabelle 70: Vorschlag für ein Selektionsschema zur Züchtung von Johanniskraut

<i>Phase</i>	<i>agronomische Selektionskriterien</i>	<i>pharmakologische Selektionskriterien</i>
	Definition von Zuchtzielen	
Phase 0	morphologische Unterscheidungskriterien Screening für Resistenz gegen Welke	Hypericinbehälter auf den Petalen Screening von Blütenproben
Phase 1	morphologische Unterscheidungskriterien Ausschlusskriterien: botanisch nicht eindeutig <i>H. perforatum</i> L. phänotypische Homogenität Resistenz gegen <i>Coll. cf. gloeosporioides</i>	Inhaltsstoffgehalte von Blütenproben Ausschlusskriterien: Inhaltsstoffprofile E oder F (ohne Rutin)
Phase 2	1. Jahr: Wuchsform, Resistenz, Blüte im ersten Jahr, Beerntbarkeit 2. Jahr: Pflanzenhöhe, Triebzahl, Standfestigkeit, Resistenz, Blühbeginn, Blühhorizont, Ertrag, 2. Blüte	Inhaltsstoffgehalte von Blütenproben nach Tabelle 68 Inhaltsstoffgehalte von Drogenproben nach Tabelle 68
Phase 3	Konstanz der Merkmale Ertragsphysiologische Untersuchungen	Biochemische Testsysteme
Phase 4	Überprüfung im Feldanbau	weiterführende Tests z.B. im Verhaltensmodell mit Tieren
Phase 5	Sortenanmeldung Bereitstellung von Saatgut	

6. Bewertung ausgewählter Herkünfte

Da eine ausführliche Bewertung aller 139 untersuchten Sorten, Saatgutherkünfte, Selektionen und Wildherkünfte nicht sinnvoll ist, wird an dieser Stelle eine Auswahl der züchterisch relevanten Herkünfte vorgestellt und ihre agronomischen und pharmakologischen Merkmale bewertet. Dazu zählen zum einen alle untersuchten Sorten und Saatgutherkünfte. Letztere werden besonders bezüglich ihres Potentials zur Gewinnung von Ausgangsmaterial mit einer breiten morphologischen und genetischen Variabilität bewertet. Zum anderen wird eine Auswahl jener Selektionen und Wildherkünfte vorgestellt, die aufgrund ihrer Kombination guter agronomischer und pharmakologischer Merkmale für den weiteren Selektionsprozess von besonderem Interesse sind.

Sorten

- 'Taubertal' Die bewährte Sorte stellt den Standard im feldmäßigen Anbau von Johanniskraut und wird vorwiegend im Herbst gepflanzt. 'Taubertal' bildet eine mittlere Anzahl mittelhoher Triebe, die im Pflanzjahr eine schlechte Standfestigkeit zeigen. Im zweiten Standjahr ist die Standfestigkeit gut. Der lockere Blühhorizont mit den kleinen Blüten ist nicht besonders gut vom vegetativen Teil der Pflanzen abgegrenzt. Aufgrund der frühen Blüte ist in der Regel eine zweite Ernte möglich. Die Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* ist sehr gering. Die Droge besitzt eine gute pharmakologische Qualität, ein Gesamthypericingehalt von 0,25 % wird allerdings nur an wenigen Tagen der Blühperiode erreicht (vgl. Abbildung 62).
- 'Goldstern' Die noch neue Sorte 'Goldstern' erwies sich als hochgradig anfällig für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* und ist deshalb für die Produktion von Johanniskrautdroge nicht geeignet (vgl. III 1.1.1).
- 'Topaz' I + II Die beiden Saatgutpartien der Sorte 'Topaz' stellten sich als inhomogen heraus. Es war festzustellen, dass die technologische Eignung durch den sehr hohen Wuchs, die geringe Triebzahl und den ungleichmäßigen Blühhorizont eingeschränkt wird. Zudem ist die Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* etwas höher als die von 'Taubertal'. Die Sorte kommt erst spät zur Blüte, wobei der Blühbeginn der einzelnen Untertypen sehr stark variiert. Die mittelgroßen Blüten enthalten im Vergleich zu 'Taubertal' geringere Hypericin- und höhere Hyperforingehalte. Für den praktischen Anbau von Johanniskraut ist die Sorte 'Topaz' trotz einiger verbesserungsbedürftiger Merkmale von Bedeutung.
-

Saatgutherkünfte

- Austrosaat Diese Saatgutherkunft zeigt eine sehr hohe Variabilität und enthält Typen mit interessanten agronomischen und pharmakologischen Eigenschaften. So wurde beispielsweise AS-8 (siehe unten) aus Austrosaat selektiert.
- M. Bauer Aus der Herkunft M. Bauer wurden bereits 1998 ein schmalblättriger und ein breitblättriger Subtyp ausgelesen (Stamm B und S). Dabei unterscheidet sich nicht nur der Phänotyp der Pflanzen, sondern auch die Wirksamkeit ihrer Extrakte in biochemischen Testsystemen (Denke et al. 1999b). Die insgesamt hohe Diversität erlaubt die Selektion interessanter Genotypen.
- Stamm S Der aus M. Bauer selektierte Stamm S wies wenige, relativ ähnliche schmalblättrige Phänotypen auf, die der Unterart *H. perforatum* ssp. *angustifolium* (DC.) FROELICH zuzuordnen sind. Der wichtigste Vertreter dieses schmalblättrigen Typs ist SN-1 (siehe unten). Daneben trat eine Form mit deutlicher Rotfärbung der Stängel und Triebspitzen auf. Sie ist durch die Selektionen SR-1 und SR-2 vertreten, die jedoch im Versuchsanbau nicht überzeugten.
- Stamm B Deutlich variabler ist der Stamm B, aus dem die Selektionen BN-1, BN-2, AS-6, AS-7, AS-12, sowie die breitblättrigen Selektionen BB-1 und BB-2 hervorgingen, die jedoch kein Potential für die weitere Selektion zeigten.
- Nummer 429 Diese Herkunft war in den Versuchen durch die Einzelpflanzenselektionen AS-14 bis 20 vertreten, die keine Eignung für die Erzeugung qualitativ hochwertiger Droge zeigten. Die Selektionen AS-14, 19 und 20 waren darüber hinaus sehr anfällig für *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides*.
- Nummer 430 Diese Saatgutherkunft wurde in Form der Selektionen AS-21 bis 33 untersucht. Trotz zum Teil guter Merkmale konnten keine Linien mit einer überzeugenden Kombination sehr guter Eigenschaften ausgelesen werden. Bemerkenswert ist die biochemische Diversität. So weisen beispielsweise AS-31 und 33 kein Rutin auf, während AS-21, 22 und 25 sehr hohe Rutingehalte in der Droge erreichen.

Die Herkünfte HP-G und HP-J waren homogen und deshalb nicht als Fundstellen neuer genetischer Variabilität geeignet. Die agronomischen und pharmakologischen Eigenschaften der beiden Herkünfte ließen keinen besonderen Zuchtwert erkennen.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Saatgutherkünfte M. Bauer und Austrosaat angesichts ihrer hohen Variabilität und des gleichzeitigen Vorkommens interessanter Einzelpflanzen am besten für die Selektion von Genotypen mit positiven agronomischen und pharmakologischen Eigenschaften geeignet sind.

Selektionen

Da die 69 untersuchten Selektionen in erster Linie aufgrund ihrer phänotypischen Variabilität ausgewählt wurden, konnte Ausgangsmaterial mit einer sehr unterschiedlichen Anbaueignung und mit deutlichen Unterschieden bezüglich der Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen gewonnen werden. Im Folgenden werden zwei Selektionen mit interessanten agronomischen und pharmakologischen Eigenschaften vorgestellt.

SN-1 Die Selektion SN-1 zeigt aufgrund der hohen Triebzahl, des niedrigeren Wuchses und des klar abgegrenzten Blühhorizontes einen vollständig anderen Habitus als die Sorten 'Taubertal' und 'Topaz'. Es konnte eine geringe Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* festgestellt werden. Der Blühbeginn liegt etwa eine Woche nach 'Taubertal'. Die kleinen Blüten zeichnen sich durch einen deutlich höheren Gesamthypericin- und Hyperforingehalt als 'Taubertal' aus, bilden jedoch kein Rutin. Aus diesem Grund kann SN-1 zwar nicht als Sorte eingesetzt werden, ihre herausragenden agronomischen Eigenschaften machen die Selektion jedoch für die weitere züchterische Bearbeitung interessant. Die Selektion wurde als interner Standard eingesetzt und auch für den Anbauversuch unter Praxisbedingungen ausgewählt. Eine ausführliche Diskussion der positiven und negativen Eigenschaften von SN-1 befindet sich unter IV 1.3.

AS-8 Diese Selektion weist einen niedrigen Wuchs auf, bildet mittel bis viele Triebe und zeigt eine gute Standfestigkeit. Der Habitus ist mit SN-1 vergleichbar. Die Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* ist als gering bis sehr gering einzustufen. Bei Frühjahrspflanzung kommt AS-8 erst sehr spät zur Blüte und ist deshalb nur für den Überwinterungsanbau geeignet. Die sehr kleinen Blüten werden in einem gut abgegrenzten Blühhorizont gebildet. Bei den Inhaltsstoffen fällt auf, dass sowohl der Naphthodianthron- als auch der Phloroglucinderivatgehalt hoch sind.

Wildherkünfte

Die gesammelten Wildherkünfte zeichnen sich durch eine hohe Diversität sowohl zwischen als auch innerhalb der einzelnen Fundorte aus. Nachfolgend wird eine Auswahl jener Wildherkünfte vorgestellt, die in mindestens zwei Jahren ein hohes Potential für die Züchtung und eine gute Eignung für den feldmäßigen Anbau erwarten lassen.

H-2, 3, 4 Die drei Wildherkünfte stammen vom selben Naturstandort. Da sie in allen morphologischen und biochemischen Merkmalen sehr ähnlich sind, werden sie zusammengefasst. Sie bilden wenig Triebe, zeigen eine hohe Vitalität und entwickeln einen hohen Bestand. Der Habitus ist mit 'Topaz' vergleichbar.

Die Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* ist als gering bis sehr gering einzuordnen. Die Herkünfte blühen zwischen 'Taubertal' und SN-1 und damit deutlich früher als 'Topaz'. Die großen Blüten sitzen an einem locker aufgebauten Blütenstand. Der Blühhorizont ist jedoch gut vom vegetativen Bereich der Pflanzen abgegrenzt. Alle pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe weisen hohe Gehalte auf.

PM-1, 4, 8, 9, 15 Diese fünf Wildherkünfte stammen vom selben Standort und zeigen eine hohe morphologische und biochemische Übereinstimmung. Sie zeichnen sich durch sehr schmale Blätter aus und sind deshalb der Unterart *H. perforatum ssp. angustifolium* (DC.) FROELICH zuzuordnen. Die Herkünfte bilden eine mittlere Anzahl von Trieben und einen mittel hohen Bestand. Die Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* ist mit gering bis sehr gering zu bewerten. Aufgrund der unzureichenden Standfestigkeit im Pflanzjahr und der mittel bis späten Blüte empfiehlt sich der Überwinterungsanbau. Im zweiten Standjahr blühen die Herkünfte zusammen mit 'Taubertal'. Die kleinen Blüten bilden einen einheitlichen Blühhorizont. Die Gehalte der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe sind generell hoch, wobei besonders die Gehalte an freiem Quercetin auffallen. Am hohen Gesamthypericingehalt der Droge hat Hypericin einen relativ großen Anteil.

Außerdem werden jene Wildherkünfte vorgestellt, die in der Linienanlage nur in ihrem ersten Standjahr bewertet werden konnten und deren Inhaltsstoffanalysen auf Blütenproben basieren. Obwohl noch keine definitive Aussage über ihre Eignung als Sorte getroffen werden kann, lassen sie aufgrund ihrer interessanten Kombination positiver agronomischer und pharmakologischer Eigenschaften einen guten Zuchtwert erkennen.

FS-1 Die Herkunft bildet wenige, relativ hohe Triebe mit einer guten Standfestigkeit. Im Pflanzjahr waren keine Ausfälle durch Johanniskrautwelke zu verzeichnen. Der Blühbeginn liegt im ersten Jahr eine Woche vor 'Taubertal' und ist damit als sehr früh einzuordnen. Zudem ist der Blühhorizont mit seinen großen Blüten sehr gut vom vegetativen Bereich der Pflanzen abgegrenzt. Aufgrund dieser Eigenschaften von FS-1 ist eine gute Eignung für die Frühjahrspflanzung zu erwarten. In den Blüten liegt ein mittlerer Flavonoidgehalt vor. Der Gesamthypericingehalt ist hoch, der Hyperforingehalt hingegen eher gering.

FS-4 Im Unterschied zur Herkunft FS-1 bildet FS-4 zahlreiche Triebe, die einen mittelhohen Bestand bilden. Die Standfestigkeit und die Ausprägung des Blühhorizontes sind im ersten Jahr jedoch nur mittel einzustufen, weshalb sich der Überwinterungsanbau empfiehlt. Es waren keine Ausfälle durch Jo-

hanniskrautwelke zu beobachten. Die Blüte beginnt gleichzeitig mit 'Taubertal'. Die Blüten weisen gleich hohe Inhaltsstoffgehalte wie die Sorte auf, sind aber wesentlich größer.

- FS-5 Die wenigen Triebe dieser Wildherkunft erreichen eine mittlere Höhe und zeigen eine gute Standfestigkeit. Im ersten Jahr traten keine Infektionen mit *Colletotrichum cf. gloeosporioides* auf. Die Infloreszenzen mit ihren sehr großen Blüten bilden einen klar abgegrenzten Blühhorizont. Der Blühbeginn liegt zwischen 'Taubertal' und SN-1. Die Gehalte der pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffe in der Blüte sind im mittleren Bereich angesiedelt.
- NF-1 Die Wuchsform dieser Wildherkunft ist durch eine sehr geringe Anzahl kräftig entwickelter, hoher Triebe mit einer hohen Standfestigkeit gekennzeichnet. Es fielen keine Pflanzen aufgrund einer Infektion durch die Johanniskrautwelke aus. Die Blüte setzt gleichzeitig mit SN-1 ein, wobei die Ausprägung des Blühhorizontes eine gute Bewertung erreichte. Die sehr großen Blüten weisen etwas niedrigere Flavonoid- und Hyperforingehalte als die Sorte 'Taubertal' auf, die Hypericingehalte liegen gleich hoch. Die hervorragende Vitalität dieser Herkunft lässt einen hohen Flächenertrag erwarten.
- PF-4 PF-4 bildet eine geringe Anzahl hoher Triebe mit einer mittleren Standfestigkeit aus. Eine Anfälligkeit für *Colletotrichum cf. gloeosporioides* wurde nicht festgestellt. Der Blühbeginn liegt wenige Tage nach 'Taubertal', wobei der Blühhorizont im ersten Jahr ebenfalls leichte Defizite aufweist. Die Blüten sind groß und enthalten viel Rutin. Gleichzeitig liegen sehr hohe Gehalte an Gesamtflavonoiden, Naphthodianthronen und Phloroglucinderivaten vor und machen diese Wildherkunft besonders vielversprechend.
- PF-5 Die Herkunft PF-5 bildet eine geringe Anzahl von mittelhohen Trieben, die eine sehr gute Standfestigkeit zeigen. Allerdings war ein geringer Befall mit Johanniskrautwelke zu verzeichnen. Der im Vergleich zu 'Taubertal' um einige Tage frühere Blühbeginn und die sehr guten Eigenschaften des Blühhorizontes lassen auf eine gute Eignung für den Frühlingsanbau schließen. Die Inhaltsstoffgehalte der sehr großen Blüten liegen im mittleren Bereich, wobei die Hyperforingehalte der Blüten eher niedrig einzustufen sind.

Schließlich ist unter den acht Nachkommenschaften von phänotypischen Abweichlern aus dem Zweisatzgitter, die in der Linienanlage überprüft wurden (vgl. IV 1.4), eine Herkunft besonders hervorzuheben. Die Nachkommenschaft der Einzelpflanze H-2a, die aus der Wildherkunft H-2 selektiert wurde, zeichnet sich durch eine hohe Heterogenität aus. Somit eignet sich die Selektion zwar nicht für den feldmäßigen Anbau, ist aber aus züchterischer Sicht von besonderem Interesse (vgl. IV 5.1).

H-2a Es ist davon auszugehen, dass bei der Mutterpflanze H-2a ein Wechsel von der apomiktischen zur sexuellen Fortpflanzungsweise stattgefunden hat (vgl. I 4). Jede der sieben Einzelpflanzen repräsentiert einen selbständigen Phäno- bzw. Genotyp. Eine Pflanze entwickelte sich nur kümmerlich und starb noch vor der Blüte ab. Abbildung 78 zeigt die Variabilität in der Blütenmorphologie der verbleibenden sechs Einzelpflanzen, die einen vitalen Wuchs aufwiesen. Die Unterschiede in der Blütengröße, der Blütenform und in der Ausprägung der Hypericinbehälter auf den Petalen sind deutlich erkennbar.



Abbildung 78: Variabilität der Blütenmorphologie von 6 Pflanzen der Selektion H-2a

Zusammenfassend ist festzustellen, dass trotz einer hohen morphologischen und biochemischen Variabilität im untersuchten Ausgangsmaterial nur wenige Herkünfte die Anforderungen erfüllen, die an eine neue Johanniskrautsorte gestellt werden.

Die in der vorliegenden Arbeit vorgestellten agronomischen und pharmakologischen Selektionskriterien erlauben eine sorgfältige und praxisrelevante Auslese von Herkünften, die zur wirtschaftlichen Produktion von Johanniskrautdroge mit einer hohen pharmakologischen Qualität geeignet sind. Trotz des erfreulich guten Potentials der Wildherkünfte ist es für die künftige züchterische Entwicklung neuer Sorten unverzichtbar, die positiven Eigenschaften einzelner Linien miteinander kombinieren zu können. Durch die Identifizierung von Herkünften mit interessanten agronomischen und pharmakologischen Eigenschaften und das Auffinden einer Selektion mit offenbar sexueller Fortpflanzungsweise kann dieser Weg in Zukunft beschritten werden.

V Zusammenfassung

Zu Beginn der vorliegenden Arbeit wurden ausgehend vom Züchtungsbedarf und den Anforderungen an eine moderne Johanniskrautsorte (*Hypericum perforatum* L.) wichtige agronomische und pharmakologische Zuchtziele definiert. Da die apomiktische Fortpflanzungsweise der Arzneipflanze weitreichende Konsequenzen für die Züchtungsarbeit hat, werden Ansatzpunkte für die Entwicklung neuer Johanniskrautsorten aufgezeigt.

Insgesamt wurden 139 Sorten, Saatgutherkünfte, Selektionen und Wildsammlungen in Form von drei Versuchspflanzungen untersucht. Zusätzlich wurde eine Selektion im Feldanbau unter Praxisbedingungen getestet. Die Erfassung der agronomischen Merkmale zeigte eine hohe Variabilität des vorhandenen Ausgangsmaterials.

Die Probenaufbereitung, Extraktion und HPLC-Analytik wurde den Anforderungen der Züchtung entsprechend so optimiert, dass eine große Anzahl von Proben effizient und reproduzierbar auf ihre Gehalte an pharmakologisch relevanten Inhaltsstoffen untersucht werden kann. Dabei zeigten die Herkünfte nicht nur eine hohe Variabilität in den Inhaltsstoffkonzentrationen, sondern auch Besonderheiten im Inhaltsstoffprofil. Es wurden sechs Profile identifiziert, die sich im Bereich der Flavonoide im Vorhandensein von Rutin und drei unbekanntem Substanzen unterscheiden. Daneben konnte festgestellt werden, dass das herkunftsspezifische Verhältnis von Pseudohypericin zu Hypericin genetisch kontrolliert wird, während das Verhältnis von Hyperforin zu Adhyperforin stets annähernd konstant ist.

Wie die Untersuchungen zur Physiologie der Ertragsbildung zeigten, hängt die pharmakologische Qualität der Droge entscheidend vom Erntetermin ab. Daraus ergeben sich wesentliche Konsequenzen für den praktischen Anbau und die züchterische Bearbeitung von Johanniskraut. Die physiologischen Untersuchungen auf der Ebene einzelner Blüten bestätigten, dass sich die Analyse von Blütenproben als eigenständiges Instrument zur Beurteilung des pharmakologischen Potentials einer Herkunft eignet.

Im Zusammenhang mit der Entwicklung von Selektionskriterien wurde aufgezeigt, dass die morphologische Variabilität der Blätter, Blüten und Kapseln als Unterscheidungskriterien für den Selektionsprozess von Bedeutung sind. Desweiteren wurden agronomische Selektionskriterien erarbeitet, die sich auf die technologische Eignung für den Feldanbau, die Ertragsbildung und die Resistenz gegen *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides* beziehen. Schließlich wurden die Inhaltsstoffgruppen im Hinblick auf ihre pharmakologische Relevanz für die antidepressive Wirksamkeit des Extraktes diskutiert und basierend auf den Inhaltsstoffgehalten und -profilen der untersuchten Herkünfte pharmakologische Selektionskriterien entwickelt. Unter Berücksichtigung der Zuchtmethodik, die sich aus der apomiktischen Fortpflanzungsweise ergibt, wurde dann ein Selektionsschema entworfen. Abschließend wurden die Sorten und Saatgutherkünfte bewertet und jene Selektionen und Wildherkünfte vorgestellt, die aufgrund ihres agronomischen und pharmakologischen Potentials von besonderem züchterischen Interesse sind, darunter auch eine Selektion mit vermutlich sexueller Fortpflanzungsweise, die neue Perspektiven für die Entwicklung von Kreuzungsprogrammen eröffnet.

VI Summary

In modern phytotherapy, extracts of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) are widely used in the treatment of mild to moderate depressions. The highest amounts of pharmacologically relevant compounds are located in the flowers. In this study, the most important agronomic and pharmacological breeding objectives are first outlined by considering both the need for new and improved cultivars of St. John's Wort and the attributes required in a modern cultivar. Apomixis, as found in St. John's Wort, severely limits the breeding methods that can be used and some approaches and strategies for the development of new *Hypericum* cultivars are therefore discussed.

Altogether, 139 cultivars, seed accessions, selections and accessions collected from the wild sites were studied in three field experiments. In addition, a large-scale cultivation trial tested the performance under commercial conditions of one particular selection. Assessment of agronomic traits revealed great diversity within the collection.

Processing of samples, extraction procedures and HPLC-analysis were optimized in order to allow efficient and reliable determination of the contents of active components, thereby meeting the evaluation requirements specifically needed in breeding programs. Within the germplasm, there was high variability in the concentrations of pharmacologically active compounds. The flavonoid chromatographic profiles obtained allowed genotypes to be classified into six broad classes according to the presence or absence of rutin and three other unknown compounds. The relative amounts of pseudohypericin and hypericin was stable within one genotype but varied between accessions, whereas the ratio hyperforin : adhyperforin remained constant.

Yield experiments showed that the content of pharmacologically relevant compounds is affected greatly by harvest date. Furthermore, the relative amounts of flavonoids, naphthodianthrones and phloroglucinols change dramatically. This has significant consequences on both commercial drug production and the sampling procedures used for the evaluation of breeding lines. Analysis of active compounds in the flowers instead of in drug samples proved to be an independent and useful tool for identification of accessions exhibiting a high potential for biosynthesis of pharmacologically active components in their flowers.

Differences in the leaf, flower and capsule morphology can be used as distinguishing features during selection. Agronomic selection criteria including selection for high yields, suitability for commercial production and resistance to anthracnose (*Colletotrichum* cf. *gloeosporioides*) are described. The contribution of individual compounds to the antidepressant activity of *Hypericum* extracts is discussed using assessments of different accessions according to pharmacological selection criteria.

Taking into account the breeding limitations due to apomixis, a selection scheme facilitating the identification of high potential genotypes has been developed involving sequential use of agronomic and pharmacological selection criteria. Finally, the cultivars and seed accessions have been characterized and selections and wild accession of special interest owing to their high agronomic and pharmacological potential are described. One selection in particular, which putatively reproduces sexually, provides new and exciting possibilities for cross breeding programs in St. John's Wort.

VII Literaturverzeichnis

- ARNHOLDT-SCHMITT B (2000): RAPD analysis: a method to investigate aspects of the reproductive biology of *Hypericum perforatum* L. Theoretical and Applied Genetics 2000; 100: 906-911.
- BAUREITHEL KH, K BERGER BÜTER, A ENGESSER, W BURKARD UND W SCHAFFNER (1997): Inhibition of benzodiazepine binding in vitro by amentoflavone, a constituent of various species of *Hypericum*. Pharmaceutica Acta Helvetiae 1997; 72: 153-157.
- BECKER H (1993): Pflanzenzüchtung. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 1993.
- BERGER BÜTER K, E SCHRANER, W SCHAFFNER UND B BÜTER (1998): Genetic diversity within and among *Hypericum perforatum* populations collected in a geographically narrow and wide area. 46th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, Vienna, Austria 31.08.-04.09.1998: SL02.
- BHATTACHARYA SK, A CHAKRABARTI, AND SS CHATTERJEE (1998): Activity profiles of two hyperforin-containing *Hypericum* extracts in behavioral models. Pharmacopsychiatry 1998; 31 (Supplement 1): 22-29.
- BLUM H (1999): Welke – Hauptthema beim Workshop Johanniskraut in Ahrweiler. Gemüse 1999; 4: 253-254.
- BOMME U (1997): Produktionstechnologie für Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.). Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen 1997; 2: 127-134.
- BRAUNEWELL H (1991): Ökologische, ontogenetische und morphogenetische Einflüsse auf Ertrag und Inhaltsstoffgehalt von *Hypericum ssp.* (Johanniskraut). Dissertation, Fachbereich Agrarwissenschaften der Justus-Liebig-Universität, Gießen.
- BRUTOVSKÁ R, E ČELLÁROVÁ UND J DOLEŽEL (1998): Cytogenetic variability of in vitro regenerated *Hypericum perforatum* L. plants and their seed progenies. Plant Science 1998; 133: 221-229.
- BRUTOVSKÁ R, E ČELLÁROVÁ AND I SCHUBERT (2000): Cytogenetic characterization of three *Hypericum* species by in situ hybridization. Theoretical and Applied Genetics 2000; 101: 46-50.
-

- BUCHHOLZER ML, C DVORAK, SS CHATTERJEE, AND J KLEIN (2002): Dual modulation of striatal acetylcholin release by hyperforin, a constituent of St. John's Wort. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2002; 301 (2): 714-719.
- BÜTER B, C ORLACCHIO, A SOLDATI AND K BERGER (1998): Significance of genetic and environmental aspects in the field cultivation of *Hypericum perforatum*. *Planta Medica* 1998; 64: 431-437.
- BUNDESANZEIGER (2004), Nr. 228 vom 05.12.1984: Monographie der Kommission E. Bundesgesundheitsamt (BGA), Berlin, (Korrektur Nr. 43 vom 02.03.1989).
- BUNDESGESETZBLATT (2003), Teil I Nr. 64 vom 19.12.2003: Verordnung zur Änderung der Verordnung über apothekenpflichtige und freiverkäufliche Arzneimittel und zur Änderung der Verordnung über Standardzulassungen von Arzneimitteln. Bonn 2003.
- BUNDESSORTENAMT (HRSG.) (2002): Beschreibende Sortenliste Arznei- und Gewürzpflanzen. Deutscher Landwirtschaftsverlag, Hannover 2002: 71-79.
- BUNDESSORTENAMT (2005): URL: <http://www.bundessortenamt.de>, Stand 17.08.2005.
- BUTTERWECK V (1997): Beitrag zur Pharmakologie und Wirkstoff-Findung von *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). Dissertation, Fachbereich Chemie der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät an der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster.
- BUTTERWECK V UND A NAHRSTEDT (2003): Was ist bekannt über Johanniskraut – Phytochemie und Pharmakologie. *Pharmazie in unserer Zeit* 2003; 32 (3): 212-219.
- CAMPBELL MH UND ES DELFOSSE (1984): The biology of Australian weeds. 13. *Hypericum perforatum* L. *Journal of the Australian Institute for Agricultural Sciences* 1984; 50: 63-73.
- ČELLÁROVÁ E, Z DAXNEROVÁ, K KIMÁKOVÁ UND J HALUŠKOVÁ (1994): The variability of the hypericin content in the regenerants of *Hypericum perforatum*. *Acta Biotechnologica* 1994; 14 (3): 267-274.
- CHATTERJEE SS, M NÖLDNER, E KOCH, AND C ERDELMEIER (1998): Antidepressant activity of *Hypericum perforatum* and hyperforin: the neglected possibility. *Pharmacopsychiatry* 1998; 31 (Supplement 1): 7-15.
-

- CPVO (COMMUNITY PLANT VARIETY OFFICE) (2005): URL: <http://www.cpvo.eu.int>, Stand 17.08.2005.
- CZYGAN F (2003): Vom 2500 Jahre alten Apotropaikum zum aktuellen Antidepressivum – Kulturgeschichte und Mystik des Johanniskrauts. *Pharmazie in unserer Zeit* 2003; 32 (3): 184-190.
- DENKE A (1998): Kontrollierter Anbau von *Hypericum perforatum* und Untersuchung der methanolischen Extrakte als Grundlage für die Standardisierung auf das Gesamtwirkungsspektrum. Lincom Europa, München 1998.
- DENKE A, W SCHNEIDER, AND EF ELSTNER (1999a): Biochemical activities of extracts from *Hypericum perforatum* L. 2nd Communication: Inhibition of metenkephaline- and tyrosine-dimerization. *Arzneimittel-Forschung/ Drug Research* 1999; 49 (1): 109-114.
- DENKE A, H SCHEMP, E MANN, W SCHNEIDER, AND EF ELSTNER (1999b): Biochemical activities of extracts from *Hypericum perforatum* L. 4th Communication: Influence of different cultivation methods. *Arzneimittel-Forschung/ Drug Research* 1999; 49 (1): 120-125.
- DENKE A, H SCHEMP, D WEISER, AND EF ELSTNER (2000): Biochemical activities of extracts from *Hypericum perforatum* L. 5th Communication: Dopamine- β -hydroxylase-product quantification by HPLC and inhibition by hypericins and flavonoids. *Arzneimittel-Forschung/ Drug Research* 2000; 50 (1): 415-419.
- DRESSELHAUS T (2000): Mendel, apomixis and plant breeding. *Vorträge zur Pflanzenzüchtung* 2000; 48: 207-216.
- ELLGEHAUSEN K, W SCHAFFNER, K BERGER BÜTER (1998): Isolierung, Kultivierung und Regenerierung aus Protoplasten oberer Sproßabschnitte von *Hypericum perforatum* L. *Vorträge zur Pflanzenzüchtung* 1998; 42: 184-186.
- ERDELMEIER CAJ (1998): Hyperforin, possibly the major non-nitrogenous secondary metabolite of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry* 1998; 31 (Supplement 1): 2-6.
- ERNST E, JI RAND, J BARNES, AND C STEVINSON (1998): Adverse effects profile of the herbal antidepressant St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *European Journal of Clinical Pharmacology* 1998; 54: 589-594.
-

- FAH (FORSCHUNGSVEREINIGUNG DER ARZNEIMITTELHERSTELLER E.V.) (1998): Johanniskraut: Anbauempfehlungen und Qualitätsanforderungen. Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen 1998; 3: 45-49.
- FORKMANN G AND W HELLER (1999): Biosynthesis of flavonoids. In: Comprehensive natural products chemistry. Edited by Sankawa U.; Elsevier, Amsterdam 1999; 713-748.
- FOX E, RF MURPHY, CF MCCULLY, AND PC ADAMSON (2001): Plasma pharmacokinetics and cerebrospinal fluid penetration of hypericin in nonhuman primates. Cancer Chemotherapy and Pharmacology 2001; 47: 41-44.
- FRANKE R, R SCHENK, AND U BAUERMANN (1999): Variability in *Hypericum perforatum* L. breeding lines. Acta Horticulturae 1999; 502: 167-173.
- GAEDCKE F (1997): Herstellung, Qualität, Analytik und Anwendung von Johanniskraut-Extrakten. Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen 1997; 2: 63-72.
- GAEDCKE F (2003): Beispiel: Johanniskraut – Herstell- und Qualitätsaspekte pflanzlicher Extrakte. Pharmazie in unserer Zeit 2003; 32 (3): 192-201.
- GÄRBER U (1999): Erste Ergebnisse von Untersuchungen zur Johanniskrautwelke. Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen 1999; 4: 181-186.
- GÄRBER U UND R SCHENK (2002a): *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides* an Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) 1. Teil: Untersuchungen zur Biologie und Epidemiologie. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 2002; 54 (1): 13-19.
- GÄRBER U UND R SCHENK (2002b): *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides* an Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) 2. Teil: Untersuchungen zu den Übertragungswegen des Erregers. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 2002; 54 (3): 63-68.
- GÄRBER U UND R SCHENK (2002c): *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides* an Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) 3. Teil: Erarbeitung einer Resistenzprüfmethode. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 2002; 54 (4): 81-85.
- GÄRBER U UND R SCHENK (2003): Johanniskrautwelke, *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides*, Ergebnisse mehrjähriger Forschungsarbeiten im Überblick. Drogenreport 2003; 16 (30): 23-28.
-

- GREESON JM, B SANFORD, AND DA MONTI (2001): St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology* 2001; 153: 402-414.
- HALUŠKOVÁ J AND E ČELLÁROVÁ (1997): RFLP analysis of *Hypericum perforatum* L. somaclones and their seed progenies. *Euphytica* 1997; 95: 229-235.
- HANNA WW AND EC BASHAW (1987): Apomixis: Its identification and use in plant breeding. *Crop Science* 1987; 27: 1136-1139.
- HANNIG HJ (1995): Forderungen der Heil- und Gewürzpflanzen verarbeitenden Industrie an Züchtungsforschung und Züchtung. *Drogenreport* 1995; 12: 44-46.
- HANNIG HJ, A PLESCHER UND G VOLLRATH (1995): Erfahrungen beim großflächigen Anbau von Johanniskraut - Anforderungen an die industrielle Verwertung. *Herba Germanica* 1995; 3: 96-103.
- HARRER G, TR PAYK UND V SCHULZ (1993): *Hypericum* als pflanzliches Antidepressivum. *Nervenheilkunde* 1993; 12: 268-366.
- HÖLZL J UND E OSTROWSKI (1987): Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) HPLC-Analyse der wichtigen Inhaltsstoffe und deren Variabilität in einer Population. *Deutsche Apotheker Zeitung* 1987; 3: 1227-1230.
- HUNT EJ, CE LESTER, EA LESTER, AND RL TACKETT (2001): Effect of St. John's Wort on free radical production. *Life Sciences* 2001; 69: 181-190.
- JENSEN AG, SH HANSEN, AND EØ NIELSEN (2001): Adhyperforin as a contributor to the effect of *Hypericum perforatum* L. in biochemical models of antidepressant activity. *Life Sciences* 2001; 68: 1593-1605.
- JOHNE A, G AROLD, S BAUER, S KRUSEKOPF, I MAI UND I ROOTS (2003): Interaktionen zwischen Phytopharmaka und anderen Arzneimitteln – Das Beispiel Johanniskraut. *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* 2003; 46: 1061-1067.
- JÜRGENLIEMK G UND A NAHRSTEDT (2002): Phenolic compounds from *Hypericum perforatum*. *Planta Medica* 2002; 68: 88-91.
-

- KÄSTNER U, P SCHOLZE UND F PANK (2004): Fortschritte bei der Entwicklung von welke-resistentem (*Colletotrichum cf. gloeosporioides*) Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.). Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen 2004; 3: 118-123.
- KAUL R (2000): Johanniskraut: Botanik, Inhaltsstoffe, Qualitätskontrolle, Pharmakologie, Toxikologie und Klinik. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 2000.
- KLEBER E, T OBRY, S HIPPELI, W SCHNEIDER, AND EF ELSTNER (1999): Biochemical activities of extracts from *Hypericum perforatum* L. 1st Communication: Inhibition of dopamine- β -hydroxylase. Arzneimittel-Forschung/ Drug Research 1999; 49 (1): 106-109.
- KOLTUNOW AM (1994): 23. Apomixis - other pathways for reproductive development in angiosperms. In: Williams EG, AE Clarke, and RB Knox (Hrsg.): Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Boston, London 1994; 486-512.
- KOMOROSKI BJ, S ZHANG, H CAI, JM HUTZLER, R FRYE, TS TRACY, SC STROM, T LEHMANN, CYW ANG, YY CUI, AND R VENKATARAMANAN (2004): Induction and inhibition of cytochromes P450 by the St. John's Wort constituent hyperforin in human hepatocyte cultures. Drug Metabolism and Disposition 2004; 32 (5): 512-518.
- KUCKUCK H, G KOBABE UND G WENZEL (1985): Grundzüge der Pflanzenzüchtung. 5. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin 1985.
- LINDE K, M BERNER, M EGGER, AND C MULROW (2005): St. John's wort for depression – Meta-analysis of randomised controlled trials. British Journal of Psychiatry 2005; 186: 99-107.
- MANN E (1998): Unterscheidung breitblättriger und schmalblättriger Phänotypen von *Hypericum perforatum* L. mit Hilfe verschiedener biochemischer Modellreaktionen. Diplomarbeit, Lehrstuhl für Phytopathologie der Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau an der Technischen Universität München.
- MANN E (2003): Selektion von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) anhand biochemischer Testsysteme. Dissertation, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt an der Technischen Universität München.
-

- MÁRTONFI P AND M REPČÁK (1994): Secondary metabolites during flower ontogenesis of *Hypericum perforatum* L. *Zahradnictví* 1994; 21 (1): 37-44.
- MÁRTONFI P, M REPČÁK AND L MIHOKOVÁ (1996a): *Hypericum maculatum* Crantz subsp. *maculatum* × *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): Corroboration of natural hybridization by secondary metabolite analysis. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*. 1996; 31: 245-250.
- MÁRTONFI P, R BRUTOVSKÁ, E ČELLÁROVÁ AND M REPČÁK (1996b): Apomixis and hybridity in *Hypericum perforatum*. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*. 1996; 31: 389-396.
- MÁRTONFI P, M REPČÁK, D CICCARELLI UND F GARBARI (2001): *Hypericum perforatum* L. – chemotype without rutin from Italy. *Biochemical Systematics and Ecology* 2001; 29: 659-661.
- MATZK F, A MEISTER, R BRUTOVSKÁ AND I SCHUBERT (2001): Reconstruction of reproductive diversity in *Hypericum perforatum* L. opens novel strategies to manage apomixis. *The Plant Journal* 2001; 26 (3): 275-282.
- MORDUE JEM (1971): Description No. 315 *Glomerella cingulata*. In: Commonwealth Mycological Institute (Hrsg.): C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. The Eastern Press Ltd., London and Reading, Great Britain 1971.
- MÜLLER WE, A SINGER, M WONNEMANN, U HAFNER, M ROLLI, AND C SCHÄFER (1998): Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of *Hypericum* extract. *Pharmacopsychiatry* 1998; 31 (Supplement 1): 16-21.
- NEBELMEIR J (2000): Strategien zur züchterischen Bearbeitung von Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.). Diplomarbeit, Lehrstuhl für Zierpflanzenbau, Fachgebiet gartenbauliche Pflanzenzüchtung der Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau an der TU München-Weihenstephan.
- NOACK KL (1939): Über *Hypericum*-Kreuzungen: VI. Fortpflanzungsverhältnisse und Bastarde von *Hypericum perforatum* L. *Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre* 1939; 76: 569-601.
- NÖLDNER M UND K SCHÖTZ (2002): Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. *Planta Medica* 2002; 68: 577-580.
-

- ODENBACH W (HRSG.) (1997): Biologische Grundlagen der Pflanzenzüchtung. Parey Buchverlag im Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin 1997.
- PANK F, F MATZK, U KÄSTNER, WD BLÜTHNER, E FOLTYS DE GARCIA, A MEISTER, U RYSCHKA, AND G SCHUMANN (2003): Reproductive diversity and strategies for breeding in St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *Euphytica* 2003; 134 (1): 77-84.
- PHARMACOPOEIA EUROPAEA (PH. EUR.) (2005): Monographie Nr. 1438: Johanniskraut (HYPERICI HERBA). Grundwerk 2005, Amtliche deutsche 5. Ausgabe. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart.
- PLESCHER A, H POHL, A VETTER UND U FRÖTSCH (1995): Übergang von Schwermetallen aus dem Boden in Arznei- und Gewürzpflanzen. *Herba Germanica* 1995; 3: 116-125.
- PLOSS O (2000): Proanthocyanidine aus dem Kraut von *Hypericum perforatum* L. Dissertation, Fachbereich Chemie und Pharmazie der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät an der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster.
- POUTARAUD A AND P GIRARDIN (2004): Agronomic and chemical characterization of 39 *Hypericum perforatum* accessions between 1998 and 2000. *Plant Breeding*, 2004; 123: 480-484.
- PRECHT M (1982): Bio-Statistik Teil 1: Eine Einführung für Studierende der biologischen Wissenschaften. 3. Auflage, R. Oldenbourg Verlag, München, Wien 1982.
- REPČÁK M AND P MÁRTONFI (1997): The localization of secondary substances in *Hypericum perforatum* flower. *Biologia*, Bratislava 1997; 52 (1): 91-94.
- RICE-EVANS C AND J SPENCER (2000): Bioavailability and uptake of flavonoids. *Polyphenols Communications 2000*, Freising-Weihenstephan, 11. - 15. September 2000: 283-285.
- ROTH L (1990): *Hypericum - Hypericin: Botanik, Inhaltsstoffe, Wirkung*. Ecomed Verlagsgesellschaft mbH, Landsberg/Lech 1990.
- SCHADWINKEL U, D BLANKENBURG, R SCHMATZ, O MALARSKI UND W DERCKES (2000): Bekämpfung von *Colletotrichum gloeosporioides* in Johanniskraut: Ergebnisse aus dem Jahr 1999. 37. Gartenbauwissenschaftliche Tagung, BDGL-Tagungsband 18/2000: 95.
-

- SCHEMPP CM, K PELZ, A WITTMER, E SCHÖPF, AND JC SIMON (1999a): Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram-positive bacteria. *The Lancet* 1999; 353: 2129.
- SCHEMPP CM, B WINGHOFER, M LANGHEINRICH, E SCHÖPF, AND JC SIMON (1999b): Hypericin levels in human serum and interstitial skin blister fluid after oral single-dose and steady-state administration of *Hypericum perforatum* extract (St. John's wort). *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology* 1999; 12: 299-304.
- SCHEMPP H, A DENKE, E MANN, W SCHNEIDER, AND EF ELSTNER (1999): Biochemical activities of extracts from *Hypericum perforatum* L. 3rd Communication: Modulation of peroxidase activity as a simple method for standardization. *Arzneimittel-Forschung/ Drug Research* 1999; 49 (1): 115-119.
- SCHENK R UND U GÄRBER (2002): *Colletotrichum cf. gloeosporioides* an Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) 4. Teil: Resistenzprüfung von Johanniskrautsorten und -stämmen. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 2002; 54 (4): 86-91.
- SCHMIDT M (2002): Johanniskrautextrakt: Wirksamkeit und Verträglichkeit bei leichten bis mittelschweren Depressionen. *Drogenreport* 2002; 28: 20-25.
- SCHMIDT PC (2003): Formulierung von Johanniskrautextrakten – Galenisches Hindernisrennen. *Pharmazie in unserer Zeit* 2003; 32 (3): 203-211.
- SCHNEIDER M UND R MARQUARD (1996): Aufnahme und Akkumulation von Cadmium und weiterer Schwermetalle bei *Hypericum perforatum* L. und *Linum usitatissimum* L. *Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen* 1996; 1: 111-116.
- SCHULTE J, B BÜTER, W SCHAFFNER UND K BERGER (1996): Gametic embryogenesis in *Hypericum ssp.* International Symposium Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants 30. 6. - 4. 7. 1996, Quedlinburg: 307-310.
- SCHULTE J, W SCHAFFNER, B BÜTER UND K BERGER BÜTER (1999): Kreuzungsexperimente mit verschiedenen Arten der Gattung *Hypericum*. *Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen* 1999; 4: 126-133.
- SCHULZ V (2003): Johanniskraut als pflanzliches Antidepressivum. *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* 2003; 46: 1055-1060.
-

- SCHUSTER WH, J VON LOCHOW (1979): Anlage und Auswertung von Feldversuchen. 2. Auflage, DLG-Verlags-GmbH, Frankfurt/Main 1979.
- SHELTON RC, MB KELLER, A GELENBERG ET AL. (2001): Effectiveness of St. John's Wort in major depression. *Journal of the American Medical Association* 2001; 285 (15): 1978-1986.
- SINGER A, M WONNEMANN, AND WE MÜLLER (1999): Hyperforin, a major antidepressant constituent of St. John's Wort, inhibits serotonin uptake by elevating free intracellular Na⁺. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1999; 290 (3): 1363-1368.
- SOUTHWELL IA AND MH CAMPBELL (1991): Hypericin content variation in *Hypericum perforatum* in Australia. *Phytochemistry* 1991; 30: 475-478.
- SOUTHWELL IA AND CA BOURKE (2001): Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort). *Phytochemistry* 2001; 56: 437-441.
- SPARENBERG B (1993): MAO-inhibierende Eigenschaften von Hypericuminhaltsstoffen und Untersuchungen zur Analytik und Isolierung von Xanthonen aus *Hypericum perforatum* L. Dissertation, Fachbereich Pharmazie und Lebensmittelchemie der Philipps-Universität, Marburg/Lahn.
- STECK N, M MESSMER, W SCHAFFNER UND K BERGER-BÜTER (2001): Molecular markers as a tool to verify sexual and apomictic off-spring of intraspecific crosses in *Hypericum perforatum* L. *Planta Medica* 2001; 67: 384-385.
- STOSKOPF NC, DT TOMES, AND BR CHRISTIE (1993): Plant breeding: theory and practice. Westview Press, Boulder, San Francisco, Oxford 1993.
- TEKEL'OVÁ D, M REPČÁK, E ZEMKOVÁ, AND J TÓTH (2000): Quantitative changes of dianthrones, hyperforin and flavonoids content in the flower ontogenesis of *Hypericum perforatum*. *Planta Medica* 2000; 66: 778-780.
- VEROTTA L, G APPENDINO, J JAKUPOVIC, AND E BOMBARDELLI (2000): Hyperforin analogues from St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Journal of Natural Products* 2000; 63: 412-415.
-

-
- WALKER LW (2004): A review of the hypothetical biogenesis and regulation of hypericin synthesis via the polyketide pathway in *Hypericum perforatum* and experimental methods proposed to evaluate the hypothesis. Portland State University, USA 1999-2004. URL: <http://www.spidersays.net/pages/HYPE/>, Stand 28.08.2004.
- WICHTL M (HRSG.) (1997): Teedrogen und Phytopharmaka. 3. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1997.
- WIRZ A, U SIMMEN, J HEILMANN, I ÇALIS, B MEIER, AND O STICHER (2000): Bisanthraquinone glycosides of *Hypericum perforatum* with binding inhibition to CRH-1 receptors. *Phytochemistry* 2000; 55: 941-947.
-

VIII Anhang

1. Informationen zum Pflanzenmaterial

In den folgenden Tabellen sind die Daten der verwendeten Sorten, Saatgutherkünfte, Selektionen und Wildsammlungen in alphabetischer Reihenfolge zusammengestellt. Die drei letzten Spalten geben an, ob die jeweilige Herkunft in der Blockanlage (BA), im Zweisatzgitter (ZG) bzw. in der Linienanlage (LA) aufgepflanzt wurde.

Tabelle 71: Sorten und Saatgutherkünfte

<i>Sorten</i>	<i>Bezugsquelle</i>	<i>BA</i>	<i>ZG</i>	<i>LA</i>
'Goldstern'	Rieger & Hoffmann GmbH, Blaufelden-Raboldshausen	✓		
'Taubertal'	Rieger & Hoffmann GmbH, Blaufelden-Raboldshausen	✓	✓	✓
'Topaz' I	Carl Sperling & Co, Lüneburg	✓		
'Topaz' II	Pharmasaat GmbH, Artern	✓		
<i>Saatgutherkünfte</i>				
Austro Saat	Austro Saat AG, Wien/A (über Saatguteinzelhandel)			✓
HP-G	Genbank Gatersleben			✓
HP-J	Botanischer Garten Jena			✓
M. Bauer	Martin Bauer, Vestenbergsgreuth	✓		
Nummer 429	Carl Sperling & Co, Lüneburg			
Nummer 430	Carl Sperling & Co, Lüneburg			
Stamm B	Selektion (breitblättrig) aus M. Bauer, MANN 1998	✓		
Stamm S	Selektion (schmalblättrig) aus M. Bauer, MANN 1998			

Tabelle 72: Selektionen aus Arbeiten von MANN (em) und NEBELMEIR (jn)

<i>Bezeichnung</i>	<i>Ursprung</i>	<i>Jahr</i>	<i>Kommentar</i>	<i>BA</i>	<i>ZG</i>	<i>LA</i>
AS-1	M. Bauer	2000	em		✓	
AS-2	M. Bauer	2000	em		✓	✓
AS-3	M. Bauer	2000	em		✓	
AS-4	Topaz II	2000	em		✓	
AS-6	Stamm B	2000	em		✓	
AS-6a	AS-6	2001	jn			✓
AS-6b	AS-6	2001	jn			✓
AS-7	Stamm B	2000	em		✓	
AS-8	Austro Saat	2000	em		✓	✓
AS-8a	AS-8	2001	jn			✓
AS-8b	AS-8	2001	jn			✓
AS-9	Austro Saat	2000	em		✓	
AS-10	M. Bauer	2000	em		✓	

<i>Bezeichnung</i>	<i>Ursprung</i>	<i>Jahr</i>	<i>Kommentar</i>	<i>BA</i>	<i>ZG</i>	<i>LA</i>
AS-10a	AS-10	2001	jn			✓
AS-11	M. Bauer	2000	em		✓	
AS-12	Stamm B	2000	em		✓	
AS-14	Nummer 430	2000	em		✓	
AS-15	Nummer 430	2000	em		✓	
AS-16	Nummer 430	2000	em		✓	
AS-18	Nummer 430	2000	em		✓	
AS-19	Nummer 430	2000	em		✓	
AS-20	Nummer 430	2000	em		✓	
AS-21	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-22	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-23	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-24	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-25	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-28	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-29	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-30	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-31	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-32	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-33	Nummer 429	2000	em		✓	
AS-L	M. Bauer	2001	em			✓
AS-M	M. Bauer	2001	em			✓
AS-N	M. Bauer	2001	em			✓
AS-O	M. Bauer	2001	em			✓
BB-1	Stamm B	1999	jn	✓		
BB-2	Stamm B	1999	jn	✓		
BN-1	Stamm B	1999	jn	✓		
BN-2	Stamm B	1999	jn	✓		
GZ-1	Austro Saat	2001	em			✓
GZ-4	Austro Saat	2001	em			✓
GZ-6	Austro Saat	2001	em			✓
GZ-8	Austro Saat	2001	em			✓
GZ-9	Austro Saat	2001	em			✓
GZ-10	Austro Saat	2001	em			✓
H-2a	H-2	2001	jn			✓
MB-AS	M. Bauer	2001	jn			✓
MB-B	M. Bauer	2001	jn			✓
MB-CS	M. Bauer	2001	jn			✓
MB-DS	M. Bauer	2001	jn			✓

<i>Bezeichnung</i>	<i>Ursprung</i>	<i>Jahr</i>	<i>Kommentar</i>	<i>BA</i>	<i>ZG</i>	<i>LA</i>
MB-F	M. Bauer	2001	jn			✓
MB-G	M. Bauer	2001	jn			✓
MB-H	M. Bauer	2001	jn			✓
PM-15a	PM-15	2001	jn			✓
PM-17a	PM-17	2001	jn			✓
SN-1	Stamm S	1999	jn	✓	✓	✓
SR-1	Stamm S	1999	jn	✓		
SR-2	Stamm S	1999	jn	✓		
SN-W	M. Bauer	2000	em			✓
TT-1	'Taubertal'	1999	jn	✓		
TT-2	'Taubertal'	1999	jn	✓		
TT-3	'Taubertal'	1999	jn	✓		
TT-4	'Taubertal'	1999	jn	✓		
TT-5	'Taubertal'	1999	jn	✓		
TT-6	'Taubertal'	1999	jn	✓		
TT-7	'Taubertal'	1999	jn	✓		
TT-8	'Taubertal'	1999	jn	✓		

Tabelle 73: Sammlung von Wildherkünften

<i>Bezeichnung</i>	<i>Fundort</i>	<i>Landkreis</i>	<i>Datum</i>	<i>BA</i>	<i>ZG</i>	<i>LA</i>
BT-1	Garten	BT	30.07.00		✓	
BT-2	Garten	BT	30.07.00		✓	
FS-1	Ruderalfläche	FS	2001			✓
FS-2	Ruderalfläche	FS	2001			✓
FS-3	Ruderalfläche	FS	2001			✓
FS-4	Ruderalfläche	FS	2001			✓
FS-5	Ruderalfläche	FS	2001			✓
FS-6	Ruderalfläche	FS	2001			✓
H-2	Straßenrand	FFB	17.06.99	✓	✓	
H-3	Straßenrand	FFB	18.06.99	✓	✓	
H-4	Straßenrand	FFB	18.06.99	✓	✓	
KA-2	Ruderalfläche	LL	18.10.00		✓	
KA-3	Ruderalfläche	LL	18.10.00		✓	
KA-4	Ruderalfläche	LL	18.10.00		✓	
KA-5	Ruderalfläche	LL	18.10.00		✓	
KA-6	Ruderalfläche	LL	18.10.00		✓	
KA-7	Ruderalfläche	LL	18.10.00		✓	
M-1	Wiese	BGL	26.07.99	✓		
M-3	Wiese	BGL	26.07.99	✓		

<i>Bezeichnung</i>	<i>Fundort</i>	<i>Landkreis</i>	<i>Datum</i>	<i>BA</i>	<i>ZG</i>	<i>LA</i>
NA-6	Straßenrand	FS	13.07.00		✓	
NA-8	Straßenrand	FS	13.07.00		✓	
NF-1	Parkplatz	FS	2001			✓
P-1	Garten	DAH	23.08.99	✓	✓	
P-2	Garten	DAH	23.08.99	✓	✓	
PF-1	Straßenrand	PF	2001			✓
PF-2	Straßenrand	PF	2001			✓
PF-3	Straßenrand	PF	2001			✓
PF-4	Straßenrand	PF	2001			✓
PF-5	Straßenrand	PF	2001			✓
PM-1	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-2	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-3	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-4	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-6	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-8	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	✓
PM-9	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-10	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	✓
PM-11	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-12	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-13	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-14	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-15	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-16	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-17	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-18	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-19	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-20	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-21	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
PM-22	Kiesgrube	FFB	27.07.00		✓	
UN-1	Wiese	FFB	27.07.00		✓	
UN-3	Wiese	FFB	27.07.00		✓	
UN-4	Wiese	FFB	27.07.00		✓	
UP-1	Straßenrand	FFB	27.07.00		✓	
UP-2	Straßenrand	FFB	27.07.00		✓	
US-1	Sandgrube	FFB	27.07.00		✓	
US-2	Sandgrube	FFB	27.07.00		✓	
US-4	Sandgrube	FFB	27.07.00		✓	
WE-1	Ruderalfläche	FS	30.11.00		✓	

2. Bodenuntersuchungen

Für die Bodenuntersuchungen wurde eine Schicht von 30 cm Tiefe beprobt. Die Proben wurden sofort nach der Entnahme gekühlt und zur Analyse geschickt. Die Untersuchungen wurden von der Bayerischen Hauptversuchsanstalt für Landwirtschaft der TU München in Freising-Weißenstephan durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 74 zusammengestellt.

Tabelle 74: Ergebnisse der Bodenuntersuchungen

<i>Versuchsfeld</i>	<i>Blockanlage</i>		<i>Zweisatzgitter</i>		<i>Linienanlage</i>
	<i>Datum</i>	26.04.01	04.04.02	26.04.01	04.04.02
<i>Bodenart</i>	uL	uL	uL	uL	uL
<i>pH CaCl₂</i>	6,8	6,9	6,8	7,0	7,1
<i>Kalkbedarf dt/ha</i>	0	0	0	0	0
<i>Kalkzustand</i>	hoch	hoch	hoch	hoch	hoch
<i>P₂O₅-CAL mg/100 g</i>	24	21	25	23	25
<i>Auswertung</i>	hoch	hoch	hoch	hoch	hoch
<i>K₂O-CAL mg/100 g</i>	20	20	21	21	32
<i>Auswertung</i>	optimal	optimal	hoch	hoch	sehr hoch
<i>Mg-CAL mg/100 g</i>	-	14	-	15	16
<i>Auswertung</i>	-	optimal	-	optimal	optimal
<i>Ges.- (N) % TS</i>	0,12	0,13	0,12	0,13	0,14
<i>NH₄⁺-N CaCl₂ mg/100 g</i>	0,03	0,01	0,03	0,01	0,03
<i>NO₃⁻-N CaCl₂ mg/100 g</i>	0,18	0,21	0,36	0,27	0,40

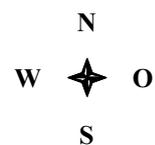
3. Pflanzpläne der Feldversuche

3.1 Blockanlage

Tabelle 75 zeigt den Pflanzplan für die im Jahr 2000 gepflanzte Blockanlage in geordneter Darstellung. Jede Zeile repräsentiert eine Parzelle zu 2 Reihen mit 7 Pflanzen inklusive 2 Randpflanzen. Die Wege befinden sich jeweils zwischen den Blöcken und haben eine Breite von 1,20 m.

Tabelle 75: Pflanzplan Blockanlage

<i>Block IV</i>	<i>Block III</i>	<i>Block II</i>	<i>Block I</i>
Randreihe	Randreihe	Randreihe	Randreihe
H-3 H-4	TT-1	P-1	'Topaz' I 'Topaz' II
TT-5	TT-3	TT-8	BN-1
TT-4	SR-1	M-3	BN-2
P-2 H-2	TT-6 TT-7	'Taubertal'	BB-1
M-1	SR-2	Stamm B	BB-2
TT-2	M. Bauer	'Goldstern'	SN-1
M-3	TT-8	TT-5	SR-1
'Taubertal'	BN-1	H-3 H-4	SR-2
BB-1	P-1	M-1	TT-1
'Topaz' I 'Topaz' II	BB-2	TT-6 TT-7	TT-2
SN-1	'Goldstern'	M. Bauer	TT-3
Stamm B	BN-2	P-2 H-2	TT-4
BB-2	P-2 H-2	SN-1	'Taubertal'
SR-2	TT-2	TT-1	TT-5
BN-2	M-1	BB-1	TT-6 TT-7
P-1	TT-4	TT-3	TT-8
BN-1	H-3 H-4	'Topaz' I 'Topaz' II	Stamm B
'Goldstern'	M-3	SR-1	M. Bauer
M. Bauer	BB-1	TT-2	M-1
SR-1	TT-5	BN-2	M-3
TT-6 TT-7	SN-1	TT-4	P-1
TT-1	'Topaz' I 'Topaz' II	SR-2	P-2 H-2
TT-3	Stamm B	BN-1	H-3 H-4
TT-8	'Taubertal'	BB-2	'Goldstern'
Randreihe	Randreihe	Randreihe	Randreihe



3.2 Zweisatzgitter

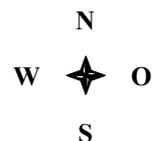


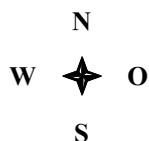
Tabelle 76: Pflanzplan Zweisatzgitter

<i>Beet VI</i>	<i>Beet V</i>	<i>Beet IV</i>	<i>Beet III</i>	<i>Beet II</i>	<i>Beet I</i>
Randreihe	Randreihe	Randreihe	Randreihe	Randreihe	Randreihe
PM-16 NA-6 AS-7 AS-11 AS-21 PM-15 AS-22 AS-33	BT-2 BT-1 UN-3 UN-4 AS-2 AS-4 AS-6 AS-7	P-1 P-2 H-2 H-3 H-4 AS-10 AS-14 AS-11	PM-8 KA-5 AS-2 H-4 AS-18 PM-10 PM-20 AS-30	AS-8 PM-17 PM-18 PM-19 PM-20 PM-21 PM-22 AS-22	SN-1 'Taubertal' PM-1 PM-4 PM-8 PM-13 PM-14 PM-16
'Taubertal' KA-2 BT-1 P-2 AS-15 PM-2 PM-17 AS-25	AS-1 AS-15 AS-12 AS-16 AS-18 AS-19 AS-20 AS-21	AS-8 PM-17 PM-18 PM-19 PM-20 PM-21 PM-22 AS-22	PM-14 KA-7 AS-6 AS-14 PM-12 PM-22 AS-32	AS-9 AS-25 AS-28 AS-29 AS-30 AS-31 AS-32 AS-33	WE-1 KA-2 KA-3 KA-4 KA-5 KA-6 KA-7 NA-6
PM-14 KA-7 AS-6 AS-14 AS-20 PM-12 PM-22 AS-32	SN-1 AS-23 AS-24 SN-1 SN-1 <i>in vitro</i> -vermehrt US-4 UP-1 PM-9	SN-1 'Taubertal' PM-1 PM-4 PM-8 PM-13 PM-14 PM-16	PM-1 KA-3 UN-3 H-2 AS-12 PM-3 PM-18 AS-28	SN-1 UN-1 NA-8 US-4 UP-1 PM-9 SN-1 <i>in vitro</i> -vermehrt SN-1	BT-2 BT-1 UN-3 UN-4 AS-2 AS-4 AS-6 AS-7
PM-4 KA-4 UN-4 H-3 AS-16 PM-6 PM-19 AS-29	UP-1 SN-1 SN-1 <i>in vitro</i> -vermehrt PM-9 US-4 NA-8 AS-34 (eingegangen) SN-1	AS-3 PM-2 PM-3 PM-6 PM-10 PM-11 PM-12 PM-15	SN-1 WE-1 BT-2 P-1 AS-1 AS-3 AS-8 AS-9	SN-1 <i>in vitro</i> -vermehrt PM-9 US-4 SN-1 UP-1 UP-2 US-1/US-2 SN-1	P-1 P-2 H-2 H-3 H-4 AS-10 AS-14 AS-11
PM-13 KA-6 AS-4 AS-10 AS-19 PM-11 PM-21 AS-31	PM-8 KA-5 AS-2 H-4 AS-18 PM-10 PM-20 AS-30	AS-9 AS-25 AS-28 AS-29 AS-30 AS-31 AS-32 AS-33	PM-4 KA-4 UN-4 H-3 AS-16 PM-6 PM-19 AS-29	PM-13 KA-6 AS-4 AS-10 AS-19 PM-11 PM-21 AS-31	AS-1 AS-15 AS-12 AS-16 AS-18 AS-19 AS-20 AS-21
SN-1 WE-1 BT-2 P-1 AS-1 AS-3 AS-8 AS-9	PM-1 KA-3 UN-3 H-2 AS-12 PM-3 PM-18 AS-28	WE-1 KA-2 KA-3 KA-4 KA-5 KA-6 KA-7 NA-6	'Taubertal' KA-2 BT-1 P-2 AS-15 PM-2 PM-17 AS-25	PM-16 NA-6 AS-7 AS-11 AS-21 PM-15 AS-22 AS-33	AS-3 PM-2 PM-3 PM-6 PM-10 PM-11 PM-12 PM-15
Randreihe	Randreihe	Randreihe	Randreihe	Randreihe	Randreihe

Die Randreihen wurden mit der Saatgutherkunft Austro Saat bepflanzt. Die vier grau unterlegten Felder in Beet II und Beet V gehören aus statistischer Sicht nicht zum Zweisatzgitter. Sie wurden mit der Selektion SN-1 und verschiedenen Wildherkünften zur Gewinnung von Proben und Saatgut bepflanzt.

3.3 Linienanlage

Tabelle 77: Pflanzplan Linienanlage



<i>Beet II</i>	<i>Beet I</i>
Randreihe	Randreihe
'Taubertal' SN-1	'Taubertal' SN-1
HP-G HP-J H-2a AS-6a AS-6b	MB-AS MB-B MB-CS MB-DS MB-F
'Taubertal' SN-1	'Taubertal' SN-1
AS-8a AS-8b AS-10a PM-15a PM-17a	MB-G MB-H FS-1 PF-2 FS-2
'Taubertal' SN-1	'Taubertal' SN-1
GZ-1 GZ-4 MB-AS MB-CS MB-DS	FS-3 FS-4 NF-1 FS-5 PF-3
'Taubertal' SN-1	'Taubertal' SN-1
FS-1 PF-2 FS-2 FS-3 FS-4	PF-1 PF-4 PF-5 FS-6 SN-W
'Taubertal' SN-1	'Taubertal' SN-1
NF-1 FS-5 AS-28 PF-1 PF-4	AS-L AS-M AS-N AS-O GZ-1
'Taubertal' SN-1	'Taubertal' SN-1
PF-5 FS-6 SN-W HP-G HP-J	GZ-4 GZ-6 GZ-8 GZ-9 GZ-10
'Taubertal' SN-1	'Taubertal' SN-1
AS-2 AS-8 PM-8 PM-10	AS-2 AS-8 PM-8 PM-10
Randreihe	Randreihe

4. Ergebnisse der Feldversuche

4.1 Zweisatzgitter

Die angegebene Anzahl an Messungen gilt im Falle der Triebe nur bei Vorhandensein aller Versuchspflanzen. Wichtige Minimum- und Maximumwerte, sowie Ausfälle von 50 % und mehr sind fett hervorgehoben.

Tabelle 78: Morphologische Merkmale Zweisatzgitter, Versuchsjahre 2001 und 2002

Einheit Messung an	vegetative Merkmale			generative Merkmale					Ausfälle <i>C. gloeosporioides</i>			
	Triebe	liegend	Stand- festigkeit	Blühbeginn 2001	Blüten- größe	Blüten- gewicht	Hypericin- punkte	Blühbeginn 2002	Juli 2001		Mai 2002	
	Anzahl/Pfl. (n = 20) Pflanzen	%	Note (n = 4) Sätze	Tage (n = 4) Sätze	mm (n = 10) Blüten	mg/Blüte (n = 2) 10 Blüten	Note (n = 1) 10 Blüten	Tage (n = 1-4) Sätze	Anzahl (n = 28) Pflanzen	Anzahl (n = 28) Pflanzen	Anzahl (n = 28) Pflanzen	Anzahl (n = 28) Pflanzen
SN-1	25,9 ± 4,6	2,9	5,0 ± 0,0	84,0 ± 2,0	26,0	7,5	6	44,5 ± 1,0	3	2	4	9
'Taubertal'	19,2 ± 4,6	35,0	2,0 ± 2,0	75,8 ± 4,8	27,3	10,6	6	38,3 ± 0,5	0	0	0	0
PM-1	20,5 ± 4,0	37,9	3,0 ± 2,8	83,0 ± 1,6	29,3	8,0	8	39,5 ± 1,3	0	0	1	4
PM-4	20,5 ± 3,7	47,4	3,5 ± 2,5	85,5 ± 4,4	27,3	7,8	8	41,3 ± 1,0	1	0	6	0
PM-8	19,8 ± 5,3	36,7	3,0 ± 1,6	84,0 ± 0,8	28,0	8,1	8	40,3 ± 1,0	0	0	1	1
PM-13	22,6 ± 5,4	31,0	5,0 ± 1,6	82,0 ± 2,6	27,0	8,6	1	-	0	4	7	16
PM-14	13,5 ± 3,7	27,4	4,0 ± 1,2	72,3 ± 1,7	29,0	9,4	1	39,7 ± 0,6	0	5	6	13
PM-16	13,0 ± 3,4	29,2	3,5 ± 1,0	71,8 ± 1,3	30,0	9,9	1	43,3 ± 2,5	0	2	1	15
WE-1	14,7 ± 4,3	5,8	8,0 ± 1,2	68,5 ± 2,6	29,3	11,1	5	45,0 ± 0,0	0	2	0	10
KA-2	15,8 ± 4,7	44,4	2,5 ± 1,0	70,8 ± 2,2	26,0	9,4	8	-	1	2	1	12
KA-3	15,9 ± 4,5	31,9	3,5 ± 1,0	70,0 ± 3,3	27,3	9,3	8	-	2	1	4	15
KA-4	14,5 ± 3,7	35,5	3,5 ± 1,0	69,0 ± 3,5	27,3	9,7	7	-	0	1	2	8
KA-5	15,7 ± 4,1	25,2	4,5 ± 1,0	71,8 ± 5,6	27,3	9,7	8	-	5	2	9	14
KA-6	12,7 ± 4,6	30,0	3,3 ± 0,5	68,5 ± 1,9	28,0	9,3	8	-	2	5	6	22
KA-7	13,4 ± 3,6	28,7	3,0 ± 0,0	68,8 ± 1,5	27,3	9,3	8	-	2	10	8	11
NA-6	18,9 ± 3,8	45,8	1,5 ± 1,0	93,8 ± 6,2	32,0	13,1	6	44,3 ± 2,1	0	2	2	13
BT-2	18,6 ± 3,8	49,7	1,3 ± 0,5	78,3 ± 2,5	35,0	14,7	1	38,5 ± 0,6	0	1	1	9
BT-1	16,4 ± 4,0	7,3	7,0 ± 1,6	68,0 ± 2,8	28,7	10,5	3	43,8 ± 0,5	0	0	0	3
UN-3	14,9 ± 3,7	32,7	2,0 ± 1,2	91,0 ± 5,9	30,0	10,2	5	47,5 ± 0,7	0	0	1	10
UN-4	17,1 ± 3,3	28,7	2,0 ± 1,2	88,5 ± 2,6	31,0	10,2	5	47,5 ± 0,7	0	0	2	5
AS-2	25,8 ± 5,2	0,5	5,5 ± 1,0	92,0 ± 0,8	26,7	9,2	9	47,5 ± 0,7	1	0	7	8
AS-4	14,1 ± 3,7	15,2	6,5 ± 1,9	63,5 ± 0,6	31,0	11,3	7	44,0 ± 0,0	1	5	5	21
AS-6	23,6 ± 6,9	37,0	1,0 ± 0,0	87,7 ± 6,4	-	-	-	42,5 ± 0,7	16	18	17	24
AS-7	20,8 ± 6,7	39,9	2,0 ± 1,2	84,3 ± 1,5	25,0	7,5	3	42,0 ± 0,0	3	7	12	19
P-1	13,5 ± 4,2	5,4	8,0 ± 1,2	79,3 ± 3,1	25,0	6,9	1	43,5 ± 1,7	0	0	4	9
P-2	12,9 ± 1,9	5,3	8,5 ± 1,0	75,3 ± 3,3	27,0	8,1	1	43,5 ± 1,3	1	1	3	9
H-2	10,2 ± 3,5	6,2	7,0 ± 0,0	80,5 ± 4,2	27,3	9,8	8	42,5 ± 0,6	0	0	3	5
H-3	12,5 ± 5,3	11,8	5,5 ± 1,0	78,3 ± 3,8	30,0	10,7	8	41,0 ± 0,0	0	1	1	3

Einheit Messung an	vegetative Merkmale			generative Merkmale					Ausfälle <i>C. gloeosporioides</i>			
	Triebe	liegend	Stand- festigkeit	Blühbeginn 2001	Blüten- größe	Blüten- gewicht	Hypericin- punkte	Blühbeginn 2002	Juli 2001		Mai 2002	
	Anzahl/Pfl. (n = 20) Pflanzen	%	Note (n = 4) Sätze	Tage (n = 4) Sätze	mm (n = 10) Blüten	mg/Blüte (n = 2) 10 Blüten	Note (n = 1) 10 Blüten	Tage (n = 1-4) Sätze	Zier. Anzahl (n = 28) Pflanzen	Gem. Anzahl (n = 28) Pflanzen	Zier. Anzahl (n = 28) Pflanzen	Gem. Anzahl (n = 28) Pflanzen
H-4	11,5 ± 3,5	7,0	6,0 ± 1,2	77,8 ± 6,3	30,0	11,0	9	41,3 ± 0,5	0	1	2	8
AS-10	13,0 ± 4,0	44,0	2,5 ± 1,9	82,5 ± 0,6	30,0	11,3	6	43,3 ± 1,3	1	9	6	24
AS-14	11,7 ± 2,1	45,7	2,3 ± 2,3	84,0 ± 3,6	30,0	-	6	44,0 ± 0,0	20	27	25	28
AS-11	14,3 ± 6,9	56,8	2,5 ± 1,9	82,3 ± 2,1	28,7	8,9	5	43,7 ± 0,6	3	11	12	18
AS-1	15,4 ± 4,0	24,9	3,5 ± 1,9	75,8 ± 3,0	29,3	11,3	8	-	2	2	7	9
AS-15	13,2 ± 3,6	67,2	1,5 ± 1,0	84,3 ± 1,7	30,0	-	4	45,0 ± 0,0	2	3	10	15
AS-12	10,3 ± 2,0	32,2	4,0 ± 2,0	71,3 ± 1,5	27,0	8,1	2	40,7 ± 1,5	0	0	2	5
AS-16	13,0 ± 3,4	68,1	1,0 ± 0,0	81,5 ± 2,6	30,0	10,7	6	42,5 ± 0,7	1	3	9	8
AS-18	16,8 ± 3,9	52,1	1,5 ± 1,0	88,0 ± 5,4	30,7	10,2	3	47,0 ± 0,0	4	4	12	11
AS-19	13,8 ± 2,9	33,9	2,3 ± 2,3	92,3 ± 4,7	30,0	-	6	47,0 ± 0,0	15	19	20	22
AS-20	18,2 ± 3,0	45,0	1,5 ± 1,0	93,5 ± 6,4	30,7	-	3	46,0 ± 0,0	3	15	12	23
AS-21	18,6 ± 4,3	49,3	2,0 ± 1,2	88,0 ± 2,0	25,3	-	5	47,5 ± 1,3	0	6	4	14
AS-3	14,2 ± 4,7	7,4	7,0 ± 1,6	75,3 ± 1,9	29,0	8,2	6	43,0 ± 0,0	4	8	7	17
PM-2	19,7 ± 4,4	33,0	4,5 ± 2,5	83,8 ± 2,4	25,0	8,5	1	-	1	1	9	16
PM-3	23,1 ± 6,0	37,7	4,5 ± 1,0	84,8 ± 2,2	26,0	-	7	41,7 ± 1,2	0	0	4	5
PM-6	28,9 ± 7,4	45,5	2,5 ± 1,9	87,0 ± 2,4	25,0	-	7	43,3 ± 1,2	0	0	4	4
PM-10	15,2 ± 3,8	5,3	6,5 ± 1,0	75,5 ± 3,1	24,7	7,8	1	38,5 ± 1,0	0	1	4	4
PM-11	22,6 ± 5,2	40,6	4,5 ± 2,5	85,0 ± 2,9	27,0	-	3	-	3	12	8	23
PM-12	14,4 ± 3,4	26,3	5,0 ± 1,6	72,8 ± 3,2	27,3	8,7	1	39,5 ± 0,6	2	8	4	20
PM-15	18,7 ± 4,8	36,2	3,5 ± 1,9	85,0 ± 3,4	26,7	-	7	41,8 ± 1,5	0	0	3	2
AS-8	22,2 ± 3,8	6,4	5,0 ± 0,0	93,3 ± 6,3	26,0	-	7	45,0 ± 1,6	1	1	1	5
PM-17	13,5 ± 2,3	23,3	5,3 ± 0,5	72,5 ± 2,6	29,3	10,0	1	41,7 ± 1,2	2	0	3	7
PM-18	11,7 ± 3,3	13,1	6,3 ± 1,0	76,0 ± 6,4	26,0	7,6	1	41,3 ± 0,6	0	0	5	6
PM-19	10,5 ± 2,7	35,0	5,5 ± 1,9	74,3 ± 4,2	27,3	9,7	1	41,0 ± 1,0	1	2	5	6
PM-20	15,2 ± 4,9	31,6	4,5 ± 1,9	78,3 ± 5,3	28,0	9,0	1	43,0 ± 0,0	14	9	14	18
PM-21	14,4 ± 3,6	19,9	4,5 ± 1,0	76,3 ± 5,3	28,0	8,9	1	42,5 ± 0,7	1	2	10	17
PM-22	14,3 ± 4,1	17,8	5,0 ± 0,0	73,0 ± 4,8	29,0	9,6	1	41,3 ± 0,6	0	5	3	14
AS-22	19,6 ± 5,3	41,8	3,5 ± 1,0	90,5 ± 3,7	26,0	-	6	47,0 ± 0,0	0	0	1	2
AS-9	20,6 ± 5,2	53,5	1,5 ± 1,0	keine Blüte	-	-	-	-	8	7	10	17
AS-25	17,0 ± 4,6	55,3	2,0 ± 1,2	88,5 ± 2,1	26,0	-	5	46,8 ± 1,0	0	0	0	11
AS-28	19,2 ± 4,4	11,5	7,5 ± 1,0	65,8 ± 3,0	28,0	7,7	1	41,3 ± 1,0	0	0	0	2
AS-29	19,8 ± 4,4	12,2	7,5 ± 1,0	68,3 ± 2,9	29,0	8,6	3	42,0 ± 0,8	0	0	0	8
AS-30	10,8 ± 3,0	13,4	5,5 ± 1,0	77,5 ± 3,7	27,0	9,0	6	46,3 ± 0,5	1	16	3	21
AS-31	11,6 ± 3,5	35,3	2,5 ± 1,9	81,0 ± 0,8	29,0	8,8	3	43,0 ± 1,7	1	6	4	11
AS-32	18,4 ± 4,0	8,3	5,0 ± 1,6	86,5 ± 3,0	26,7	7,6	3	48,0 ± 0,0	1	3	3	14
AS-33	15,8 ± 3,8	16,2	4,0 ± 2,6	83,0 ± 1,2	25,0	6,4	2	44,3 ± 1,0	4	6	7	13

Tabelle 79 gibt die Inhaltsstoffgehalte der Drogenproben jener Herkünfte an, die im Versuchsjahr 2001 auf der Fläche Zweisatzgitter Zierpflanzenbau geerntet wurden. Für die Herkunft AS-14 konnten keine Daten gewonnen werden, da sie zur Blütezeit bereits fast vollständig durch *Colletotrichum cf. gloeosporioides* vernichtet war. Die Herkunft AS-9 kam im ersten Jahr nicht zur Blüte. Die jeweils höchsten und niedrigsten Gehalte eines jeden Inhaltsstoffes sind fett hervorgehoben. Werte in Klammern sind möglicherweise fehlerhaft.

Tabelle 79: Inhaltsstoffgehalte der Drogenproben Zweisatzgitter, Versuchsjahr 2001

g/kg	RUT	H+I	QIT	QER	BIA	PPS	PSH	PHY	HYP	HFO	AHF
SN-1	0,0	28,4	6,4	1,4	1,8	0,6	5,7	0,0	0,8	9,6	1,4
'Taubertal'	10,0	22,3	2,8	1,2	1,8	0,0	2,4	0,0	1,0	5,9	1,2
PM-1	6,9	19,8	5,0	1,1	2,4	0,3	4,6	0,1	2,5	6,4	1,5
PM-4	5,7	17,1	4,8	1,8	2,6	1,3	6,1	0,6	2,6	10,1	1,7
PM-8	6,8	22,6	5,5	2,1	(7,1)	1,4	(10,1)	0,6	(5,5)	17,4	4,5
PM-13	0,0	25,2	4,4	1,8	3,4	0,5	3,0	0,0	0,8	13,1	2,7
PM-14	5,8	42,1	6,1	2,4	5,0	0,5	4,7	0,0	1,1	19,6	4,5
PM-16	4,5	22,0	2,6	0,8	1,9	0,1	1,8	0,0	0,6	9,5	2,3
WE-1	4,4	20,4	1,6	1,4	1,6	0,3	7,2	0,0	0,4	7,6	1,7
KA-2	7,4	22,3	4,5	1,3	2,6	0,4	5,7	0,0	2,0	7,7	1,5
KA-3	8,8	27,4	4,5	1,3	2,8	0,5	5,4	0,1	1,7	6,6	1,5
KA-4	7,1	25,1	4,4	1,4	2,4	0,5	6,8	0,1	1,6	8,8	1,8
KA-5	8,3	26,9	4,3	1,5	2,4	0,4	5,9	0,1	1,7	7,3	1,6
KA-6	7,1	23,2	3,8	1,3	2,1	0,3	4,8	0,1	1,3	11,4	2,5
KA-7	7,7	24,1	4,0	1,3	2,2	0,6	5,7	0,1	1,4	9,5	1,7
NA-6	9,3	16,9	4,9	1,5	2,0	0,4	4,3	0,0	0,6	11,4	2,1
BT-2	18,6	15,3	2,7	1,0	2,1	0,3	3,4	0,0	0,5	12,6	2,0
BT-1	4,6	16,3	2,2	1,1	1,5	0,5	7,8	0,0	0,5	7,5	1,5
UN-3	12,9	16,8	3,3	0,7	1,6	0,3	3,3	0,0	0,5	8,9	2,0
UN-4	11,3	16,9	3,4	0,9	2,2	0,5	4,0	0,0	0,6	11,9	2,4
AS-2	5,9	21,7	7,7	1,6	1,4	0,8	6,8	0,0	1,3	9,5	1,7
AS-4	12,6	14,4	4,2	1,3	1,8	1,0	5,8	0,0	1,0	10,7	1,9
AS-6	9,0	19,0	3,7	0,9	2,2	0,3	3,4	0,0	0,6	6,9	1,3
AS-7	5,7	20,2	4,0	0,9	2,6	0,3	3,1	0,0	0,3	7,2	1,3
P-1	6,1	24,0	1,6	1,2	1,6	0,0	4,1	0,0	0,4	9,7	2,8
P-2	5,7	22,2	1,7	1,2	1,6	0,0	3,5	0,0	0,3	8,3	2,4
H-2	7,7	17,3	3,3	2,1	2,5	0,6	5,6	0,0	0,8	7,8	1,6
H-3	7,6	20,6	3,2	1,6	2,5	0,8	5,9	0,0	1,1	7,2	1,4
H-4	8,4	17,6	3,2	1,7	2,6	0,8	5,5	0,0	0,9	6,7	1,4
AS-10	13,1	18,9	5,5	1,2	2,5	0,4	5,5	0,0	0,6	8,6	1,8

<i>g/kg</i>	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
AS-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS-11	12,2	18,4	5,3	0,9	2,7	0,0	4,2	0,0	0,4	5,4	1,1
AS-1	1,3	25,9	3,1	2,5	2,3	0,8	4,8	0,2	1,2	12,4	1,4
AS-15	10,9	16,3	6,0	1,4	2,7	0,6	3,4	0,0	0,6	10,7	1,9
AS-12	1,6	28,8	1,2	1,7	1,9	0,0	1,7	0,0	0,4	15,7	3,3
AS-16	9,7	16,5	4,2	1,4	2,6	0,7	3,0	0,0	0,5	13,1	2,4
AS-18	9,9	14,1	3,0	0,9	2,3	0,8	2,5	0,0	0,5	13,3	2,2
AS-19	10,7	16,0	3,3	0,8	2,5	0,7	3,1	0,0	0,4	14,9	2,2
AS-20	11,2	17,1	3,4	1,0	2,4	1,4	2,9	0,1	0,4	16,3	2,2
AS-21	18,0	13,8	3,0	0,7	1,9	0,6	2,8	0,0	0,4	10,2	1,2
AS-3	17,8	22,1	4,0	1,5	2,0	1,2	4,8	0,1	0,7	9,0	1,4
PM-2	1,2	20,9	2,0	1,6	3,1	0,9	2,8	0,2	0,6	12,5	2,2
PM-3	6,4	20,6	4,5	1,8	2,4	0,8	4,9	0,4	2,0	18,2	3,1
PM-6	6,1	19,0	5,2	2,2	2,5	0,8	5,7	0,3	2,1	10,4	1,9
PM-10	2,1	26,0	2,0	1,0	2,2	0,0	1,3	0,0	0,4	9,8	2,0
PM-11	0,5	18,1	3,6	1,9	3,0	1,4	3,4	0,2	0,8	17,1	3,1
PM-12	4,1	18,9	2,3	0,9	1,8	0,2	2,0	0,0	0,3	13,8	2,4
PM-15	6,1	20,1	5,8	2,0	3,3	1,7	6,7	0,7	2,6	15,3	1,9
AS-8	5,8	21,5	7,9	1,4	1,8	1,0	4,8	0,1	0,7	17,6	2,3
PM-17	5,1	22,0	3,2	0,9	2,3	0,3	2,4	0,0	0,5	12,6	2,1
PM-18	4,3	21,8	1,4	1,4	2,1	0,3	1,9	0,0	0,3	12,4	2,3
PM-19	3,4	16,0	2,1	0,7	2,0	0,4	1,6	0,0	0,3	12,7	2,3
PM-20	3,8	18,9	2,3	0,8	1,9	0,3	1,7	0,0	0,3	13,8	2,6
PM-21	4,0	19,9	2,2	0,9	2,0	0,3	1,7	0,0	0,3	14,8	2,6
PM-22	4,9	20,9	2,9	0,9	2,1	0,3	1,8	0,0	0,3	17,3	2,7
AS-22	17,4	14,3	3,5	0,9	2,0	0,8	4,4	0,0	0,6	10,0	1,0
AS-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS-25	16,6	12,8	3,1	1,0	2,1	0,7	3,1	0,0	0,4	10,8	1,1
AS-28	5,1	15,7	3,5	1,3	1,7	1,0	4,8	0,0	1,2	14,3	2,4
AS-29	1,6	18,2	1,2	0,9	1,4	0,0	1,2	0,0	0,3	9,4	2,1
AS-30	12,5	16,4	3,5	1,1	1,6	0,0	2,4	0,0	0,3	13,1	3,2
AS-31	0,0	24,0	4,4	1,1	2,9	0,4	2,7	0,0	0,5	16,7	3,2
AS-32	20,8	20,4	2,8	0,9	2,0	0,0	1,9	0,0	0,2	11,0	2,1
AS-33	0,0	27,5	7,2	1,2	2,6	0,5	3,0	0,0	0,6	14,9	2,5

4.2 Linienanlage

In Tabelle 80 sind die Wiederholungen einzelner Herkünfte untereinander angeordnet. Um die Darstellung übersichtlicher zu gestalten, werden für die Standards 'Taubertal' und SN-1 die Mittelwerte aus den insgesamt 14 Standardparzellen wiedergegeben. Bei den Merkmalen Höhe, Anzahl der Triebe, Blühbeginn, Blütengröße und Blütengewicht wurden das Minimum und das Maximum fett hervorgehoben. Die Herkünfte GZ-6, GZ-8, GZ-9 sowie die Einzelpflanzenselektionen H-2a, AS-6a, AS-8a, AS-8b und PM-17a mit inhomogenem Pflanzenbestand sind kursiv gekennzeichnet. Bei der Ermittlung der Pflanzenhöhe und der Anzahl der Triebe pro Pflanze wurden alle sieben Pflanzen erfasst; allerdings gilt die Anzahl von sieben Messwerten nur für den Fall, dass keine Ausfälle zu verzeichnen waren.

Tabelle 80: Ergebnisse der Linienanlage im Versuchsjahr 2002

Einheit Messung an	<i>vegetative Merkmale</i>						<i>generative Merkmale</i>			
	Höhe	Triebe	liegend	Stand- festigkeit	Blüh- horizont	Ausfälle	Blühbeginn	Blüten- größe	Blüten- gewicht	Hypericin- punkte
	cm	Anzahl/Pfl.	%	Note	Note	Anzahl	Tage	mm	mg/Blüte	Note
	7 Pflanzen	7 Pflanzen		Parzelle	Parzelle	Parzelle	Parzelle	10 Blüten	50 Blüten	10 Blüten
SN-1 (n = 14)	36,1 ± 2,7	15,5 ± 2,9	1,9	6,9	6,7	0,2	75,1 ± 4,9	24,8	6,5 ± 0,4	5,9
'Taubertal' (n = 14)	37,0 ± 2,8	16,4 ± 3,1	58,7	4,6	3,4	0,2	65,7 ± 2,8	25,1	8,3 ± 0,4	5,9
MB-AS	36,9 ± 4,7	17,7 ± 6,4	0,0	7	7	0	84	26,2	6,6	6
	31,8 ± 0,8	16,5 ± 1,9	3,0	7	7	2	86	26,4	6,2	6
MB-B	38,3 ± 5,7	12,3 ± 2,5	51,4	3	3	4	68	30,6	8,6	1
MB-CS	37,0 ± 5,6	15,0 ± 0,0	53,3	1	1	4	77	30,0	11,1	6
	35,0 ± 2,0	16,0 ± 0,0	12,5	5	5	4	84	32,6	11,6	6
MB-DS	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-
MB-F	38,3 ± 1,8	16,1 ± 5,1	16,8	5	5	0	57	26,8	8,1	2
MB-G	39,3 ± 2,0	18,4 ± 1,8	43,4	5	7	0	62	34,0	8,4	1
MB-H	35,0 ± 3,0	9,4 ± 3,0	74,5	1	1	4	62	28,6	7,1	1
FS-1	45,7 ± 2,9	9,9 ± 1,6	4,3	7	9	0	57	33,6	11,0	9
	39,9 ± 4,4	9,0 ± 1,9	1,6	7	7	0	59	32,8	10,2	9
PF-2	40,0 ± 2,2	10,7 ± 1,0	35,9	5	5	1	64	30,6	8,0	5
	40,5 ± 1,6	9,3 ± 1,2	16,1	7	7	1	72	30,8	9,2	6
FS-2	43,6 ± 2,4	9,2 ± 1,6	0,0	5	5	0	76	32,2	9,1	7
	50,3 ± 1,8	11,6 ± 3,1	6,2	7	7	0	73	31,4	8,3	8
FS-3	45,4 ± 6,1	16,7 ± 2,8	61,5	3	3	2	77	32,8	12,0	8
	46,5 ± 5,3	17,8 ± 3,7	53,3	5	3	1	77	32,6	11,3	6
FS-4	37,7 ± 2,8	18,4 ± 1,7	53,5	5	5	0	66	31,4	9,2	9

Einheit Messung an	<i>vegetative Merkmale</i>						<i>generative Merkmale</i>			
	<i>Höhe</i>	<i>Triebe</i>	<i>liegend</i>	<i>Stand- festigkeit</i>	<i>Blüh- horizont</i>	<i>Ausfälle</i>	<i>Blühbeginn</i>	<i>Blüten- größe</i>	<i>Blüten- gewicht</i>	<i>Hypericin- punkte</i>
	cm	Anzahl/Pfl.	%	Note	Note	Anzahl	Tage	mm	mg/Blüte	Note
7 Pflanzen	7 Pflanzen		Parzelle	Parzelle	Parzelle	Parzelle	10 Blüten	50 Blüten	10 Blüten	
	40,1 ± 3,3	23,1 ± 4,5	66,0	5	3	0	65	31,6	9,8	9
NF-1	47,7 ± 4,4	3,7 ± 0,8	3,8	9	7	0	76	35,8	11,6	9
	43,9 ± 5,9	2,6 ± 0,5	0,0	7	7	0	73	34,8	10,6	9
FS-5	40,9 ± 2,2	7,6 ± 2,2	1,9	9	9	0	66	35,6	12,4	9
	39,0 ± 4,2	4,0 ± 0,8	7,1	5	5	0	73	36,0	12,8	9
PF-3	32,7 ± 2,1	25,3 ± 11,3	74,3	3	3	1	79	-	-	-
AS-28	29,4 ± 3,6	7,1 ± 2,0	4,0	7	9	0	52	29,2	6,2	2
PF-1	43,9 ± 3,8	12,4 ± 3,3	9,2	9	7	0	63	35,2	8,5	1
	44,8 ± 4,9	10,7 ± 2,7	18,8	7	7	2	64	34,6	8,6	1
PF-4	46,7 ± 4,8	8,3 ± 1,5	17,2	5	5	0	65	32,8	9,6	7
	44,4 ± 4,2	10,1 ± 2,6	16,9	5	3	0	70	33,4	9,5	6
PF-5	35,5 ± 2,2	13,7 ± 2,3	12,2	9	9	1	57	31,2	8,2	6
	34,3 ± 1,9	11,0 ± 2,0	7,6	9	9	1	63	31,0	8,1	6
FS-6	51,5 ± 5,1	10,0 ± 1,9	6,7	5	3	2	66	32,0	10,0	7
	47,3 ± 8,6	7,4 ± 1,1	13,5	5	5	0	69	32,6	8,8	7
SN-W	37,2 ± 2,3	19,3 ± 1,2	0,0	7	5	1	65	26,8	7,1	6
	37,7 ± 4,2	14,0 ± 7,2	0,0	7	5	0	73	25,6	6,8	6
AS-L	37,3 ± 5,6	18,8 ± 9,9	47,2	-	-	4	-	-	-	-
AS-M	44,0 ± 0,0	11,0 ± 5,3	66,7	-	-	6	-	-	-	-
AS-N	39,5 ± 5,0	10,3 ± 3,2	61,3	-	-	5	-	-	-	-
AS-O	35,3 ± 3,7	10,3 ± 5,2	54,2	-	-	1	64	34,0	-	1
GZ-1	38,4 ± 2,4	12,8 ± 3,1	20,8	7	7	0	64	33,8	9,5	6
	39,3 ± 1,7	14,4 ± 2,6	12,9	7	5	0	64	33,6	8,7	5
GZ-4	40,1 ± 1,5	19,4 ± 4,0	8,1	7	7	0	84	31,8	10,8	5
	35,4 ± 3,9	12,3 ± 2,8	10,5	7	5	0	87	30,6	11,2	4
<i>GZ-6</i>	<i>45,1 ± 6,7</i>	<i>11,3 ± 3,1</i>	<i>10,3</i>	-	-	<i>1</i>	-	-	-	-
<i>GZ-8</i>	<i>36,3 ± 3,4</i>	<i>10,9 ± 1,2</i>	<i>14,5</i>	<i>9</i>	<i>7</i>	<i>0</i>	<i>59</i>	<i>30,8</i>	<i>9,3</i>	<i>7</i>
<i>GZ-9</i>	<i>37,6 ± 3,4</i>	<i>14,9 ± 4,4</i>	<i>8,7</i>	<i>9</i>	<i>5</i>	<i>0</i>	<i>57</i>	<i>31,2</i>	<i>9,1</i>	<i>5</i>
<i>GZ-10</i>	<i>37,3 ± 1,4</i>	<i>9,9 ± 2,4</i>	<i>5,8</i>	<i>9</i>	<i>7</i>	<i>0</i>	49	<i>32,4</i>	<i>10,3</i>	<i>6</i>
AS-2	36,4 ± 4,6	23,0 ± 2,2	0,0	9	7	2	84	25,2	7,0	9
	36,5 ± 7,7	22,3 ± 2,5	0,0	9	7	3	85	25,2	6,8	9
AS-8	33,8 ± 3,5	20,3 ± 6,2	1,2	7	7	1	85	27,2	7,5	6
	37,6 ± 2,2	20,2 ± 5,0	0,0	7	7	2	84	28,0	7,7	6
PM-8	32,5 ± 2,1	17,0 ± 2,8	36,1	5	5	1	77	30,6	7,2	7
	33,4 ± 3,2	23,1 ± 2,3	51,9	5	5	0	77	31,0	6,5	8
PM-10	35,7 ± 2,2	14,3 ± 4,9	17,0	7	5	0	64	25,0	6,8	3
	36,3 ± 5,8	12,6 ± 4,2	37,5	7	7	0	65	25,8	7,1	3

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
MB-F	0,0	26,9	2,5	1,0	1,4	0,0	3,6	0,0	1,4	12,4	1,5
MB-G	11,4	21,5	4,2	0,7	2,3	0,8	4,8	0,0	0,6	10,0	0,6
MB-H	2,7	20,3	3,0	0,7	1,2	0,0	3,4	0,0	0,3	8,0	0,8
FS-1	4,8	21,4	3,4	1,2	2,5	1,3	5,7	0,2	1,0	4,9	0,6
	5,4	20,3	3,0	1,3	1,1	0,6	5,0	0,0	1,0	6,2	0,7
PF-2	0,0	28,0	4,1	1,2	2,3	0,7	4,7	0,0	0,7	11,3	1,4
	0,0	30,3	4,1	1,4	1,2	0,6	4,7	0,0	0,8	12,5	1,5
FS-2	6,6	20,7	4,7	1,0	0,7	0,5	4,5	0,2	1,1	7,4	0,8
	7,4	21,1	5,2	0,9	0,9	0,6	4,6	0,2	1,1	7,8	0,8
FS-3	8,0	17,2	4,3	0,7	2,4	0,6	3,1	0,1	0,7	9,0	0,9
	7,9	16,7	4,5	0,8	1,6	0,6	3,7	0,1	0,9	8,3	1,0
FS-4	5,7	26,2	5,1	1,0	3,7	1,0	3,6	0,2	0,9	8,8	1,2
	5,5	24,8	4,5	1,1	1,5	0,5	3,9	0,1	1,2	10,5	1,3
NF-1	4,4	21,7	3,1	1,7	3,3	1,3	3,8	0,1	0,8	4,6	0,5
	4,3	20,9	3,1	1,7	2,1	0,8	3,7	0,0	0,7	4,8	0,7
FS-5	4,7	20,9	2,4	1,4	0,9	0,4	3,7	0,0	0,9	5,7	0,7
	4,6	19,1	2,5	1,1	1,5	0,6	3,0	0,1	0,7	5,5	0,7
PF-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS-28	4,7	28,3	4,4	0,8	2,7	0,5	2,7	0,2	1,1	12,9	1,9
PF-1	5,8	30,6	2,6	0,6	1,7	0,3	2,8	0,0	0,9	11,0	1,6
	5,5	28,6	2,5	0,7	1,5	0,3	2,6	0,0	0,4	9,5	1,5
PF-4	7,6	24,8	7,3	1,1	2,1	1,7	5,8	0,3	1,1	10,0	0,9
	7,8	26,3	6,3	1,1	0,9	1,6	5,9	0,3	1,1	12,8	1,1
PF-5	4,8	20,1	2,7	1,1	1,0	0,7	4,3	0,0	0,7	5,1	0,9
	5,3	22,0	2,4	0,9	1,6	0,7	4,0	0,0	0,5	5,5	0,9
FS-6	6,8	18,1	5,2	0,7	1,2	1,0	4,3	0,1	0,9	9,0	0,9
	7,7	18,9	5,0	0,8	1,3	0,6	4,2	0,2	0,9	8,2	0,8
SN-W	1,4	27,2	4,6	0,8	2,6	2,0	5,6	0,2	0,9	13,2	1,4
	0,0	29,2	4,0	0,8	1,7	1,4	5,2	0,0	0,6	22,2	2,6
AS-L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS-M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS-N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS-O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GZ-1	7,5	26,2	3,8	1,5	1,7	0,6	4,8	0,2	1,1	12,6	1,2
	7,2	28,5	3,2	1,3	0,9	0,3	2,8	0,0	1,1	16,9	1,9
GZ-4	2,9	22,1	2,4	1,0	2,2	2,0	3,5	0,2	0,6	8,5	0,8
	3,1	23,1	2,0	1,1	0,7	1,3	3,2	0,1	0,5	9,1	1,0
<i>GZ-6</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>GZ-8</i>	<i>0,0</i>	<i>23,3</i>	<i>2,6</i>	<i>0,8</i>	<i>1,6</i>	<i>0,4</i>	<i>2,2</i>	<i>0,0</i>	<i>0,3</i>	<i>2,4</i>	<i>1,2</i>
<i>GZ-9</i>	<i>1,9</i>	<i>21,2</i>	<i>2,6</i>	<i>0,7</i>	<i>1,2</i>	<i>0,7</i>	<i>3,2</i>	<i>0,0</i>	<i>0,3</i>	<i>6,2</i>	<i>1,6</i>
<i>GZ-10</i>	<i>8,9</i>	<i>15,7</i>	<i>3,7</i>	<i>1,2</i>	<i>1,0</i>	<i>1,1</i>	<i>4,1</i>	<i>0,1</i>	<i>0,9</i>	<i>11,2</i>	<i>1,4</i>

g/kg	<i>RUT</i>	<i>H+I</i>	<i>QIT</i>	<i>QER</i>	<i>BIA</i>	<i>PPS</i>	<i>PSH</i>	<i>PHY</i>	<i>HYP</i>	<i>HFO</i>	<i>AHF</i>
AS-2	3,6	22,9	4,5	0,8	0,6	0,9	4,8	0,0	0,9	10,6	0,0
	3,8	25,0	4,1	0,9	0,6	0,7	5,0	0,0	1,2	10,8	1,7
AS-8	4,0	26,0	4,7	0,9	1,9	1,1	4,9	0,1	0,9	13,7	1,6
	4,2	26,1	4,5	1,0	1,4	1,1	4,8	0,1	1,0	14,9	1,8
PM-8	4,0	26,6	5,3	2,2	1,8	0,7	5,3	0,4	2,6	14,0	1,6
	4,2	26,0	5,6	2,1	2,2	0,9	5,4	0,4	2,4	11,5	1,5
PM-10	2,0	34,7	2,7	1,0	2,0	0,4	2,5	0,0	0,7	8,4	1,6
	1,8	31,1	2,6	1,1	1,9	0,4	2,3	0,0	0,7	7,2	1,4
HP-G	6,5	26,3	3,6	0,6	0,8	0,4	3,2	0,1	1,1	12,2	1,6
	6,2	26,6	4,9	1,0	2,4	0,9	3,6	0,2	1,1	11,5	1,6
HP-J	8,3	20,6	3,6	0,6	0,9	0,5	3,0	0,0	0,6	8,4	0,9
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H-2a</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>AS-6a</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS-6b	9,4	22,4	3,1	0,5	1,0	0,0	2,4	0,0	0,2	10,9	1,7
<i>AS-8a</i>	<i>3,1</i>	<i>22,9</i>	<i>4,6</i>	<i>1,4</i>	<i>0,9</i>	<i>1,2</i>	<i>4,1</i>	<i>0,2</i>	<i>1,1</i>	<i>14,9</i>	<i>1,6</i>
<i>AS-8b</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS-10a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PM-15a	3,6	22,3	5,6	2,4	1,4	0,7	5,4	0,4	2,9	12,8	1,5
<i>PM-17a</i>	<i>3,3</i>	<i>20,4</i>	<i>3,1</i>	<i>0,9</i>	<i>1,4</i>	<i>1,5</i>	<i>3,7</i>	<i>0,2</i>	<i>0,5</i>	<i>11,3</i>	<i>1,7</i>

Danksagung

Die vorliegende Promotion wurde als gemeinsames Projekt der Firma Steigerwald Arzneimittel GmbH, Darmstadt und der Lehrstühle für Zierpflanzenbau, Fachgebiet Gartenbauliche Pflanzenzüchtung und Phytopathologie der TU München-Weihenstephan durchgeführt.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Gert Forkmann und Herrn Prof. Dr. Erich F. Elstner für die Überlassung des interessanten und vielseitigen Themas, die wertvollen Anregungen und das Interesse an meiner Arbeit danken. Als Prüfer hat sich dankenswerterweise Herr Prof. Dr. Gerhard Wenzel zur Verfügung gestellt. Für die Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission danke ich Herrn Prof. Dr. Bertold Hock.

Der Firma Steigerwald Arzneimittel GmbH, Darmstadt, gilt mein Dank für die Finanzierung des Projektes. Besonders bei Herrn Dr. Dieter Weiser und Frau Dr. Ulrike Kroll bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit und das entgegengebrachte Vertrauen.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Lehrstuhls für Zierpflanzenbau und des Versuchsbetriebes Dürnast danke ich für die tatkräftige Unterstützung, die langjährige gute Zusammenarbeit und das gute Betriebsklima. Ein besonderer Dank für das angenehme Arbeitsumfeld gilt meiner Bürokollegin Frau Dr. Daniela Klein.

Für sein Engagement rund um die HPLC-Analytik und für viele anregende Diskussionen möchte ich Herrn Dr. Harald Schempp danken. Allen Kolleginnen und Kollegen am Lehrstuhl für Phytopathologie ein Dankeschön für die freundliche Atmosphäre.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Projektkollegin Frau Dr. Elke Mann für die freundschaftliche Zusammenarbeit bedanken. Ihre Hilfsbereitschaft und viele gute Gespräche haben sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Allen meinen Hiwis danke ich für ihren Arbeitseinsatz und ihre große Sorgfalt, ohne die ein solches Projekt nicht möglich gewesen wäre.

Dem Nachbarinstitut für Gemüsebau danke ich für die bereitwillige Überlassung der Flächen und die Unterstützung bei der Trocknung meiner Proben. Dem Institut für Pflanzenernährung ein Danke für die Bereitstellung der Schrotmühle zur Aufarbeitung der Proben.

Herrn Dr. Stefan Seefelder und LTA Petra Bauer, LfL Weihenstephan danke ich herzlich für die gründliche Einführung in die AFLP-Technik und die gute Zusammenarbeit.

Schließlich möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie, bei meinen Freunden und bei Juliane für den großen Rückhalt, das Verständnis und die liebevolle Unterstützung bedanken!

curriculum vitae

Persönliche Daten

Johannes Sebastian Nebelmeir
geboren am 14. Mai 1974 in Fürstenfeldbruck
ledig

Schulbildung

Sept. 80 - Juli 84 Grundschule Maisach
Sept. 84 - Juli 93 Rhabanus-Maurus-Gymnasium St. Ottilien

Zivildienst

Sept. 93 - Nov. 94 Landratsamt Fürstenfeldbruck, Naturschutzbehörde Ref. 52

Studium

Nov. 94 - Mai 00 Gartenbauwissenschaften, TU München-Weihenstephan

Praktika

März 97 - Mai 97 Alois Brandl, München, Produktionsbetrieb Ismaning
Juni 97 - Aug. 97 Julius Wagner GmbH, Heidelberg, Zuchtbetrieb Wieblingen
Okt. 97 - April 98 The Horticulture and Food Research Institute of New Zealand Ltd. Auckland, New Zealand, Plant Improvement Division

Promotion

Juni 00 - Nov 05 Technische Universität München, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihnstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
Finanziert durch Steigerwald Arzneimittel GmbH, Darmstadt

Berufliche Tätigkeiten

Juni 00 - März 03 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Zierpflanzenbau, Fachgebiet Gartenbauliche Pflanzenzüchtung, Technische Universität München
Nov. 00 - Dez. 01 Moderator und Fachberater, Fernsehen Kinderprogramm Bayerischer Rundfunk München (Nebentätigkeit)
seit April 03 Züchter von Zierpflanzen bei LAZZERI S.S., Merano (BZ), Italia
